สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ (*Nerium oleander* L.) ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)

จัสมีน รัตโนภาส

พรศรีกิตติ์ ชินภูธนศรี

ปพ.
ว2891ก
2550

เลขหมู่ 84005
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11983085
i

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชาโครงงานพิเศษ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on Cytotoxic Effect of Sweet Oleander (*Nerium oleander* L.) Crude Extracts on Sf9 Cell Line (*Spodoptera frugiperda*)

Jasmine Rattanopas

Pornsrikitt Shinabhuthonsri

A Report Submitted in Partial Special Project of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Biotechnology Program

Department of Applied Biology, Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานเรื่อง	การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ (*Nerium oleander* L.) ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)	
นักศึกษา	นางสาวจัสมีน รัตโนภาส	รหัสนักศึกษา 47050670
	นางสาวพรศรีกิตติ์ ชินภูธนศรี	รหัสนักศึกษา 47050682
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์	

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม	
กรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษเรื่อง	การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากด้นยี่โถ (*Neriun oleander* L.) ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)	
นักศึกษา	นางสาวจัสมีน รัตโนภาส	รหัสนักศึกษา 47050670
	นางสาวพรศรีกิตติ์ ชินภูธนศรี	รหัสนักศึกษา 47050682
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	พ.ศ. 2550	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์	

บทคัดย่อ

จุดมุ่งหมายในการศึกษาครั้งนี้คือ การตรวจหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและก้านของยี่โถในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) โดยให้เซลล์ไลน์ Sf9 อยู่ในสารสกัดนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ทำการประเมินผลความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้เทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด ค่าความเป็นพิษที่ได้คือ CC_{50} (ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ค่า CC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง ของสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เท่ากับ 1,857.74 404.53 และ 3,689.30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า CC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,545.92 276.79 และ 2,926.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อจัดอันดับความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ได้ดังนี้ ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน > ในชั้นเฮกเซน > ในชั้นเอทานอล อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นที่จะต้องทำการทดสอบประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของสารสกัดหยาบยี่โถที่มีผลต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ก่อนที่จะนำมาใช้ในสภาพแวดล้อมเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Study on Cytotoxic Effect of Sweet Oleander (*Nerium oleander* L.) Crude Extracts on Sf9 Cell Line (*Spodoptera frugiperda*)
Name	Mrs. Jasmine Rattanopas
	Mrs. Pornsrikitt Shinabhuthonsri
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Asst. Prof. Dr. Ounruan Petcharawan

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the cytotoxicity of crude hexane, dichloromethane and ethanol extracts prepared from leaves and branches of *Nerium oleander* on Sf9 cell line (*Spodoptera frugiperda*). Sf9 cells were exposed to the extracts for 24 h and 48 h. The cytotoxicity was evaluated using neutral red uptake (NRU) assay. The cytotoxicity represented as CC_{50} (50% cytotoxicity concentration). The results showed that the 24-h and 48-h CC_{50} of crude hexane, dichloromethane and ethanol extracts of *N. oleander* on Sf9 cell line were 1,857.74, 404.53 and 3,689.30 µg/ml, respectively and were 1,545.92, 276.79 and 2,926.50 µg/ml, respectively The toxicity ranking of the extracts from *N. oleander* on Sf9 cell line was dichloromethane extract > hexane extract > ethanol extract after 24 h and 48 h of exposure. However, further biological tests on the efficiency and side effects of crude extracts of *N. oleander* to mammalian cells are necessary before using it in the environment for the control of insect pests.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชรวัลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำ รวมทั้งได้กรุณาตรวจแก้ไขด้านภาษาและแนะแนวด้านต่างๆในการทำโครงงานพิเศษนี้เป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ที่ให้ความรู้และคำแนะนำที่ดีมาโดยตลอด รวมทั้งตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร คุณอนิทัต ทองจันทร์ และคุณพงศ์ศักดิ์ ประสานภักดี เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับการทดลองโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ตลอดจนเพื่อน พี่และน้อง ๆ ที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

จัสมีน รัตโนภาส

พรศรีกิตติ์ ชินภูธนศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 ยี่โถ	3
2.1.1 ลักษณะทั่วไป	3
2.1.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	3
2.1.3 ลักษณะอาการเมื่อได้รับสารพิษจากยี่โถ	4
2.1.4 คุณสมบัติทางยาของยี่โถ	4
2.1.5 การสกัดและการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากยี่โถ	4
2.2 หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)	5
2.2.1 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย	5
2.2.2 ชีวประวัติและนิเวศวิทยาของหนอนกระทู้ *S. frugiperda*	6
2.3 เซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (*Spodoptera frugiperda* cell line, Sf9)	8
2.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถต่อเซลล์ไลน์ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ	11
3.1.1 เซลล์แมลง	11
3.1.2 สารสกัดยี่โถ	11
3.1.3 อุปกรณ์	11
3.1.4 สารเคมี	12
3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถ	12
3.3 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์	13
3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ Sf9 *(Spodoptera frugiperda)* ในขวดทดลอง	13
3.5 การตรวจหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ	14
โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)	
3.5.1 สารละลายนิวทรัลเรด	14
Neutral Red (NR) Stock Solution	
3.5.2 สารละลายนิวทรัลเรด สำหรับย้อมเซลล์	14
Neutral Red (NR) Medium	
3.5.3 สารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด	14
(formol-calcium)	
3.5.4 สารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์	15
Ethanol/ Acetic Acid solution (NR Desorb)	
3.5.4 เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรด	15
เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ	
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	17
บทที่ 4 ผลการทดลอง	18
4.1 ผลผลิตของสารสกัดจากใบและก้านยี่โถ	18
4.2 การตรวจหาค่าความเป็นพิษ (cytotoxicity test)	19
ของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)	
4.2.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบ	19
จากใบและก้านยี่โถยี่โถในชั้นเฮกเซน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน 27

4.2.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถในชั้นเอทานอล 35

4.3 ผลการตรวจหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล 43

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 44

เอกสารอ้างอิง 46

ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบ 48

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถ	18
4.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน	20
4.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน	28
4.4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล	36
4.5 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีความเป็นพิษร้อยละ 50 ต่อเซลล์ไลน์ Sf9	43
ก-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	48
ก-2 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	48
ก-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	49
ก-4 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2	49
ก-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	50
ก-6 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	50
ก-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-8 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	52
ก-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	53
ก-10 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	53
ก-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	54
ก-12 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	54
ก-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	56
ก-14 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	56
ก-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	57
ก-16 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	57
ก-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	58
ก-18 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-19 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	60
ก-20 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	60
ก-21 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	61
ก-22 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	61
ก-23 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	62
ก-24 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	62
ก-25 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	64
ก-26 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	64
ก-27 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-28 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	65
ก-29 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	66
ก-30 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	66
ก-31 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	68
ก-32 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)	68
ก-33 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	69
ก-34 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)	69
ก-35 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	70
ก-36 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)	70
ก-37 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีความเป็นพิษร้อยละ 50 ต่อเซลล์ไลน์ Sf9	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข-1 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง	74
ข-2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน	75
ข-3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	76
ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	77
ข-5 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	78
ข-6 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง	79
ข- 7 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน	80
ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข-9 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	82
ข-10 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความ เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	83
ข-11 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง	84
ข-12 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน	85
ข-13 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	87
ข-14 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window	88
ข-15 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ยี่โถ	3
2.2	*S. frugiperda*	6
2.3	ระยะดักแด้ของ *S. frugiperda*	7
2.4	ตัวเต็มวัยของ *S. frugiperda*	8
2.5	โครงสร้างโมเลกุลของนิวทรัลเรด	9
3.1	แผนผังการทดลองการใส่สารสกัดจากใบและก้านยี่โถใน 96-well plate	16
4.1	เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	21
4.2	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	21
4.3	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	22
4.4	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	23
4.5	เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	24
4.6	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	24
4.7	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	25
4.8	เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	26
4.9	เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	29
4.10	เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	29
4.11	เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	30
4.12	เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	31
4.13	เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	32
4.14	เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.15 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	33
4.16 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	34
4.17 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	37
4.18 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	37
4.19 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	38
4.20 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	39
4.21 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	40
4.22 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	40
4.23 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	41
4.24 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)	42
ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	51
ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	55
ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นไดคลอโรมีเทน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	59
ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นไดคลอโรมีเทน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเอทานอล(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง	67
ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเอทานอล(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษ ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงงานพิเศษ

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชในประเทศไทยมีหลากหลายวิธี เช่นการใช้สารเคมีกำจัดแมลง พืชสมุนไพร ไวรัสโรคแมลง เป็นต้น วิธีการที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืช ควรเป็นวิธีที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภคน้อยที่สุด ดังนั้นการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมศัตรูพืชจึงเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เช่นสารสกัดจากสะเดา ข่า ตะไคร้ เป็นต้น โครงงานพิเศษนี้เน้นการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) ต้นยี่โถจัดเป็นไม้พุ่มชนิดหนึ่ง ลำต้นมียางสีขาว ใบเป็นใบเดี่ยวเรียวยาว รูปร่างคล้ายหอก สีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่ออยู่ส่วนยอดของต้น รูปทรงกรวย กลีบดอกอาจมีชั้นเดียวหรือสองชั้นก็ได้และมีหลายสี เช่นสีชมพูเข้ม สีชมพูอ่อนและสีขาว ดอกมีกลิ่นหอม ผลเป็นฝักคู่ เมื่อผลแก่จัดจะแตกออกเห็นเมล็ดที่อยู่ภายใน เมล็ดมีขนละเอียดเป็นมันคล้ายเส้นไหมปกคลุมอยู่ จึงสามารถลอยตามลมกระจายพันธุ์ได้ ทุกส่วนของยี่โถเป็นพิษทั้งหมด โดยสารพิษที่พบคือ cardiac glycosides ได้แก่ oleandroside, nerioside, adynerin และ urechitoxin สารพิษดังกล่าวออกฤทธิ์คล้าย digitalis ซึ่งมีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและทางเดินโลหิต ทำให้ทางเดินอาหารอักเสบ ท้องเสีย ปวดท้อง เหงื่อออกและอ่อนเพลีย ชีพจรเต้นไม่สม่ำเสมอ ความดันโลหิตลดลง ท้องเดินถ่ายเป็นเลือด ชัก และอาจถึงตาย นอกจากนี้การดมควันที่เกิดจากการเผากิ่งยี่โถก็จะทำให้เกิดอาการพิษได้เช่นกัน และจากการทดสอบความเป็นพิษพบว่าขนาดที่ทำให้สัตว์ถึงแก่ความตายหากเคี้ยวหรือกลืนใบพืชเข้าไปพบว่าในม้ามีค่า LD_{50} เท่ากับ 15-30 กรัม ในวัว 10-25 กรัม และในแกะ 1-5 กรัม การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน พบว่าเมื่อฉีดสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 โดยการฉีดเข้าหน้าท้องหนูถีบจักร ขนาดที่ทำให้หนูตายร้อยละ 50 เท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภูมิพิชญ์ , 2533)

สำหรับโครงงานพิเศษทำการสกัดส่วนของใบและก้านยี่โถด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์แมลงที่สร้างจากเนื้อเยื่อรังไข่ของระยะดักแด้หนอนกระทู้ (*Spodoptera frugiperda*) ผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxic effect) ของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)

1.2.2 ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบยี่โถ ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ทำการสกัดส่วนของใบและก้านยี่โถด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ตามลำดับดังนี้ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เอทานอล

1.3.2 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบยี่โถที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถทราบถึงความเข้มข้นของสารสกัดยี่โถในตัวทำละลาย 3 ชนิด ตามลำดับดังนี้ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)

1.4.2 สามารถนำความรู้ที่ได้จากการทดลองระดับเซลล์ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก

1.4.3 เป็นแนวทางการควบคุมแมลงศัตรูพืชแบบผสมผสานระหว่างการใช้พืชสมุนไพรกับสารเคมีฆ่าแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ยี่โถ (*Nerium oleander* L.)

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

ยี่โถเป็นพรรณไม้ที่มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 1-3 เมตร ลำต้นเกลี้ยง มียางสีขาว ใบเดี่ยว รูปร่างเรียวยาว ปลายและโคนใบแหลม ดอกยี่โถมีหลายสี เช่น สีแดง ชมพูเข้ม ชมพู ขาว และเหลือง ดอกออกเป็นช่อแบบช่อกระจุกเชิงประกอบที่ปลายกิ่ง ช่อละ 20-50 ดอก มีทั้งดอกลาและดอกซ้อน ผลของยี่โถลักษณะเป็นฝัก เมื่อแก่จะแตกแนวเดียว เมล็ดแบนรูปรี มีขนละเอียดปกคลุม (http://www.pharm.chula.ac.th)

รูปที่ 2.1 ยี่โถ (*Nerium oleander* L.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ของยี่โถคือ *Nerium oleander* L. จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Apocynaceae มีชื่อพ้อง (synonym) คือ *Nerium indicum* Mill.) (Scott and Tomas, 2000) ส่วนชื่อสามัญภาษาไทย ได้แก่ ยี่โถ และยี่โถผรั่ง ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ oleander, rose bay และ sweet oleander (http://www.medplant.mahidol.ac.th)

2.1.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

พบสารพิษจากส่วนต่างๆของยี่โถ เช่น ใบ ดอก เมล็ด เนื้อไม้ ราก เปลือกนอกของลำต้นและราก สารพิษที่พบจัดอยู่ในกลุ่ม cardiac glycosides (Zia *et al.*, 1995) มีฤทธิ์คล้ายกับ digitalis และ glycosides ที่พบมากมี 2 ชนิด ได้แก่ neriin (neriosides) และ oleandrin (oleandrosides)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากสารดังกล่าวยังพบสารอื่นๆแต่มีปริมาณน้อยได้แก่ folinerin, rosagenin, cornevin, pseudocuranine, rutin และ cortenerin (Nellis, 1997) Turan *et al.* (2006) รายงานเกี่ยวกับชนิดของสารที่พบในยี่โถ ประกอบด้วย cardiac glycosides เช่นเดียวกับ oleandrin, oleandrigenin, digoxin, digitonin, digitoxigenin, neritaloside, odoroside สำหรับ cardiac glycosides เหล่านี้ เคยนำมาใช้รักษาโรคหัวใจในประเทศรัสเซียและประเทศจีน Yu *et al.* (2004) พบ polysaccharide ชนิดใหม่ 2 ชนิดในสารสกัดจากดอกยี่โถ คือ rhamnogalacturonan และ xyloglucan โดยศึกษาคุณสมบัติปกป้องเส้นประสาท

2.1.3 ลักษณะอาการเมื่อได้รับสารพิษจากยี่โถ

ถ้ารับประทานเข้าไปจะเกิดอาการต่างๆ ดังนี้ อาการคลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ ปวดศีรษะ เป็นไข้ ท้องเสียมีเลือดปนออกมา รูม่านตาขยาย ตาพร่ามัว การเต้นของหัวใจผิดปกติ การเต้นของชีพจรลดลง ความดันโลหิตลดลง อัมพาต นอกจากนี้ทำให้เกิดอาการซึมเศร้า กรณีที่พบอาการรุนแรงคืออาการชักกระตุก การหายใจล้มเหลว หัวใจล้มเหลวและตาย (Nellis, 1997; Adome *et al.*, 2003)

2.1.4 คุณสมบัติทางยาของยี่โถ

ทุกส่วนของยี่โถมีความเป็นพิษ แต่ Naqvi *et al.* (1994) รายงานถึงคุณสมบัติทางยาที่นำมาใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณ โดยนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ เช่น ใช้รักษาโรคพยาธิ กระตุ้นการขับประจำเดือนคล้ายกับการทำแท้ง ป้องกันอาการเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจอันเนื่องมาจากเส้นเลือดหัวในตีบ Zia *et al.* (1995) กล่าวถึงสาร oleanderin ที่บริสุทธิ์ จะมีผลกระตุ้นการทำงานของหัวใจ และมีผลต่อการทำงานของไต โดยมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ นอกจากนี้ได้มีการใช้รักษาอาการของโรคภายนอกร่างกาย เช่น โรคผิวหนังชนิดต่างๆ โรคหิด สิว โรคเรื้อน แผลพุพองจากเริม ตุ่มตาปลา หูด แผลกลายจนเกิดเป็นมะเร็ง เนื้องอก และมีฤทธิ์ฆ่าหนอนแมลงวันเจาะแผลสัตว์ (Adome *et al.*, 2003)

2.1.5 การสกัดและการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากยี่โถ

Singh and Singh (1998) ศึกษาความเป็นพิษของยี่โถในการฆ่าหอย (molluscicide) โดยทำการสกัดเปลือกไม้ของลำต้นยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 วิธีสกัดวิธีที่ 1 นำเปลือกไม้อบแห้งแล้วบดให้ละเอียดเป็นผง ชั่งน้ำหนัก 5 กรัม แช่ในน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปั่นแยกส่วนที่เป็นของเหลวออกมา นำไประเหยโดยวิธี lyophilize ได้สารสกัดหยาบหนัก 180 มิลลิกรัม วิธีสกัดวิธีที่ 2 ทำการสกัดตามวิธีที่ 1 เมื่อปั่นแยกได้ส่วนของเหลว นำไปต้มนาน 5 นาที ปล่อยทิ้งให้เย็นก่อนนำไปทำให้แห้งโดยวิธี lyophilize น้ำหนักสารสกัดส่วนที่ 2 หนัก 167 มิลลิกรัม วิธีสกัดวิธีที่ 3 ชั่งน้ำหนักเปลือกไม้ที่ปั่น 10 กรัม ใส่ลงแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร หมักข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองส่วนที่เป็นของเหลวออกมา นำไประเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ ได้สารสกัดหยาบหนัก 1.3 กรัม นำสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ทดสอบความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นพิษต่อหอยชนิด *Lymnaea acuminata* เป็นเวลา 24 ชั่วโมงได้ผลการทดลอง ดังนี้ สารสกัดที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย สารสกัดที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายและต้ม และสารสกัดที่มีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่า LC_{50} เท่ากับ 34.5 มิลลิกรัม/ลิตร 42.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ 4.9 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

El-Shazly *et al.* (2000) สกัดใบยี่โถในเอทานอล ทำการตกผลึก cardiotonic glycoside, neriifolin: (3-[(6-deoxy-3-0-methyl-a-L glucopyranosyl) oxy]-14-hydroxy-5 b Card-20 [22]-endolide) จากสารสกัดหยาบในเอทานอล เป็นส่วนที่ออกฤทธิ์ จากการทดสอบกับแมลงวันบ้าน ได้ค่า LC_{50} ของสารสกัดหยาบในเอทานอล ส่วนที่ออกฤทธิ์ และneriifolin ที่บริสุทธิ์ เท่ากับ 164 ppm, 57 ppm, 35 ppm และ 36 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษและการกลายพันธุ์ของเซลล์ไลน์ Chinese hamster lung fibroblast (V79-MZ) ผลที่ได้คือ ค่า LC_{50} เท่ากับ 200 ppm ส่วนผลการกลายพันธุ์ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบทียบกับสารก่อการกลายพันธุ์มาตรฐาน XuSong *et al.* (2003) ทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากใบยี่โถ พบว่าค่าการยับยั้งการกินอาหารของหนอนกออ้อย *(Chilo suppressalis)* ร้อยละ 50 เท่ากับ 1,171.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

Turan, *et al.*, 2006) ทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL60 และ K562 และผลกระทบต่อ p-glycoprotein โดยใช้ใบ ราก และก้านของยี่โถ พบว่า สารสกัดใบและรากจะมีความเป็นพิษมากกว่าสารสกัดจากก้านเมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} และที่ความเข้มข้น 1,000 500 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต้านมะเร็งทั้ง 2 ชนิด สารสกัดจากใบ ราก และก้านของยี่โถจะมีผลยับยั้ง P-glycoprotein pump ของเซลล์ไลน์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ผลของสาร Triterpenes 3 ชนิด จากใบของยี่โถและสารออกฤทธิ์ที่แยกได้ คือสาร Triterpenes 3 ชนิด ได้แก่ ursane-type triterpene , oleanane-type triterpene , และ dammarane-type triterpene สารประกอบอื่นที่แยกได้ 7 ชนิด และ methyl esters ของ ursolic acid และ oleanoic acid จาการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่ามีฤทธิ์ในการต่อต้านการอักเสบ และสารประกอบที่แยกได้ 14 ชนิดรวมทั้ง ursane-type triterpene , oleanane-type triterpene , dammarane-type triterpene ,methyl esters ของ ursolic acid และ oleanoic acid มีผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่เพาะเลี้ยงในขวดทดลอง (Liwei, *et al.*, 2005)

2.2 หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* มีชื่อสามัญคือ fall armyworm จัดอยู่ในวงศ์ Noctuidae และอันดับ Lepidoptera (Capinera, 2005)

2.2.1 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

S. frugiperda มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทางฝั่งซีกโลกตะวันตกจากประเทศสหรัฐอเมริกาจนถึงประเทศอาเจนตินา สามารถมีชีวิตอยู่รอดข้ามฤดูหนาวได้ มีการแพร่กระจายในช่วงฤดูร้อน ระยะหนอนเป็นสาเหตุการทำลายโดยกัดกินใบและต้นพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ชีวประวัติและนิเวศวิทยาของหนอนกระทู้ *S. frugiperda*

การศึกษาชีวประวัติและลักษณะของหนอนกระทู้ได้มีผู้ทำการศึกษามากมายพอสรุปได้ดังนี้ **ระยะไข่** ไข่ของหนอนกระทู้นั้นจะมีรูปร่างเหมือนโดม โดยส่วนฐานจะแบนและโค้งกลมขึ้นจนถึงส่วนยอด และจะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 มิลลิเมตร สูง 0.3 มิลลิเมตร จำนวนของไข่โดยมากจะอยู่ที่ 100-200 ฟอง และตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว วางไข่เฉลี่ย 1,500-2,000 ฟอง

รูปที่ 2.2 *S. frugiperda* แสดงระยะไข่ (ก) และระยะหนอน (ข)
ที่มา : ที่มา : Capinera (2005); http://edis.ifas.ufl.edu/IN255

ระยะหนอน ในระยะนี้มีระยะของการเจริญแบ่งออกเป็น 6 ระยะ (instars) ความกว้างของกล่องกะโหลกศีรษะทั้ง 6 ระยะ คือ 0.35, 0.45, 0.75, 1.3, 2.0, และ 2.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ความยาวของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวหนอนระยะที่ 1-6 ได้แก่ 1.7, 3.5, 6.4, 10.0, 17.2, และ 34.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตัวอ่อนระยะแรก ลำตัวมีสีเขียว ส่วนหัวสีดำ ส่วนหัวจะเปลี่ยนเป็นสีส้มเมื่อเข้าสู่ระยะที่ 2 โดยเฉพาะในระยะที่ 3 ผิวด้านนอกส่วนหลังของลำตัวนั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนด้านข้างมีเส้นสีขาวพาดตามยาวลำตัว หนอนระยะที่ 4-6 ส่วนหัวมีสีน้ำตาลแดง มีรอยขาวปนอยู่ และลำตัวมีสีน้ำตาล และมีสีขาวทางด้านล่างของหลัง และด้านข้างลำตัว จะมีจุดจำนวนมากทางด้านหลังของลำตัวโดยมักจะมีสีคล้ำและมีหนาม ด้านหน้าของหนอนที่โตเต็มที่มีลักษณะรูปตัววาย (Y) สีขาวหัวกลับ และผิวหนังชั้นนอกของตัวอ่อนขรุขระหรือเป็นลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ

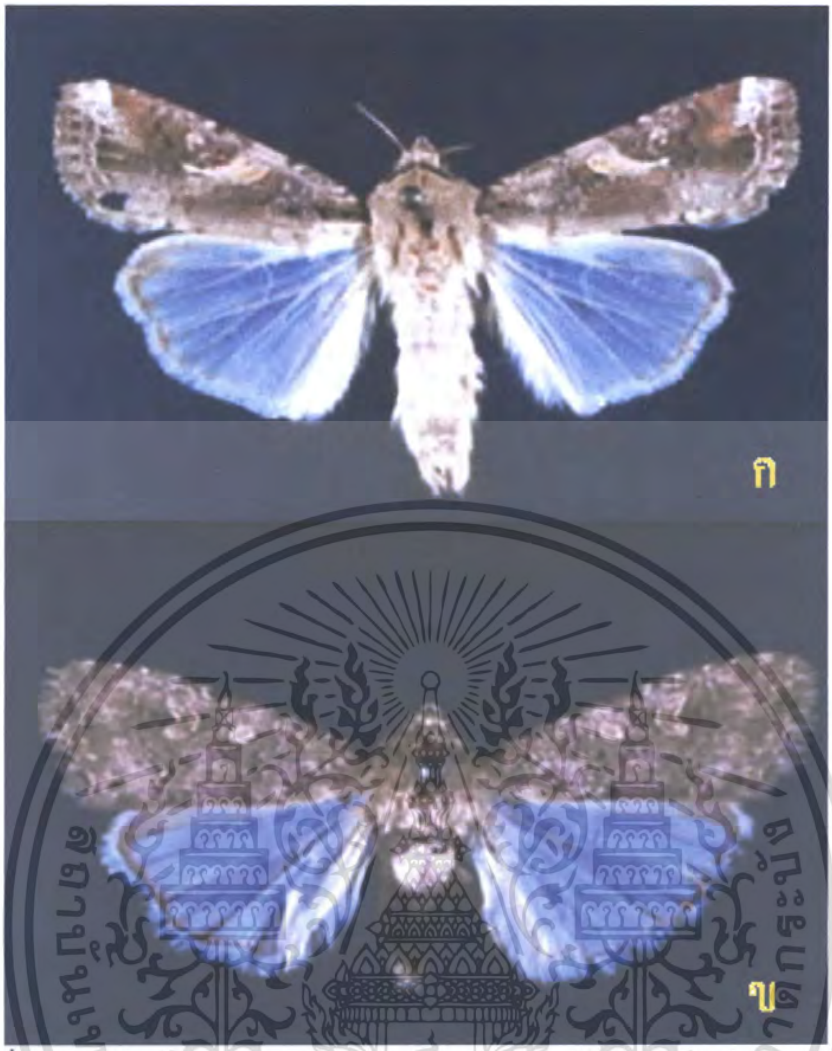
ระยะดักแด้ ดักแด้อาศัยอยู่ในดินลึกลงไปประมาณ 2-8 เซนติเมตร ตัวอ่อนสร้างเส้นใยหลวมๆปกคลุมตัวโดยมีเม็ดดินผสมกับเส้นใยไหมที่สร้าง รูปร่างของดักแด้เป็นรูปไข่ ยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร แต่หากดินแข็งเกินไป ตัวอ่อนอาจทอใยรวมกับซากใบไม้และวัตถุอื่นๆอยู่บนหน้าดิน ดักแด้มีสีน้ำตาลแดง ยาวประมาณ 14-18 มิลลิเมตร และกว้างประมาณ 4.5 มิลลิเมตร ในระยะดักแด้นี้มีช่วงประมาณ 8-9 วัน

รูปที่ 2.3 ระยะดักแด้ของ *S. frugiperda*

ที่มา : Capinera (2005); http://edis.ifas.ufl.edu/IN255

ระยะตัวเต็มวัย ผีเสื้อมีระยะระหว่างปลายปีก 2 ข้าง ประมาณ 32-40 มิลลิเมตร ในเพศผู้ ปีกคู่หน้าทมีสีเทาและน้ำตาล มีจุดรูปสามเหลี่ยมสีขาวที่ปลายปีกและใกล้ส่วนกลางของปีก ที่ปลายปีกของเพศเมียไม่ค่อยมีสีชัดเจน ตัวเต็มวัยออกหากินในช่วงเวลากลางคืน โดยจะเริ่มออกหากินในช่วงค่ำที่อากาศอบอุ่นและชื้น ระยะตัวเต็มวัยมีอายุเฉลี่ย 10 วัน (7 -21 วัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ตัวเต็มวัยของ *S. frugiperda* ก. ตัวเต็มวัยเพศผู้ และ ข. ตัวเต็มวัยเพศเมีย
ที่มา : Capinera (2005); http://edis.ifas.ufl.edu/IN255

พืชอาศัย หนอนกระทู้กินพืชเป็นอาหารได้หลายชนิด โดยมีรายงานมากกว่า 80 ชนิดของพืชที่ถูกหนอนกระทู้ทำลาย แต่โดยมากจะเป็นหญ้า และหนอนกระทู้มักเข้าทำลายข้าวโพด ข้าวฟ่าง หญ้าเบอร์มิวดา ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต ถั่วลิสง ข้าว ถั่วเหลือง ยาสูบ และข้าวสาลี เป็นต้น

2.3 เซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (*Spodoptera frugiperda* cell line, Sf9)

Vaughn *et al.* (1997) ทำการสร้างเซลล์ไลน์จากเนื้อเยื่อรังไข่ในระยะดักแด้ของแมลงชนิด *Spodoptera frugiperda* และตั้งชื่อเซลล์ไลน์นี้ว่า IPLB-Sf-21 ต่อมาได้ทำการโคลนเซลล์เพื่องานวิจัยด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแสดงออกของยีนในการสร้างโปรตีน โดยใช้แบคคิวโลไวรัสที่เพาะเลี้ยงในเซลล์ไลน์แมลง และโคลนที่สำคัญของแมลงชนิดนี้คือ โคลนที่ 9 ซึ่งให้ชื่อว่า Sf9 ปัจจุบันนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยหลายด้าน และมีบริษัทที่เป็นตัวแทนจำหน่ายเซลล์ชนิดนี้

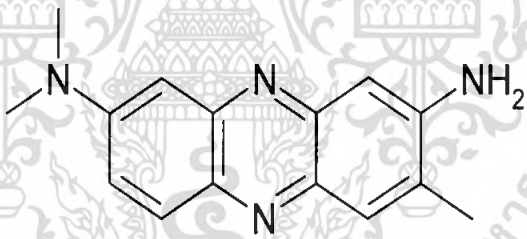
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับโครงงานวิจัยนี้ใช้เซลล์ไลน์ Sf9 Cat. No. 11496-015 บริษัท GIBCO Invitrogen cell culture ซึ่งเซลล์ชนิดนี้สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากซีรัมได้

2.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถต่อเซลล์ไลน์ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด

(The National Toxicology Program (NTP) Intergency Center for the Evalution of Alternative Toxicological Methods (NICEATM), 2003; Shirazi *et al.*, 2004; ANIARA CORPORATION, 2006)

วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรดเป็นวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษสารพิษที่ใช้กับเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยข้อมูลที่ได้สามารถนำไปประเมินหาค่าความเข้มข้นของสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ได้ นิวทรัลเรด (3 – amino-7-dimethylphenazine hydrochloride) เป็นสีย้อมสีแดงที่ใช้สำหรับย้อมเนื้อเยื่อ และยังสามารถใช้เป็นตัววัดความเป็นกรด-ด่างของสารต่างๆได้โดยการเปลี่ยนสีของนิวทรัลเรดจากสีแดงเป็นสีเหลือง ซึ่งแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.8-8.0 สูตรโครงสร้างของนิวทรัลเรดคือ $C_{15}H_{17}ClN_4$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 288.78 มีจุดหลอมเหลวที่ 290 องศาเซลเซียส นิวทรัลเรดสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่น 539-544 นาโนเมตร



รูปที่ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลของนิวทรัลเรด

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Neutral_red

วิธีการวิเคราะห์ด้วยนิวทรัลเรดเป็นการตรวจสอบความไวต่อสารเคมีหรือสารพิษของเซลล์ที่มีชีวิต โดยอาศัยความสามารถในการรวมตัวระหว่างเซลล์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ที่รอดชีวิตกับนิวทรัลเรด ซึ่งนิวทรัลเรดเป็นสีย้อมที่มีประจุบวกอย่างอ่อน คือ สามารถแตกตัวง่าย ด้วยคุณสมบัตินี้ทำให้นิวทรัลเรดสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งไม่มีประจุเข้าไปได้และเกิดการสะสมภายในไลโซโซม (lysosome) เนื่องจากไลโซโซมมีความเป็นกรด-ด่างที่น้อยกว่าในไซโตพลาสซึม ซึ่งในไลโซโซม นิวทรัลเรดจับกับประจุลบที่ไลโซโซม แมทริกซ์ (lysosomal matrix) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนผิวหน้าของเซลล์ หรือที่เยื่อหุ้มไลโซโซม ทำให้ไลโซโซมมีความเปราะบาง โดยการเปลี่ยนแปลงของเซลล์นี้เกิดจากผลของการได้รับสารพิษแปลกปลอมที่ใช้ในการศึกษาและการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมตัวกับนิวทรัลเรดไม่สามารถเกิดการสะสมในไซโตพลาสมของแวคคิวโอล (cytoplasmic vacuole) และในเยื่อหุ้มเซลล์ได้ โดยปริมาณสีย้อมที่เกิดขึ้นสามารถวัดได้ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ซึ่งค่าที่วัดได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

3.1.1 เซลล์แมลง

เซลล์ไลน์หนอนกระทู้ (*Spodoptera frugiperda*) โคลนที่ 9 (Sf9) Cat. No. 11496-015 (GIBCO Invitrogen cell culture)

3.1.2 สารสกัดยี่โถ

สารสกัดหยาบจากใบและก้านของยี่โถในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เอทานอล

3.1.3 อุปกรณ์

3.1.3.1 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลซียส (low temperature incubator)

3.1.3.2 ตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม (laminar flow hood)

3.1.3.3 กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เตต (inverted light microscope)

3.1.3.4 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

3.1.3.5 ฮีโมไซโตมิเตอร์ (haemocytometer)

3.1.3.6 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3.1.3.7 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave)

3.1.3.8 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.1.3.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

3.1.3.10 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -70 องศาเซลเซียส

3.1.3.11 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.3.12 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)

3.1.3.13 ชุดกรองสารและแผ่นกรองขนาด 0.2 และ 0.45 ไมโครเมตร

3.1.3.14 เครื่องดูดสารอัตโนมัติ (automatic pipettor)

3.1.3.15 ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดพลาสติกขนาด 25 ซม^2 (tissue culture flask)

3.1.3.16 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร

3.1.3.17 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

3.1.3.18 ขวดสำหรับบรรจุสารปริมาตร 50 100 500 และ 1,000 มิลลิเมตร

3.1.3.19 ปิเปตแก้วขนาด 1 5 10 และ 25 มิลลิลิตร

3.1.3.20 ไมโครไตเตอร์เพลท รีดเดอร์ (microtiter plate reader) และตัวกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(filter) 540 นาโนเมตร

3.1.4 สารเคมี

3.1.4.1 อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงชนิดเกรซ (Grace's medium)

3.1.4.2 แลคทาลบูมิน ไฮโดรไลเสท (lactalbumin hydrolysate)

3.1.4.3 ยีสต์โทเลท (yeastolate)

3.1.4.4 ซีรัม (fetal bovine serum,FBS)

3.1.4.5 พลูโรนิค (pluronic polyol F-68)

3.1.4.6 ทริปแพน บลู (trypan blue)

3.1.4.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)

3.1.4.8 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

3.1.4.9 เอทานอลร้อยละ 70 และ 95

3.1.4.10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimetylsulfoxide, DMSO)

3.1.4.11 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปราศจากแคลเซียมไอออนและแมกนีเซียมไอออ (Phosphate buffer without Ca^{2+} and Mg^{2+})

3.1.4.12 นิวทรัลเรด (neutral red)

3.1.4.13 กรดอะซิติก (acetic acid)

3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถ

เริ่มจากนำใบและก้านยี่โถที่ผ่านการล้างให้สะอาดและผึ่งให้แห้งพอประมาณแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5- 7 วันหรือจนกว่าจะแห้งสนิท โดยจะตรวจสอบได้จากการนำใบและก้านยี่โถออกจากตู้อบมาชั่งน้ำหนักทุกวัน จนกว่าน้ำหนักที่ได้จะคงที่ จากนั้นจึงนำใบและก้านแห้งที่ได้มาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด (blender) จากนั้นนำมาห่อด้วยผ้าขาวบางเนื้อละเอียดแล้วมาแช่ในขวดโหลแก้วที่เติมด้วยเฮกเซนโดยใช้อัตราส่วน 1:15 (W/V) (ใช้ใบและก้านยี่โถบดละเอียดหนัก 33.33 กรัมต่อตัวทำละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน พอครบเวลา 7 วัน นำถุงผ้าขาวบางที่ห่อใบและก้านยี่โถบดละเอียดออกมาจากขวดโหลแก้ว ผึ่งให้แห้งพอสมควร แล้วทำการย้ายไปใส่ในขวดโหลแก้วที่เติมไดคลอโรมีเทน 500 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วันเช่นเดิม พอครบเวลาจึงนำถุงผ้าขาวบางที่ห่อใบและก้านยี่โถบดละเอียดออกมาจากขวดโหลแก้ว ผึ่งให้แห้งพอสมควรและย้ายลงสู่ขวดโหลแก้วที่มีเอทานอล 500 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน พอครบเวลาจึงนำถุงผ้าขาวบางที่ห่อใบแลก้านยี่โถบดละเอียดออกมาจากขวด จากนั้นนำสารสกัดจากใบและก้านยี่โถที่ได้ทั้ง 3 ชนิด (เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล) มากรองด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน โดยใช้กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 และทำให้สารสกัดมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) นำสารสกัดหยาบที่ได้มาใส่ในขวดเก็บสาร โดยชั่งน้ำหนักขวดไว้ก่อนใส่สารสกัดลงขวด เพื่อให้ได้ค่าน้ำหนักของสารสกัดที่แน่นอนหลังจากได้น้ำหนักสารสกัดที่คงที่แล้ว และเมื่อได้สารสกัดที่แห้งหรือน้ำหนักคงที่แล้วจึงเก็บสารสกัดไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยสารสกัดที่ได้นั้นสามารถนำไปใช้ทดสอบกับเซลล์ซึ่งจะกล่าวถึงในขั้นตอนการเลี้ยงเซลล์ต่อไป

3.3 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์

เตรียมอาหาร TNM-FH โดยใช้อาหารชนิดเกรซ (Grace powder) ละลายน้ำปราศจากไอออน 800 มิลลิลิตร ใช้แท่งแม่เหล็กกวนจนกระทั่ง Grace powder ละลายจนหมด เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 0.35 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมยีสต์โตเลท 3.33 กรัมต่อลิตรและเติมแลคทาลบูมิน ไฮโดรไลเสท 3.33 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนจนมีปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร ทำการวัดและปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ 1N HCl หรือ 1N NaOH ให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 6.0 ต่อจากนั้นทำการกรองด้วยชุดกรอง และใช้แผ่นกรองที่มีช่องผ่านขนาด 0.22 ไมโครเมตร ที่ปลอดเชื้อแล้ว ทำการเตรียมอาหารที่พร้อมเลี้ยงเซลล์โดยการเติมซีรัม (FBS) ที่ผ่านการกรองแล้ว ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด และทำการปรับค่าความเป็นกรด- ด่างครั้งสุดท้าย 1N HCl หรือ 1N NaOH ให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.2 นำอาหารที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วแบ่งเก็บใส่ขวด ทำการเขียนฉลากติดไว้ที่ขวดและทำการเก็บรักษาในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) ในขวดทดลอง

นำเซลล์ไลน์ Sf9 (*Spodoptera frugiperda*)ที่เพาะเลี้ยงในขวดพลาสติกที่มีพื้นที่ผิว 25 ตารางเซนติเมตร โดยพิจารณาเซลล์ที่เจริญบนพื้นผิวของขวดให้ได้ประมาณร้อยละ 80-90 ของพื้นผิวทั้งหมด สามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต เซลล์ที่สมบูรณ์จะมีลักษณะกลมมองเห็นขอบเซลล์และนิวเคลียสชัดเจน นอกจากนี้ต้องไม่ปรากฏแกรนูล (granule) และต้องไม่พบการปนเปื้อน จากนั้นใช้ปิเปตดูดอาหารเดิมออกจากขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมด จากนั้นเติมอาหารใหม่ลงไป 5 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตดูดอาหารเดิมออกจากขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมด จากนั้นเติมอาหารใหม่ลงไป 5 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตดูดและปล่อยอาหารให้กระแทกบริเวณที่มีเซลล์เกาะอยู่ ทำเช่นนี้จนกระทั่งเซลล์หลุดออกจากพื้นผิวทั้งหมด ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต แต่ถ้าเซลล์เกาะติดแน่นกับพื้นผิวอาจจะต้องใช้ที่ขูดเซลล์ (rubber policeman) ทำการดูดเซลล์ที่แขวนลอยออกมาปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดสำหรับปั่นแยกสาร (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมทริปแพนบลูร้อยละ 0.4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากันดูดเซลล์ที่ย้อมสีแล้วใส่ลงในแอ่ง (chamber) 1 แอ่งของฮีมาไซโตมิเตอร์ ตรวจสอบเซลล์มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวิตและเซลล์ตายด้วยกล้องจุลทรรศน์ (compound microscrope) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะสีใสไม่ติดสีฟ้า ส่วนเซลล์ตายจะติดสีฟ้าของทริปแพนบลู ทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายจากช่องสี่เหลี่ยมใหญ่ (primary square) ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ และบันทึกจำนวนลงในตารางเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อมิลลิลิตรต่อไป เมื่อคำนวณจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อมิลลิลิตรปริมาตรทั้งหมด 5 มิลลิลิตร ต่อ 1 ขวดเพาะเลี้ยง นำขวดเพาะเลี้ยงที่ทำการปลูกเซลล์แล้วเก็บไว้ในตู้บ่มอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จึงสามารถทำการถ่ายเซลล์ (subculture) ต่อไป

3.5 การตรวจหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)

(The National Toxicology Program (NTP) Intergency Center for the Evalution of Alternative Toxicological Methods (NICEATM) , 2003 ; Shirazi , 2004 ; ANIARA CORPORATION, 2006)

3.5.1 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด 0.4% ดังนี้

Neutral Red (NR) Stock Solution

0.4 g NR Dye

100 ml H_2O

Make up prior to use and store dark at room temperature for up to two months

ควรกรองตะกอนหรือผลึกก่อนนำมาผสมกับอาหาร

3.5.2 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด สำหรับย้อมเซลล์ โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่อยู่ในอาหารเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Neutral Red (NR) Medium

1 ml NR Stock Solution

79 ml TNM-FH Medium + 5% FBS

ถ้ามีผลึก ต้องปั่นแยกประมาณ 2,000 rpm นาน 10 นาที

3.5.3 เตรียมสารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด (formol-calcium)

0.5% Formaldehyde

1.0% Calcium chloride

98.5% H_2O

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4 เตรียมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์

Ethanol/ Acetic Acid solution (NR Desorb)

1%	Galcial acetic acid solution
50%	Ethanol
49%	H_2O

กรณีที่มี Absolute Ethanol ใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร Glacial acetic acid 1 มิลลิลิตร H_2O 49 มิลลิลิตร ควรเตรียมก่อนใช้งาน อย่าเตรียมล่วงหน้านานกว่า 1 ชั่วโมง

3.5.5 เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรด เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถ

3.5.5.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้มีช่วงความเข้มข้นที่จะทำให้เซลล์ตาย ร้อยละ 50

3.5.5.2 ปลูกเซลล์ Sf9 จำนวน $2x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.5.3 เทอาหารออกจาก 96-well plate โดยการคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อจากนั้นเติมสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม และทำการทดลอง 4 หลุมต่อ 1 ความเข้มข้น แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

3.5.5.4 เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดแล้วคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.5.5.5 เติมสารละลายนิวทรัลเรดที่ผสมกับอาหาร (50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

3.5.5.6 เมื่อกำหนด 3 ชั่วโมง เทอาหารทิ้งด้วยการคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการล้างสารละลายนิวทรัลเรดและตรึงเซลล์ด้วยสารละลายฟอร์มอลแคลเซียม ปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม และคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.5.5.7 เติมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์ คือ สารละลายเอทานอลกับกรดอะซิติก (NR Desorb) เพื่อสกัดสีออกจากเซลล์ โดยใส่ลงไป 100 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม จากนั้นทำการเขย่าภายในเครื่องไมโครไตเตอร์เพลท รีดเดอร์ ความเร็วรอบ 420 rpm เป็นเวลา 10 นาที

3.5.5.8 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลท รีดเดอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B	P	B	X1	X2	X3	X4	X5	B	B	C	B
B	P	B	X1	X2	X3	X4	X5	B	B	C	B
B	P	B	X1	X2	X3	X4	X5	B	B	C	B
B	P	B	X1	X2	X3	X4	X5	B	B	C	B
B	C	B	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	B	B	P	B
B	C	B	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	B	B	P	B
B	C	B	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	B	B	P	B
B	C	B	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	B	B	P	B

รูปที่ 3.1 แผนผังการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถใน 96-well plate

B : Blank (ไม่เติมสารใดๆ)

C : Control (อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์และเซลล์ Sf9)

P : Positive (100% DMSO)

X1-X5 : เติมสารสกัดจากใบและก้านยี่โถชั้นใดชั้นหนึ่ง (เฮกเซนที่ความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เอทานอลที่ความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ)

Y1-Y5 : เติมสารสกัดจากใบและก้านยี่โถชั้นใดชั้นหนึ่งที่แตกต่างจาก X1-X5 (เฮกเซนที่ความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เอทานอลที่ความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.5.5.9 การวิเคราะห์ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ

คำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษ (% cytotoxicity) จากสูตรต่อไปนี้

ร้อยละความเป็นพิษ = [(A-B)/A] x 100

A = ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มควบคุม

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดยี่โถแต่ละความเข้มข้น

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยพิสัยดันแคน (Duncan' s New Multiple Range Test) ซึ่งการวิเคราะห์ทั้งหมดนี้ใช้โปรแกรม SPSS 14.0 ในการวิเคราะห์ทางสถิติ

84005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลผลิตของสารสกัดจากใบและก้านยี่โถ

จากการนำใบและก้านยี่โถที่ผ่านการอบแห้งจนน้ำหนักคงที่และบดละเอียดน้ำหนัก 33.33 กรัม หมักด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดๆละ 7 วัน ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้สารสกัดมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยการใช้เครื่องระเหยแบบหมุน จนได้ผลผลิตสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลอย่างหยาบจากใบและก้านยี่โถ ซึ่งสามารถคำนวณหาผลผลิตของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถได้ดังตารางที่ 4.3

จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการเจือจางด้วยอาหาร TNM-FH ที่มีซีรัม 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (เฮกเซนความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของอาหาร ตามลำดับ ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของอาหาร ตามลำดับ และ เอทานอลความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของอาหาร ตามลำดับ)ที่มีความเข้มข้นของ DMSO ร้อยละ 1 โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของแต่ละชั้นจะทำการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนทำการเจือจางเป็นความเข้มข้นต่างๆต่อไป

ตารางที่ 4.1 ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถ

สารสกัดจากใบและก้านยี่โถ	ผลผลิต
เฮกเซน	1.974
ไดคลอโรมีเทน	2.101
เอทานอล	2.550

*น้ำหนัก (กรัม) ของสารสกัดหยาบต่อตัวทำละลายปริมาตร 300 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การตรวจหาค่าความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารสกัดหยาบจากต้นยี่โถที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)

(The National Toxicology Program (NTP) Intergency Center for the Evalution of Alternative Toxicological Methods (NICEATM) ,2003 ; Shirazi , 2004 ; ANIARA CORPORATION,2006)

4.2.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากยี่โถในชั้นเฮกเซน

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.1 ตารางที่ ข-1 และตารางที่ ข -5 และรูปที่ 4.1 – 4.8 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ 125, 250, 500, 1000, 2000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100% DMSO ผลการทดสอบความเป็นพิษได้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ ดังนี้ 0.00, 2.85, 8.74, 16.86, 24.87, 55.25 และ 89.59 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 24 ชั่วโมง และเมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 48 ชั่วโมง ได้ผลค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 0.00, 2.09, 4.62, 11.73, 25.56, 75.84 และ 90.71 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ ข-1)

หลังจากทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน (ตารางที่ ข-2) พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนเป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดนานมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

ส่วนการพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ต่างกัน โดยถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีระดับความเข้มข้นมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนกับระยะเวลาบ่มเซลล์ พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน

จากตารางที่ ข-5 เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ผลที่ได้คือระดับความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษไม่แตกต่างกับค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของกลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระดับความเข้มข้น 125 - 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือระดับความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

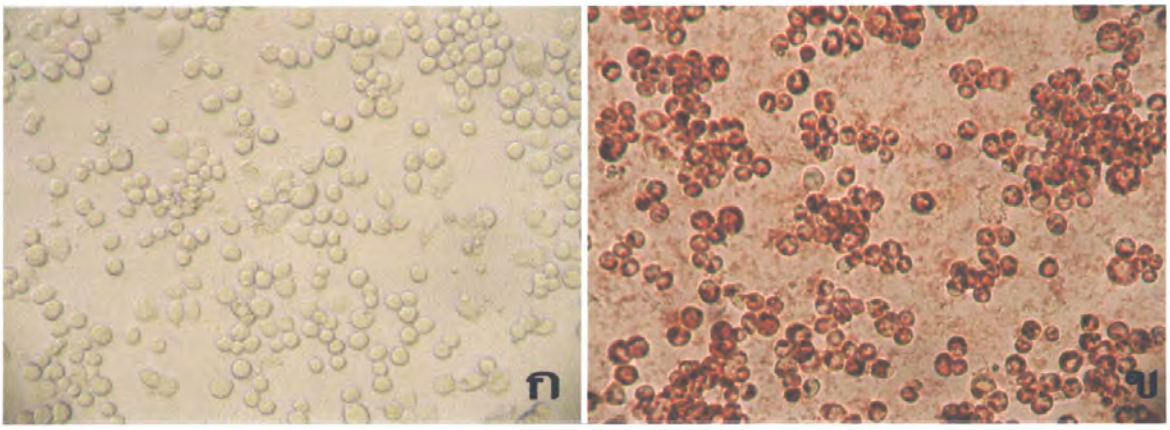
มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษไม่แตกต่างกับค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ไม่แตกต่างกับระดับความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนระดับความเข้มข้น 125 และ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ ข-5)

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน

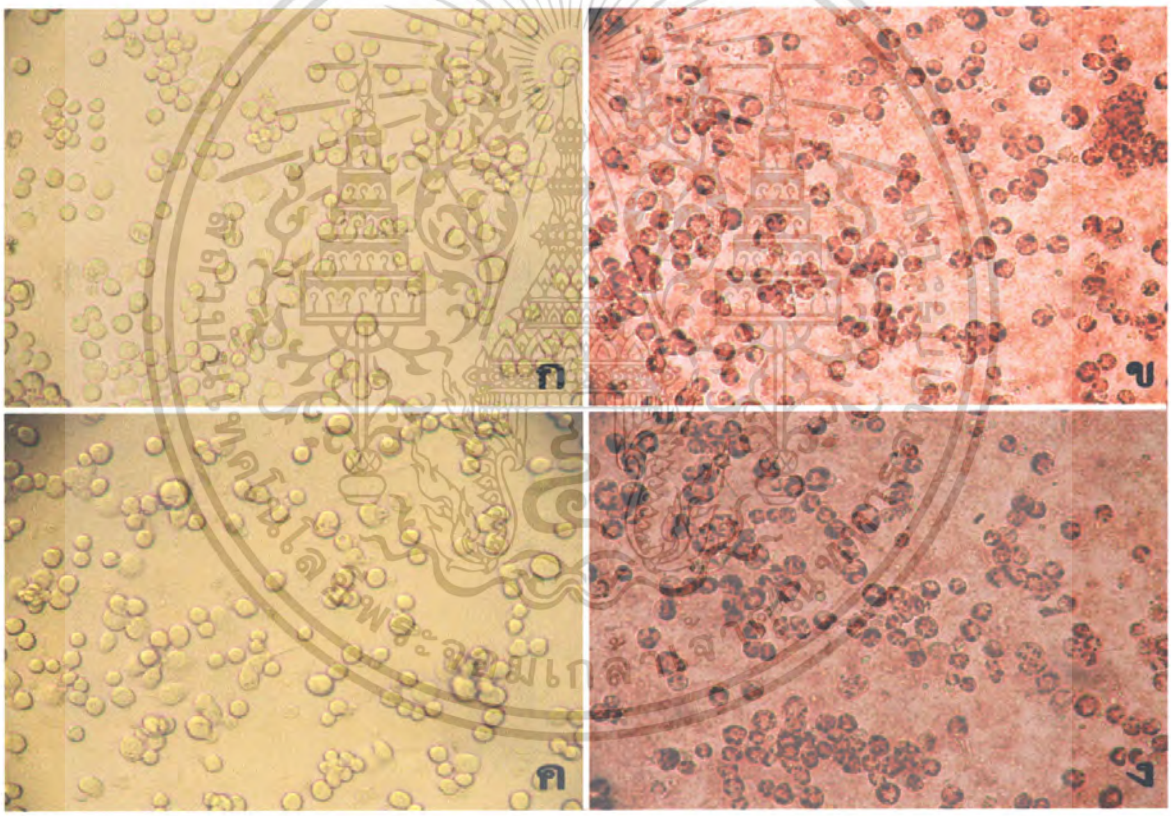
ความเข้มข้นสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
125	2.85[a]	2.09[ab]
250	8.74[b]	4.62[b]
500	16.86[c]	11.73[c]
1,000	24.87[d]	25.56[d]
2,000	55.25[e]	75.84[e]
100 % DMSO	89.59[f]	90.71[f]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

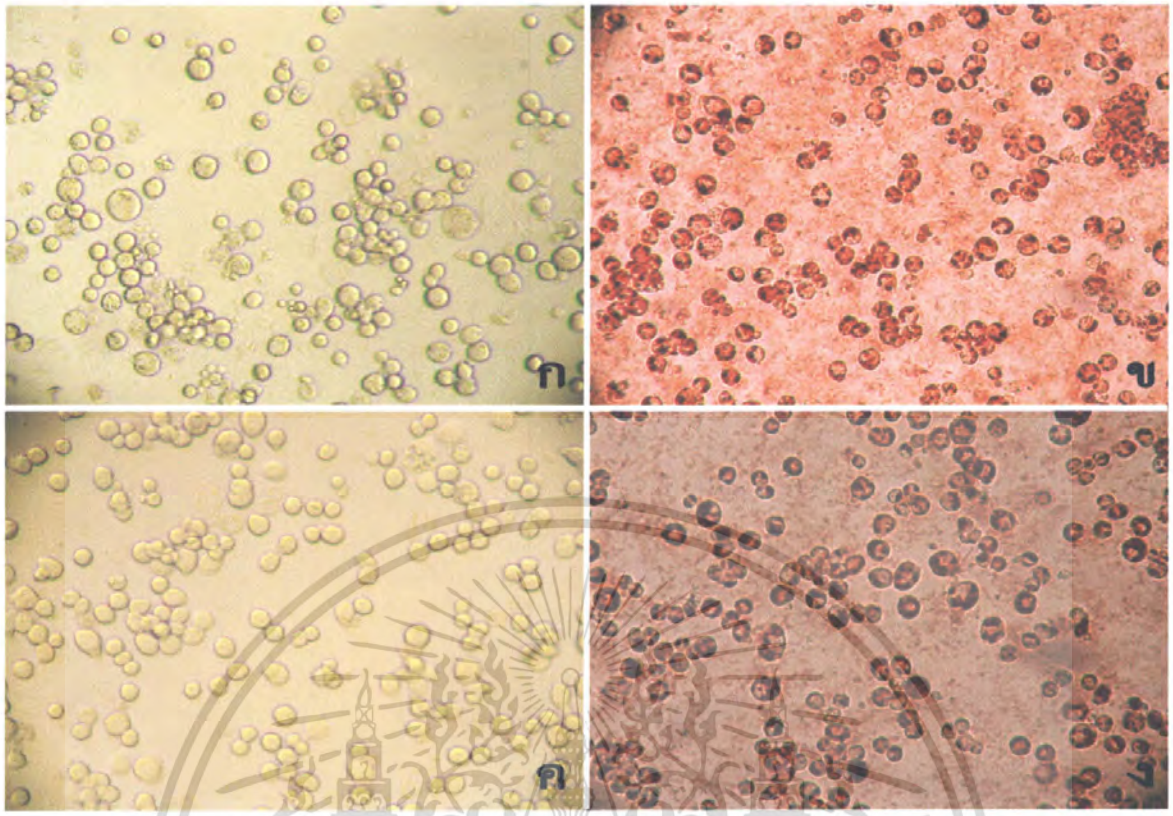


รูปที่ 4.1 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง
ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.2 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง
ก. เฮกเซนความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ข. เฮกเซนความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด
ค. เฮกเซนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ง. เฮกเซนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

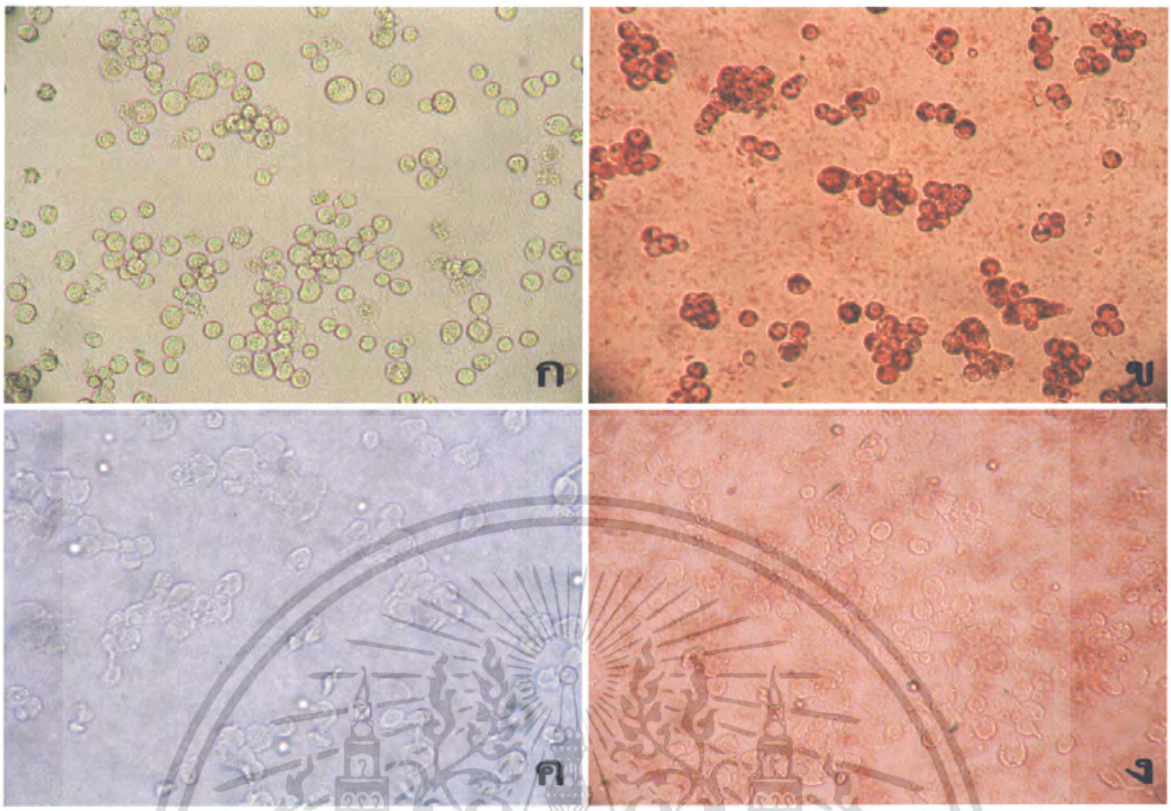
ก. เฮกเซนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เฮกเซนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 เซลล์ไลน์ SF9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)

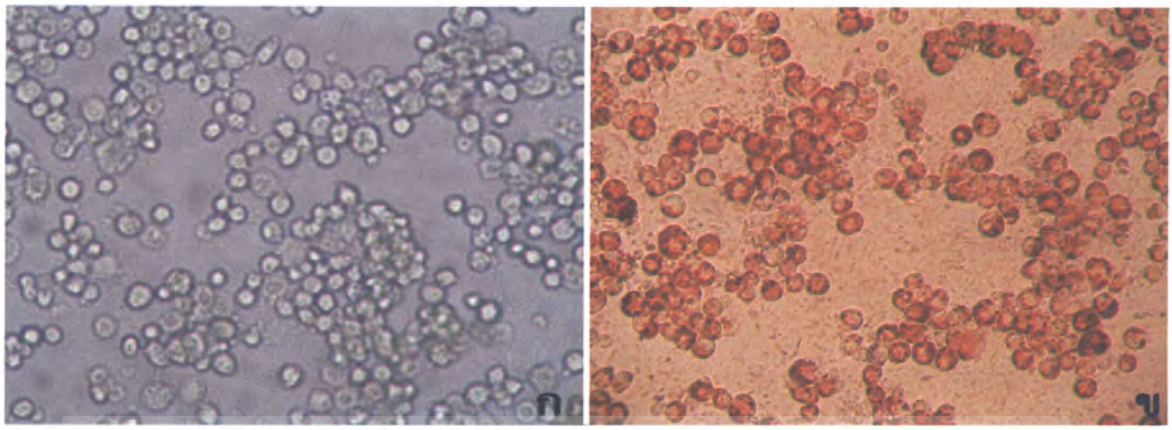
ก. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. 100% DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

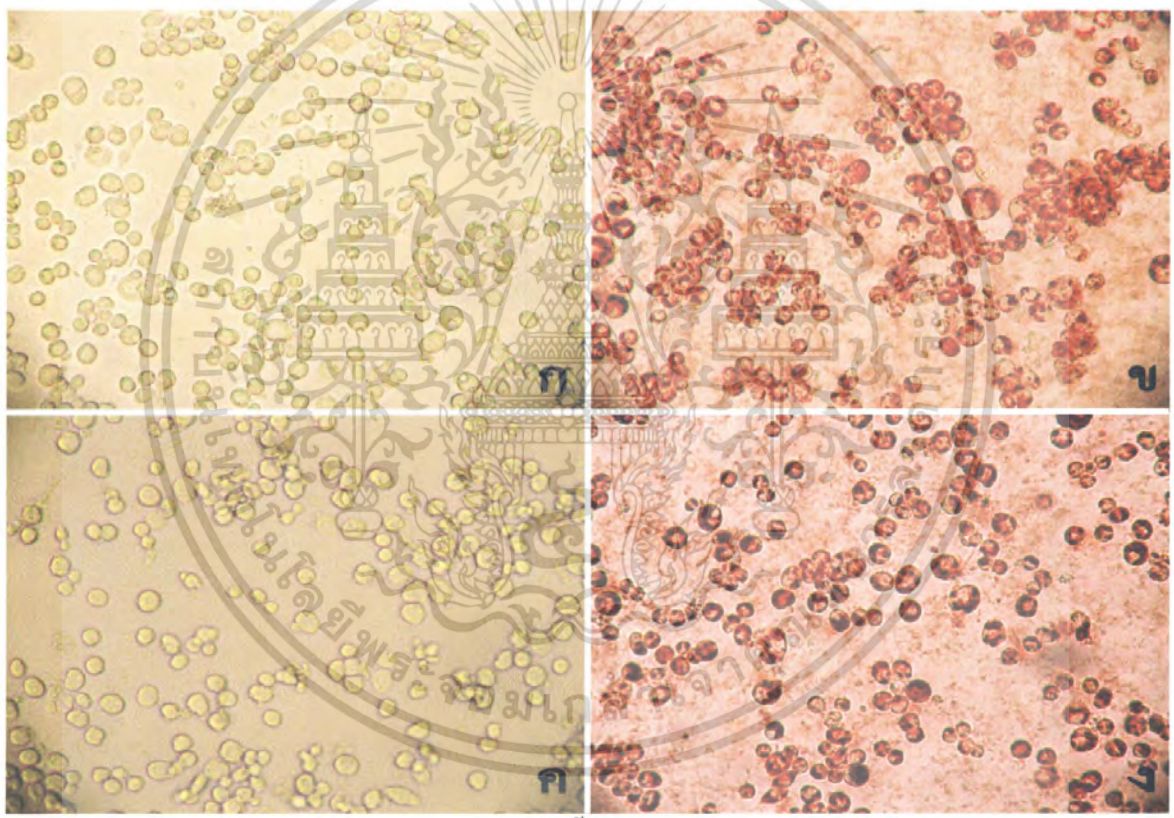
ง. 100% DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.6 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

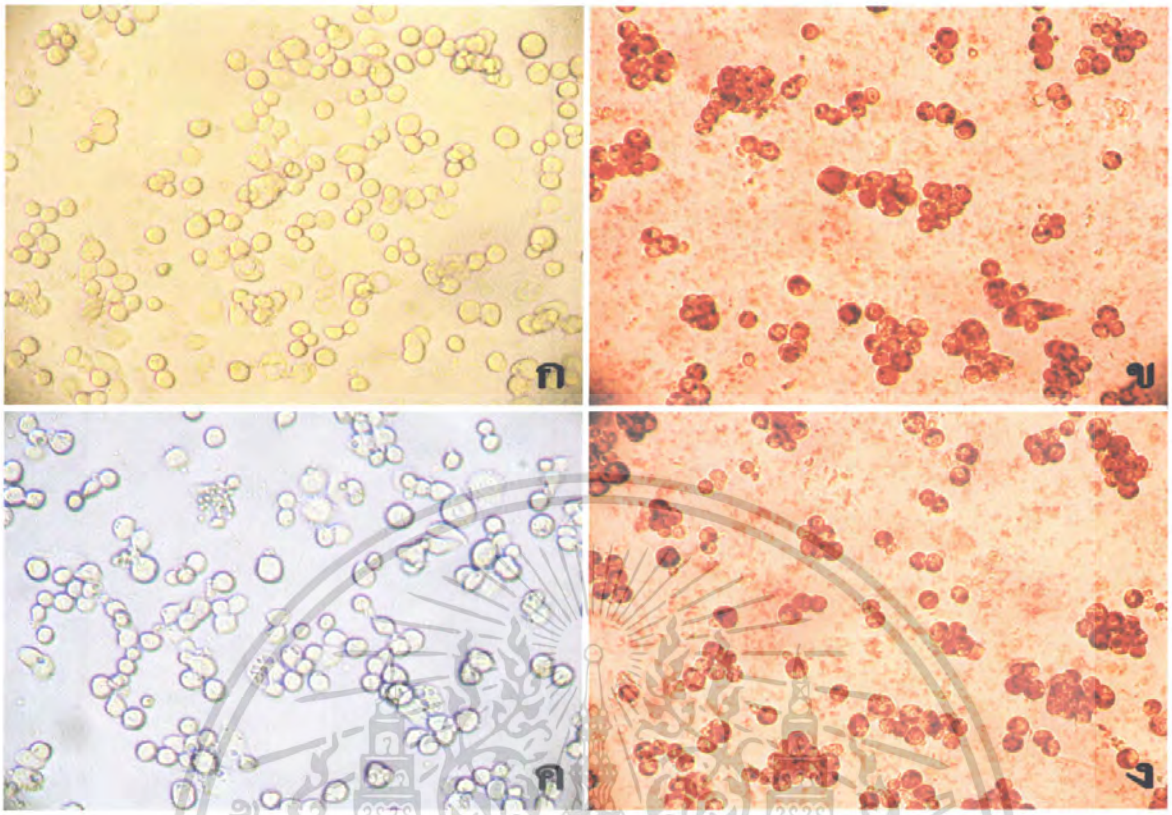
ก. เฮกเซนความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เฮกเซนความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เฮกเซนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. เฮกเซนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 เซลล์ไลน์ SH9 ในสารสกัดหยาบขี้โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

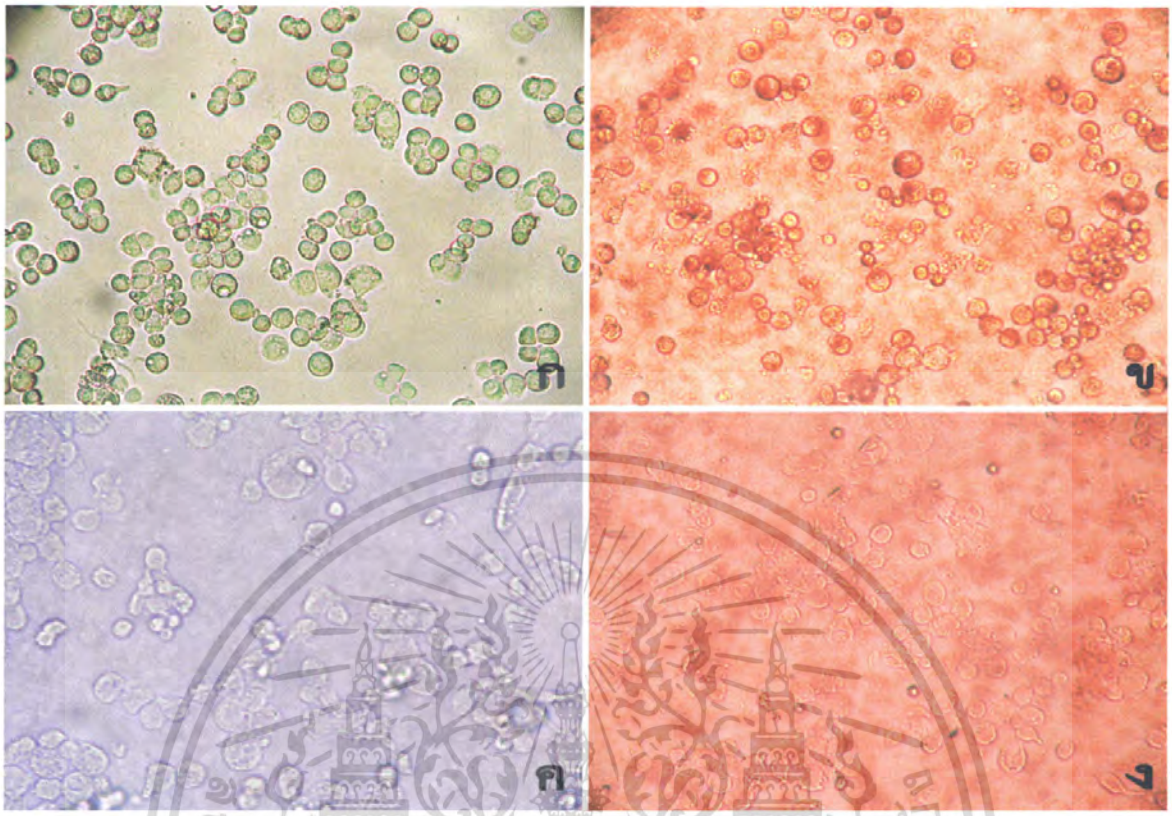
ก. เฮกเซนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เฮกเซนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ก. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เฮกเซนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. 100% DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. 100% DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.2 ตารางที่ ข-6 และตารางที่ ข -10 และรูปที่ 4.9 – 4.16 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ 250, 500, 1000, 2000, 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100% DMSO ผลการทดสอบความเป็นพิษได้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ ดังนี้ 0.00, 33.63, 54.06, 75.97, 77.02, 84.73 และ 78.43 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 24 ชั่วโมง และเมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 48 ชั่วโมง ได้ผลค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 0.00, 45.88, 75.88, 91.31, 93.62, 94.17 และ 88.93 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ ข-6)

หลังจากทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ ข-7) พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนเป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดนานมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

ส่วนการพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ต่างกัน โดยถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีระดับความเข้มข้นมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนกับระยะเวลาบ่มเซลล์ พบว่าทั้งสองปัจจัยไม่มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน

จากตารางที่ ข-10 เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ผลที่ได้คือที่ทุกระดับความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษแตกต่างกับค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของกลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษที่แตกต่างกันและแตกต่างกับระดับความเข้มข้น 1,000 – 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1,000 – 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษไม่แตกต่างจาก 100% DMSO ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือทุกระดับความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษแตกต่างกับค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของกลุ่มควบคุมที่ระดับความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

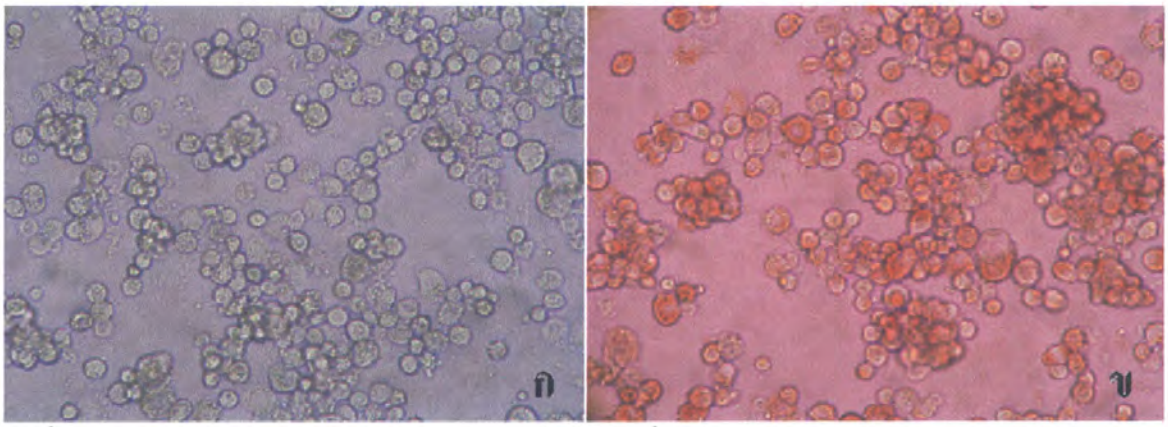
เชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างจากทุกระดับความเข้มข้นส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1,000 – 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษที่แตกต่างกับทุกระดับความเข้มข้นและแตกต่างจาก 100% DMSO อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ ข-10)

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
250	33.63[b]	45.88[b]
500	54.06[c]	75.88[c]
1,000	75.97[d]	91.31[dc]
2,000	77.02[d]	93.62[e]
4,000	84.73[d]	94.17[e]
100 % DMSO	78.43[d]	88.93[d]

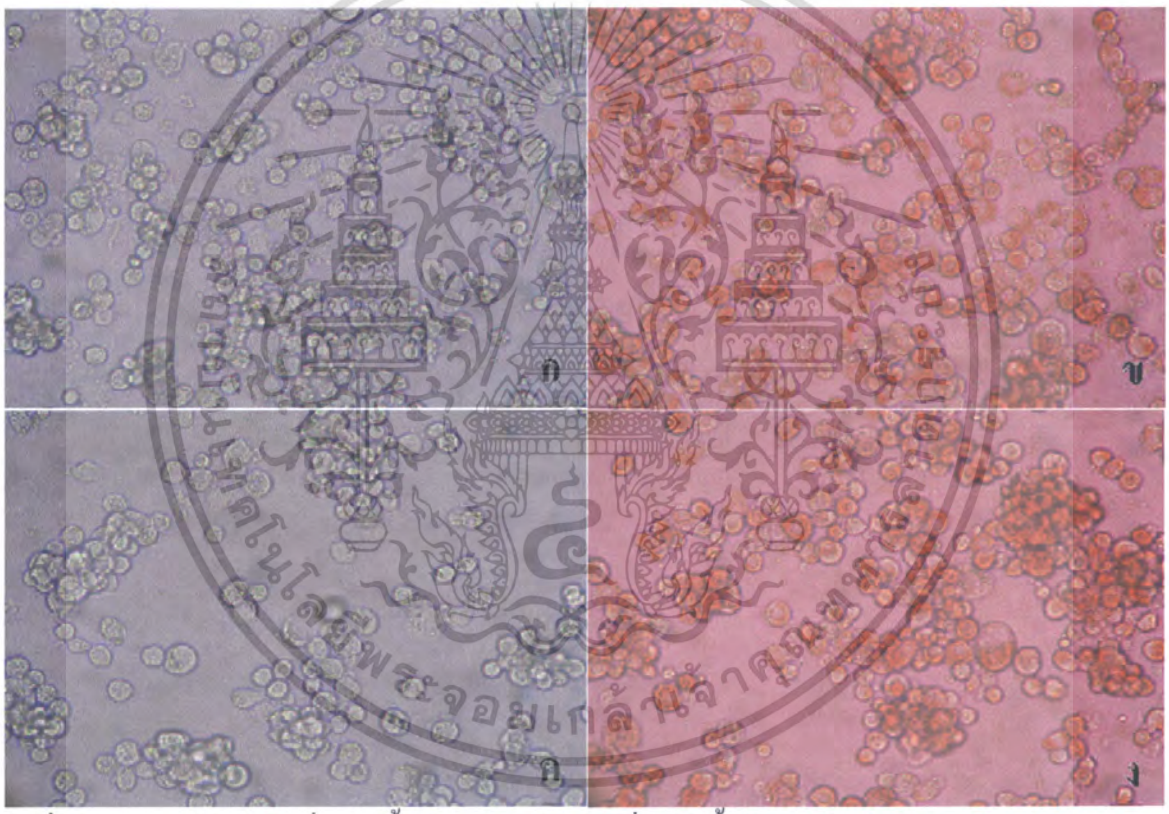
* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.10 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

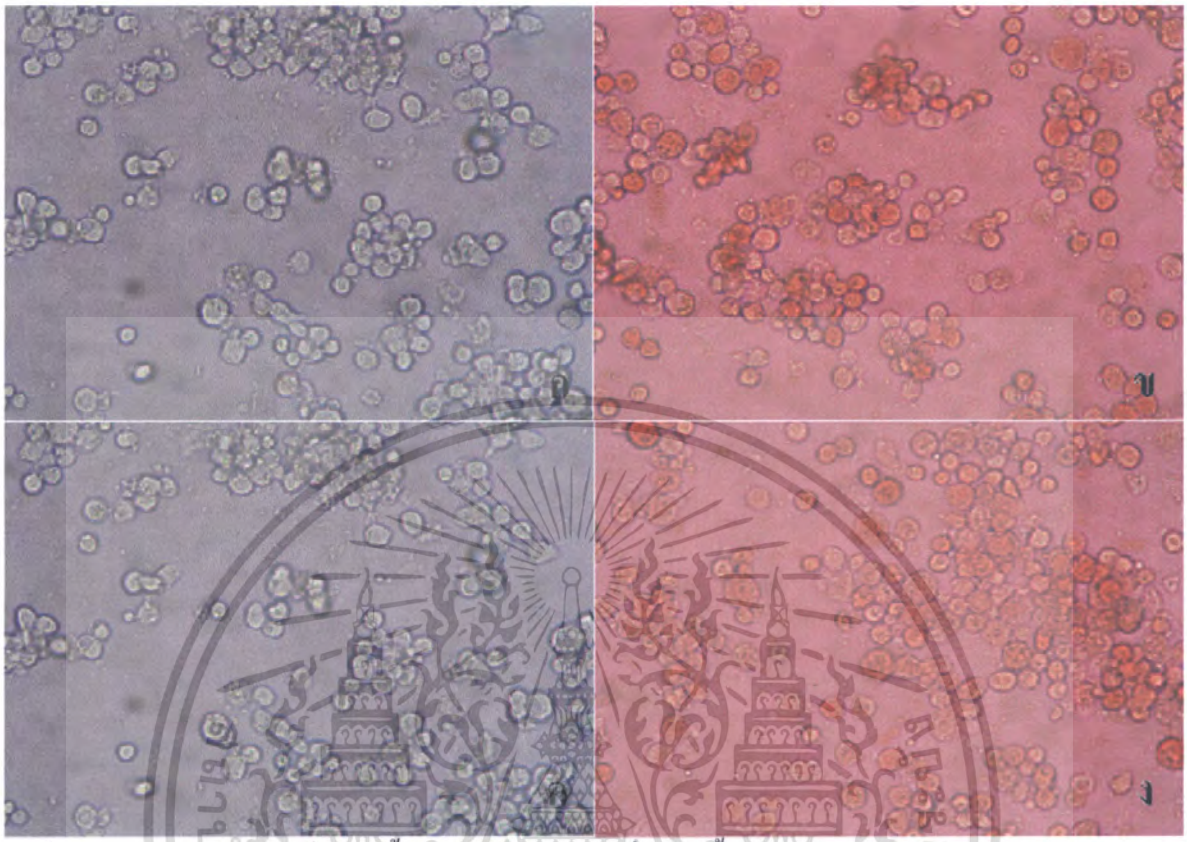
ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

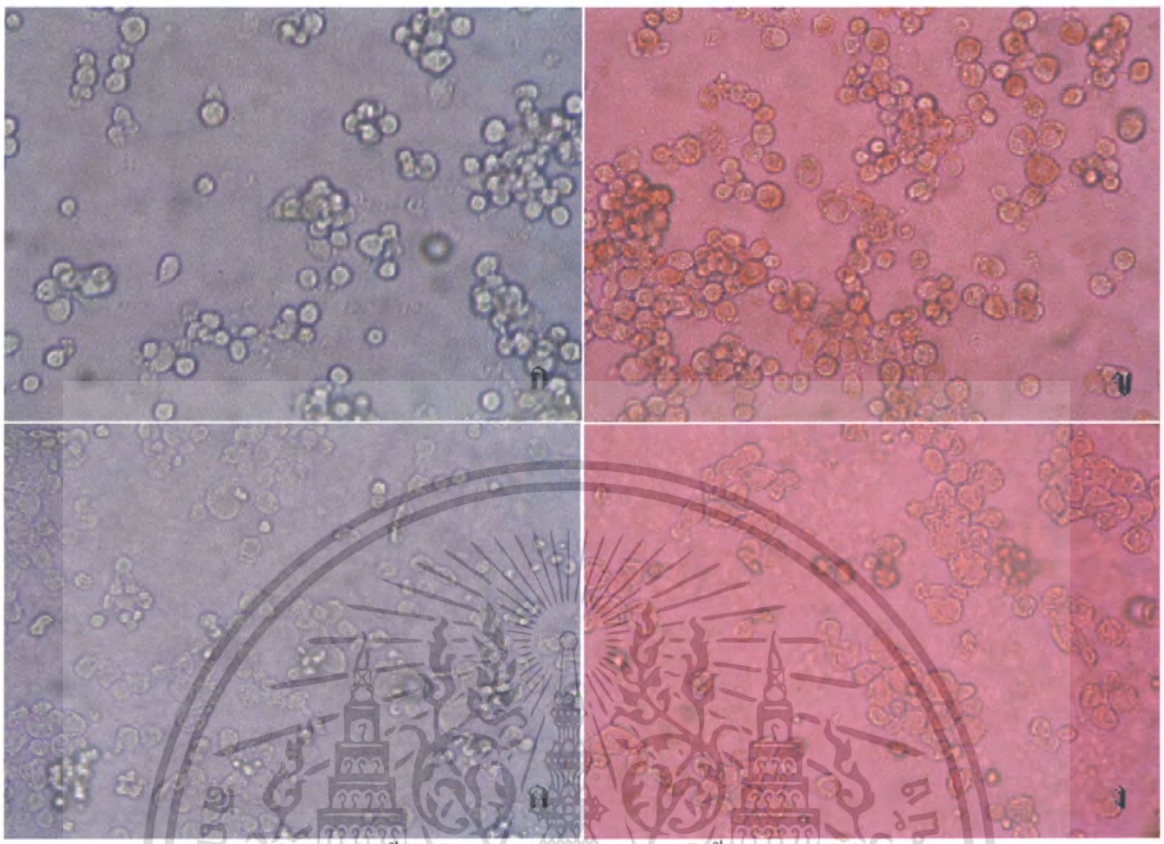
ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)

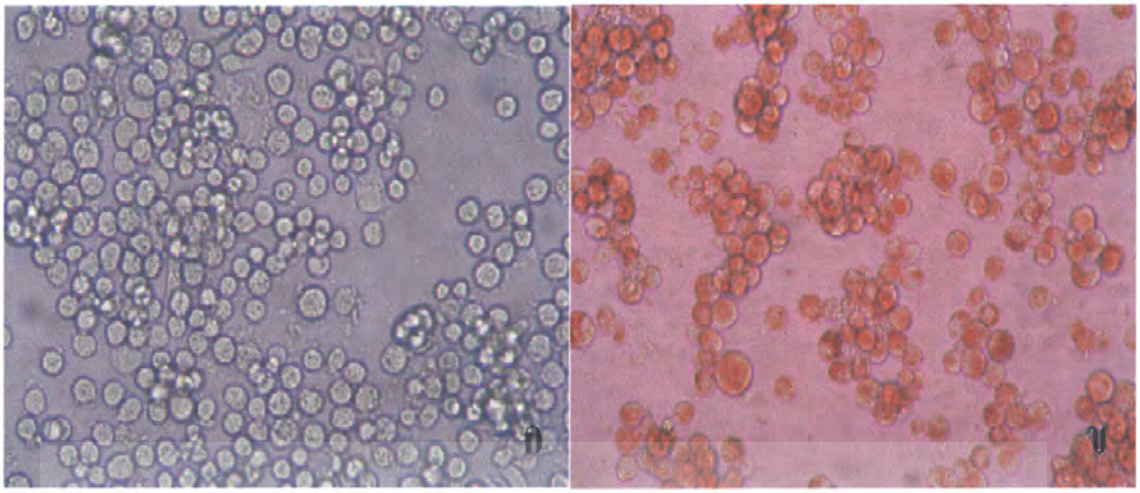
ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. 100 % DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

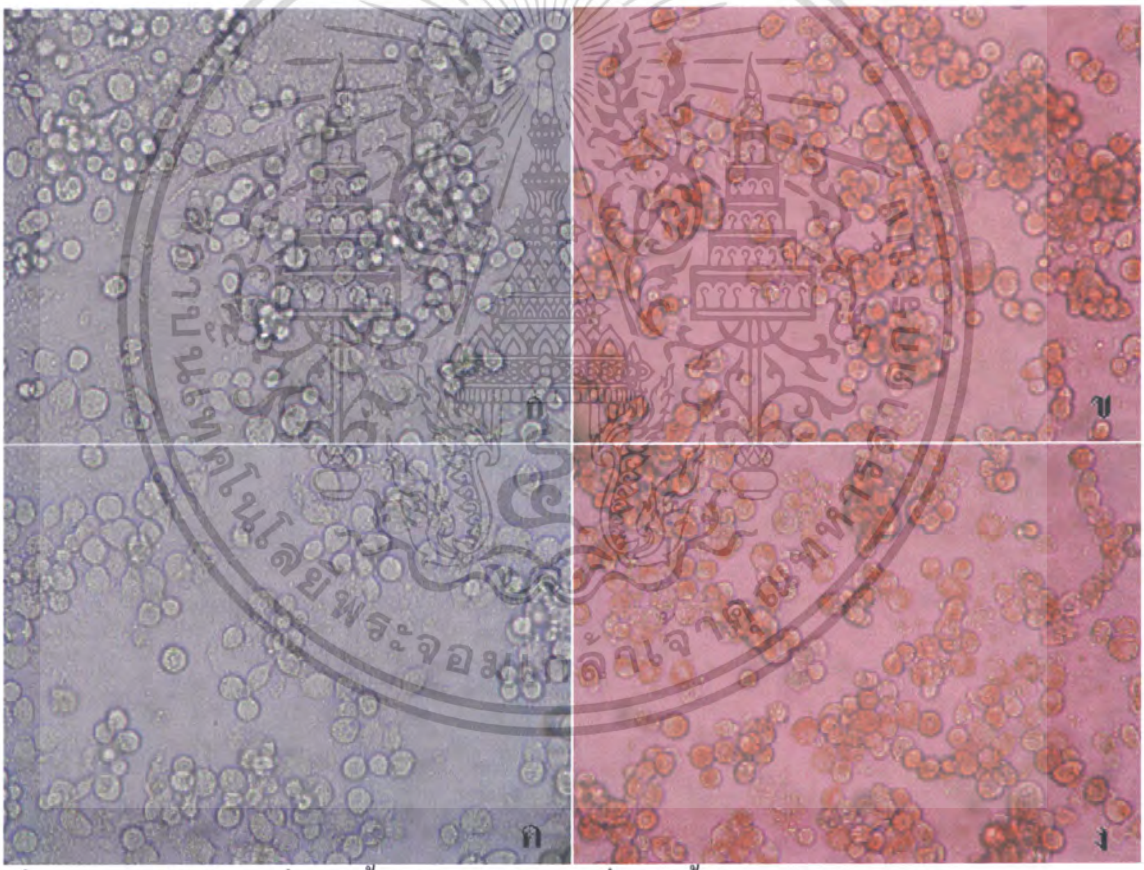
ง. 100 % DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.14 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

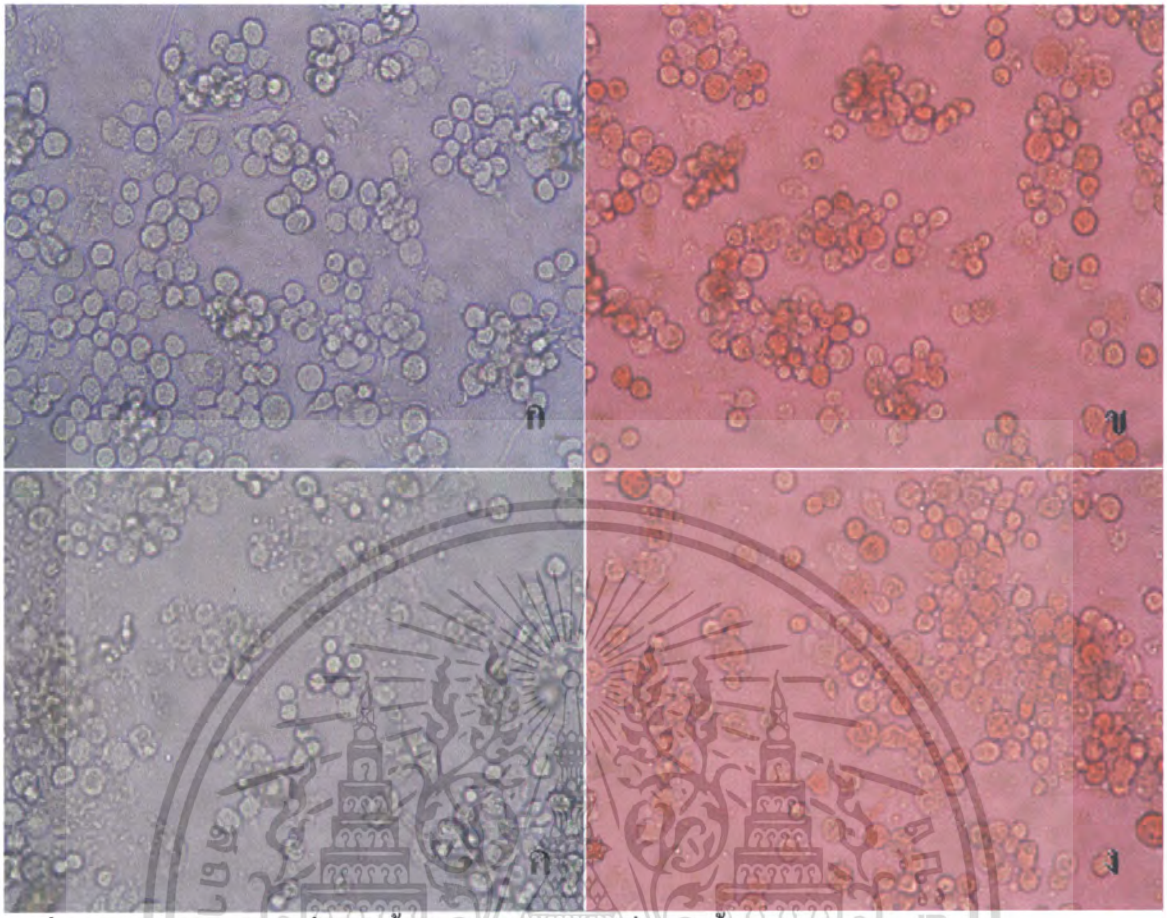
ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

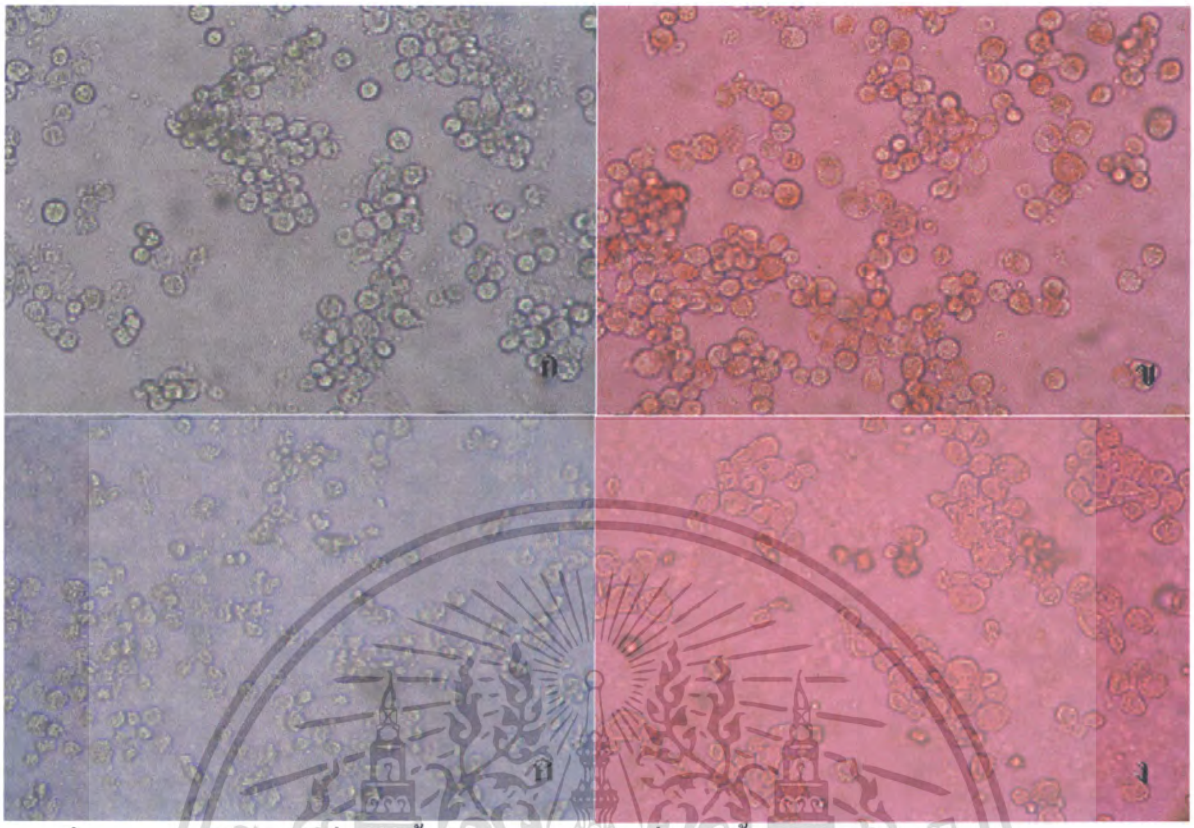
ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 เซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)

ก. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. ไดคลอโรมีเทนความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. 100 % DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. 100 % DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถในชั้นเอทานอล

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.2 ตารางที่ ข-6 และตารางที่ ข -10 และรูปที่ 4.17 – 4.24 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ 500, 1000, 2000, 4,000, 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100% DMSO ผลการทดสอบความเป็นพิษได้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ ดังนี้ 0.00, 6.82, 25.96, 33.10, 54.77, 81.39 และ 75.02 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 24 ชั่วโมง และเมื่อบ่มในเซลล์ Sf9 นาน 48 ชั่วโมง ได้ผลค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 0.00, 7.44, 29.72, 37.29, 75.69, 96.16 และ 85.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ ข-11)

หลังจากทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล (ตารางที่ ข-12) พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลเป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดนานมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

ส่วนการพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ต่างกัน โดยถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีระดับความเข้มข้นมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย

จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลกับระยะเวลาบ่มเซลล์ พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล

จากตารางที่ ข-15 เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ผลที่ได้คือที่ทุกระดับความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษแตกต่างกันและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่แตกต่างจากระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระดับความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และระดับความเข้มข้น 4,000 และ 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ ข-15)

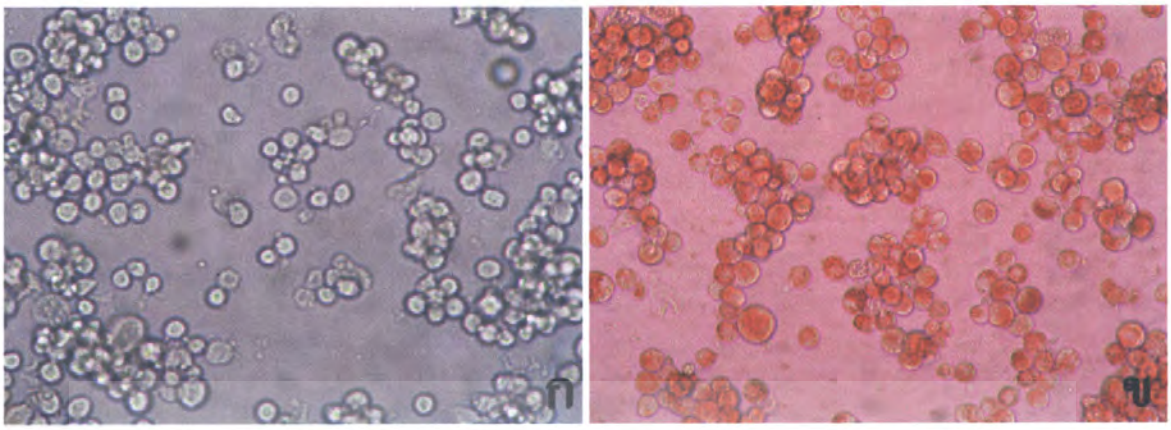
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถ ในตัวทำละลายเอทานอล

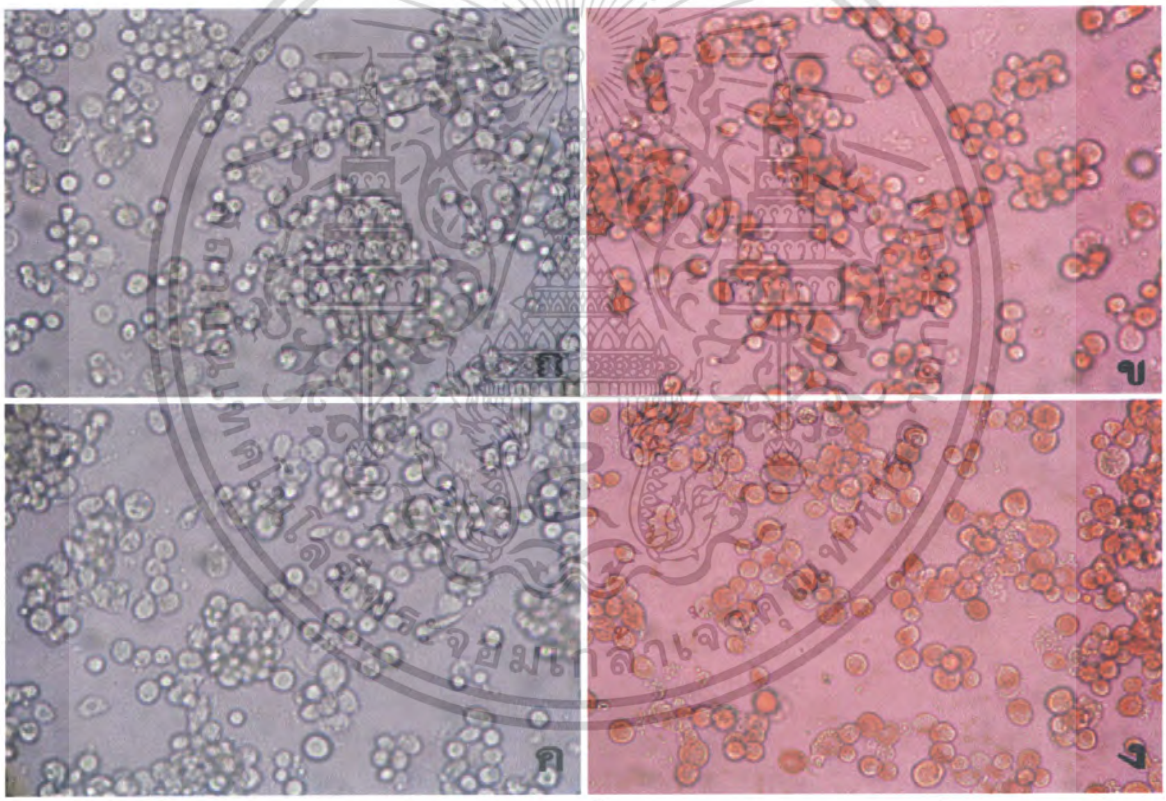
ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ ในตัวทำละลายเอทานอล(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
500	6.82[b]	7.44[a]
1,000	25.96[c]	29.72[b]
2,000	33.10[d]	37.29[b]
4,000	54.77[e]	75.69[c]
8,000	81.39[g]	96.16[e]
100 % DMSO	75.02[f]	85.80[d]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

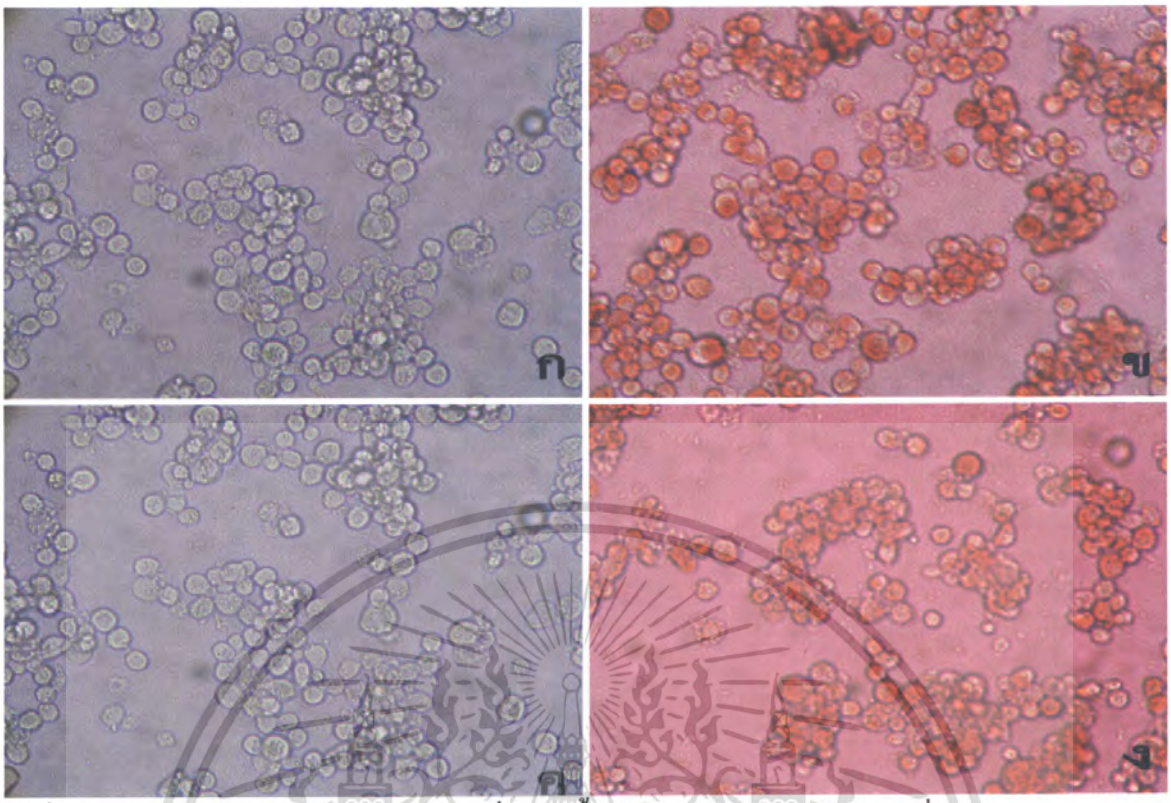


รูปที่ 4.17 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง
ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.18 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง
ก. เอทานอลความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ข. เอทานอลความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด
ค. เอทานอลความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ง. เอทานอลความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

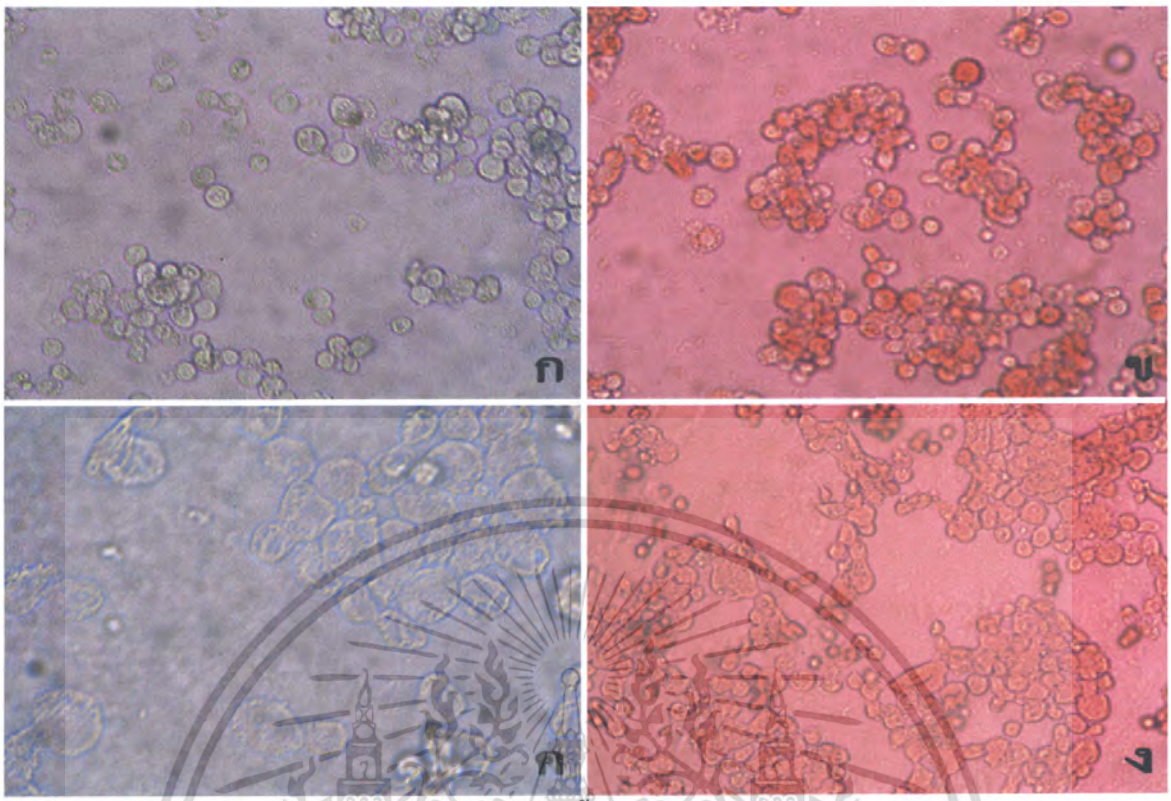
ก. เอทานอลความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เอทานอลความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เอทานอลความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. เอทานอลความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 เซลล์ไลน์ SK9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล
บ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)

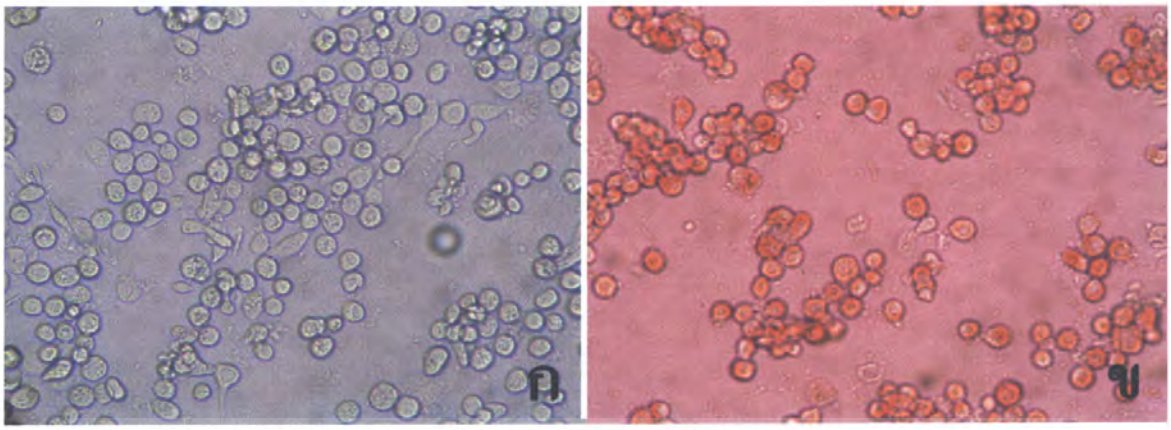
ก. เอทานอลความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เอทานอลความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

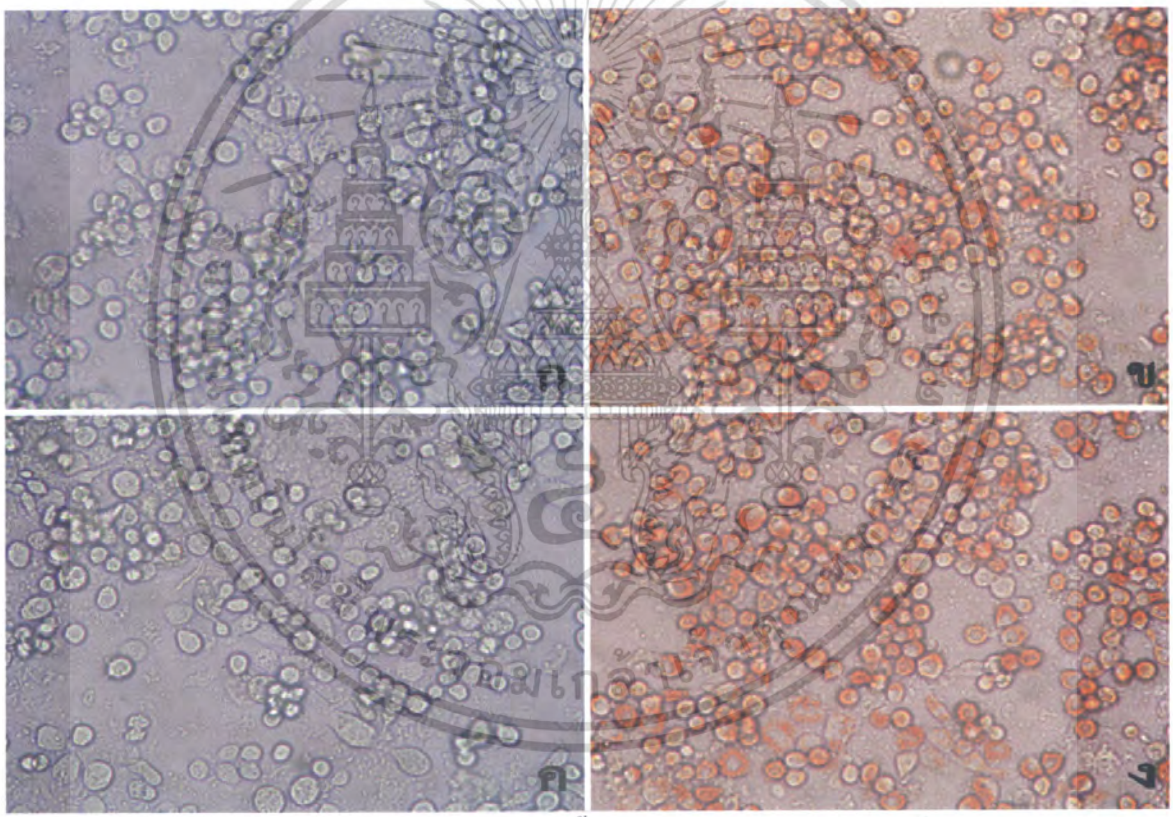
ค. 100% DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. 100% DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

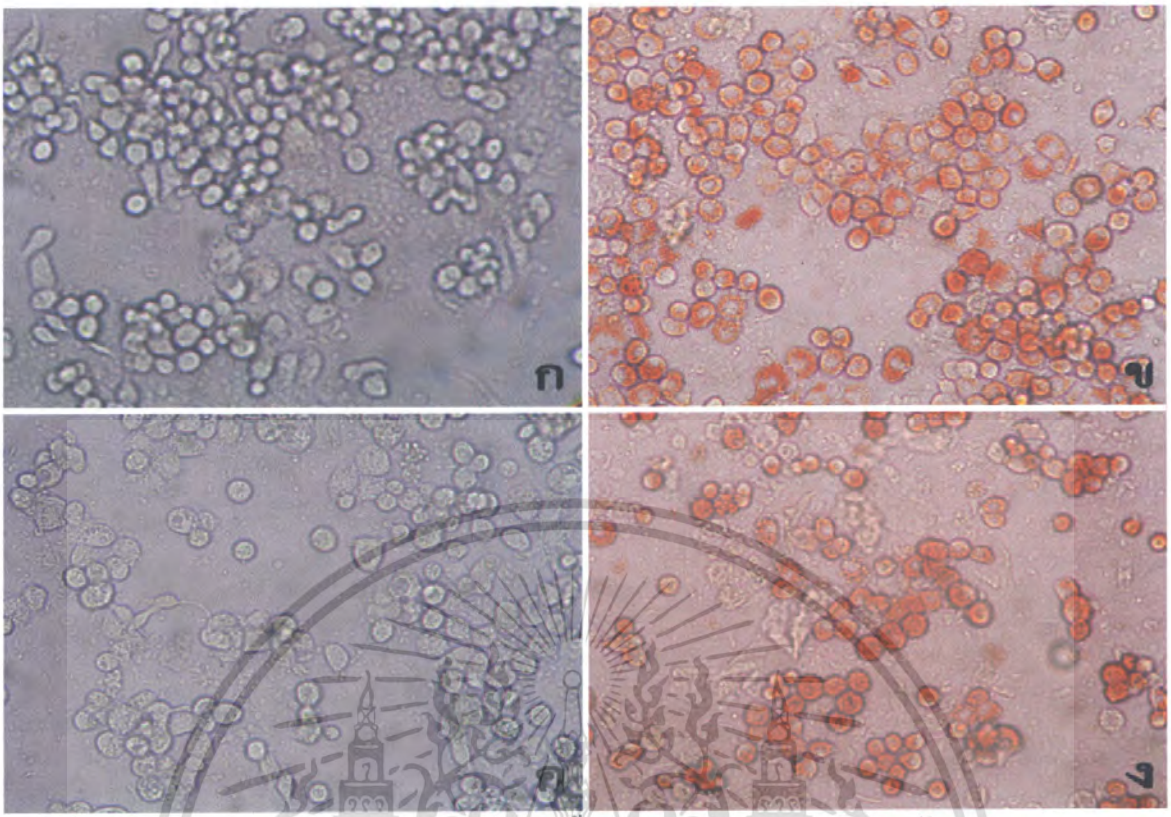


รูปที่ 4.21 เซลล์ไลน์ Sf9 ในกลุ่มควบคุม บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง
ก. ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด และ ข. ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด



รูปที่ 4.22 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง
ก. เอทานอลความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ข. เอทานอลความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด
ค. เอทานอลความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด
ง. เอทานอลความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

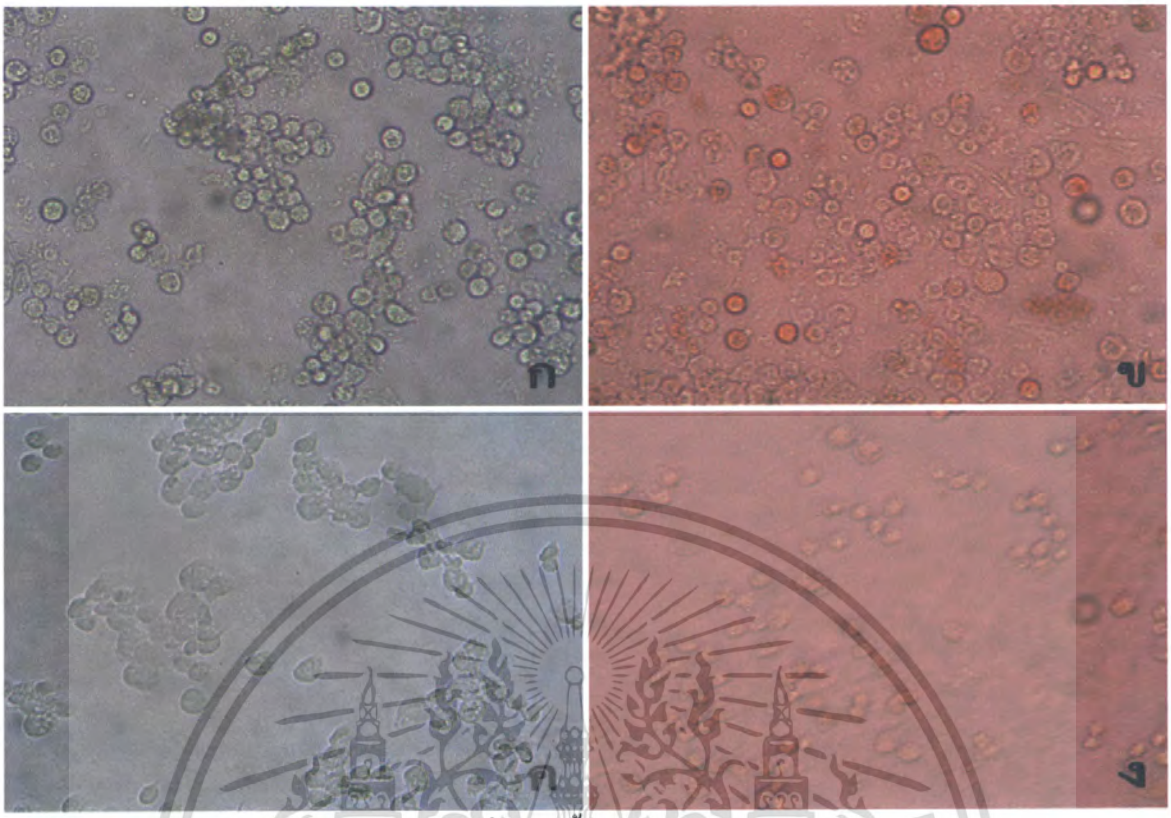
ก. เอทานอลความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เอทานอลความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เอทานอลความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. เอทานอลความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.24 เซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล
บ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ก-ข) และ 100 % DMSO (ค-ง)

ก. เอทานอลความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ข. เอทานอลความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. 100% DMSO ก่อนย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. 100% DMSO ภายหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการตรวจหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล (ตารางที่ 4.4 ละตางรางที่ ก-37)

จากการทดสอบหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด เมื่อบ่มในเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้คือความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือมีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 404.53 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน มีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 1,857.74 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสุดท้ายคือสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล มีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 3,689.30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ผลการทดลองที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกับการบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง คือสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนเป็นพิษสูงสุด มีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 276.79 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน มีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 1,545.92 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสุดท้ายคือสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล มีค่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 2,926.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีความเป็นพิษร้อยละ 50 ต่อเซลล์ไลน์ Sf9

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นเฉลี่ยเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
เฮกเซน	1,857.74	1,545.92
ไดคลอโรมีเทน	404.53	276.79
เอทานอล	3,689.30	2,926.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 โดยวิธีย้อมสีนิวทรัลเรด โดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารสกัดหยาบจากใบและก้านยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล โดยที่ในตัวทำละลายเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000 และ 2000 ตามลำดับ ไดคลอโรมีเทนที่ระดับความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ตามลำดับ และเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ตามลำดับ จากนั้นบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยโปรแกรม SPSS 14.0 (ภาคผนวก ข) พบว่า เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดนานมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย และเมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ต่างกัน โดยถ้าบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีระดับความเข้มข้นมากขึ้น จะทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วยเช่นกัน

จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดกับระยะเวลาบ่มเซลล์ พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถต่อเซลล์ไลน์ Sf9

เมื่อทำการทดสอบหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล พบว่าเมื่อบ่มในเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้คือความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน และสุดท้ายคือสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล และเมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ผลการทดลองที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกับการบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง คือ สารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนเป็นพิษสูงสุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน และสุดท้ายคือสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1) หลังทำการสกัดสารจากก้านและใบของยี่โถในตัวทำละลายต่างๆ ควรกรองสารในแต่ละตัวทำละลายให้ดี เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบยี่โถที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง
2) ควรเพิ่มความระมัดระวังในการทำการเจือจางสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อให้แต่ละระดับความเข้มข้นมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เรียงลำดับค่ากันไปตามที่ควร และเพื่อให้ผลที่ได้มีความถูกต้อง
3) ควรมีการทดสอบการละลายสารสกัดด้วยสารอื่นที่นอกเหนือจากในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เพราะจากการทดลองพบว่าในตัวทำละลายบางชนิดละลายได้ไม่ดีในในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) จึงส่งผลให้เมื่อทำการกรองสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายดังกล่าวด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมโครเมตร ทำให้สารบางส่วนไม่สามารถผ่านกระดาษกรองไปได้ และความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายนั้นๆลดลงไปด้วย
4) ควรมีการทดสอบสารสกัดหยาบจากก้านและใบของยี่โถกับเซลล์ชนิดอื่นๆ เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษที่มีต่อเซลล์ต่างชนิดกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สุรพล อุปดิสสกุล. **2528** สถิติ การวางแผนการทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adome, R.O., Gachihi, J.W., Onegi, B., Tamale, J. and Apio, S.O. **2003** The cardiac effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated guinea pig hearts. *Afr. Hlth. Sci.*, *3*(2), 77-86.

Aniara Corporation. **2006** In Cytotox-NR Neutral Red Kit. Lysosomal activity and Membrane integrity.

Capinera, J.L. **2005** Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Florida.

El-Shazly, M.M., El-Zayat, E.M. and Hermersdörfer, H. **2000** Insecticidal activity, mammalian cytotoxicity and mutagenicity of an ethanolic extract from *Nerium oleander* (Apocynaceae). *Annals of Applied Biology*, *136*(2), 153–157.

El-Shazly, M.M., Nassar, M.I. and El-Sherief, H.A. **1996** Toxic effect of ethanolic extract of Nerium oleander (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of Muscina stabulans (Diptera-Muscidae). *J. Egypt Soc. Parasitol*, *26*(2), 461-73.

LiWei, F., ShuJun, Z., Na, Li., JinLan, Wang., Ming, Zhao., Sakai, J., Hasegawa, T., Mitsui, T., Kataoka, T., Oka, S., Kiuchi, M., Hirose, K. and Ando, M. **2005** Three New Triterpenes from *Nerium oleander* and Biological Activity of the Isolated Compounds. *J. Nat. Prod.*, *68*(2), 198 -206.

Naqvi, B.S., Shaikh, M.R., Maleka, F.A. and Shaikh, D. **1994** Study of antibacterial activity of ethanolic extracts from *Nerium indicum* and *Habiscus rosasinensis*. *J. Ilamic Acad. Sci.* *7*(3), 167-168.

Nellis, D.W. **1997** *Poisonous Plants and Animals of Florida and the Caribbean*. Pineapple Press Inc.

Pathak, S., Multani, A.S., Narayan, S., Kumar, V. and Newman, R.A. **2000** Anvirzel, an extract of *Nerium oleander*, induces cell death in human but not murine cancer cells. *Anti-Cancer Drugs*, *11*(6), 455-463.

Shirazi, F.H., Ahmadi, N. and Kamalinejad, M. **2004** Evalution of northen Iran *Mentha pulegium* L. cytotoxicity. *DARU*, *12*(3), 106-110.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Singh, S. and Singh, D.K. **1998** Molluscicidal activity of *Nerium indicum* bark. *Brazi. J. Med. Biol. Res.*, *31*, 951-954.

The National Toxicology Program (NTP) Interagrncy Center for the Evalution of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). **2003** Test Method Protocol for the BALB/c3T3 Neutral Red Uptake Cytotoxicity Test. A Test for Basal Cytotoxicity for an *In Vitro* Validation Study Phase III. Based on Standard Operation Procedure Recommendation from an International Workshop Organized by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) : National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS).

Turan, N., Akgün-Dar, K., Kuruca, S.E., Kılıçaslan-Ayna, T., Seyhan, V.G., Atasever, B., Meriçli, F. and Çari, M. **2006** Cytotoxic effects of leaf, stem and root extracts of *Nerium oleander* on leukemia cell lines and role of the p-glycoprotein in this effect. *J. Exp. Ther. Oncol.*, *6*(1), 31-8.

Vaughn, J.L., Goodwin, R.M., Tomkins, T. and MacCawley, P. **1977** Establishment of two cell lines from the insect *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) *In vitro*, *13*, 213-217.

XuSong, Z., XiaoPing, Y., JianMing, C., HongXing, X., GongYin, Y., ZhongXian, L. and JueFeng, Z. **2003** Bioactivity of leaf extracts of oleander *Nerium indicum* on striped stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, *15*(3), 167-171.

Yu, MS., Lai, SW., Lin, KF., Fang, JN., Yuen, WH. And Chang, R. CC. **2004** Characterization of polysaccharides from the flowers of *Nerium indicum* and their neuroprotective effects. *Intern. J. Mol. Med.*, *14*, 917-924.

Zia, A., Siddiqui, B.S., Begum, S., Siddiqui, S. And Suria, A. **1995** Study on the constituents of the leaves of *Nerium oleander* on behavior pattern in mice. *J. Ethnopharmacol.*, *49*, 33-39.

www.http://edis.ifas.ufl.edu/IN255

www.http://en.wikipedia.org/wiki/Neutral_red

www.http://www.kruprasar.net

www.http://www.medplant.mahidol.ac.th

www.http://www.pharm.chula.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ก-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

B	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.051	0.075	0.05	0.385	0.361	0.321	0.282	0.175	0.049	0.051	0.392	0.05
0.048	0.076	0.048	0.37	0.368	0.327	0.293	0.196	0.051	0.048	0.372	0.05
0.046	0.083	0.049	0.384	0.379	0.352	0.316	0.215	0.046	0.046	0.389	0.046
0.045	0.075	0.045	0.395	0.383	0.348	0.323	0.183	0.045	0.045	0.427	0.048
0.049	0.049	0.048	0.046	0.048	0.049	0.047	0.045	0.047	0.047	0.051	0.048
0.048	0.048	0.047	0.049	0.046	0.05	0.052	0.047	0.048	0.046	0.049	0.053
0.046	0.045	0.045	0.046	0.047	0.047	0.046	0.047	0.046	0.047	0.047	0.046
0.052	0.046	0.048	0.045	0.048	0.048	0.049	0.045	0.049	0.05	0.049	0.045
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-2 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.33	0.32	0.29	0.27	0.25	0.15
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	3.33	13.48	18.03	25.30	53.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

B	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.051	0.075	0.05	0.385	0.361	0.321	0.282	0.175	0.049	0.051	0.392	0.05
0.048	0.076	0.048	0.37	0.368	0.327	0.293	0.196	0.051	0.048	0.372	0.05
0.046	0.083	0.049	0.384	0.379	0.352	0.316	0.215	0.046	0.046	0.389	0.046
0.045	0.075	0.045	0.395	0.383	0.348	0.323	0.183	0.045	0.045	0.427	0.048
0.049	0.049	0.048	0.046	0.048	0.049	0.047	0.045	0.047	0.047	0.051	0.048
0.048	0.048	0.047	0.049	0.046	0.05	0.052	0.047	0.048	0.046	0.049	0.053
0.046	0.045	0.045	0.046	0.047	0.047	0.046	0.047	0.046	0.047	0.047	0.046
0.052	0.046	0.048	0.045	0.048	0.048	0.049	0.045	0.049	0.05	0.049	0.045
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0477 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-4 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.35	0.34	0.33	0.29	0.26	0.14
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	4.05	7.13	17.34	26.91	58.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

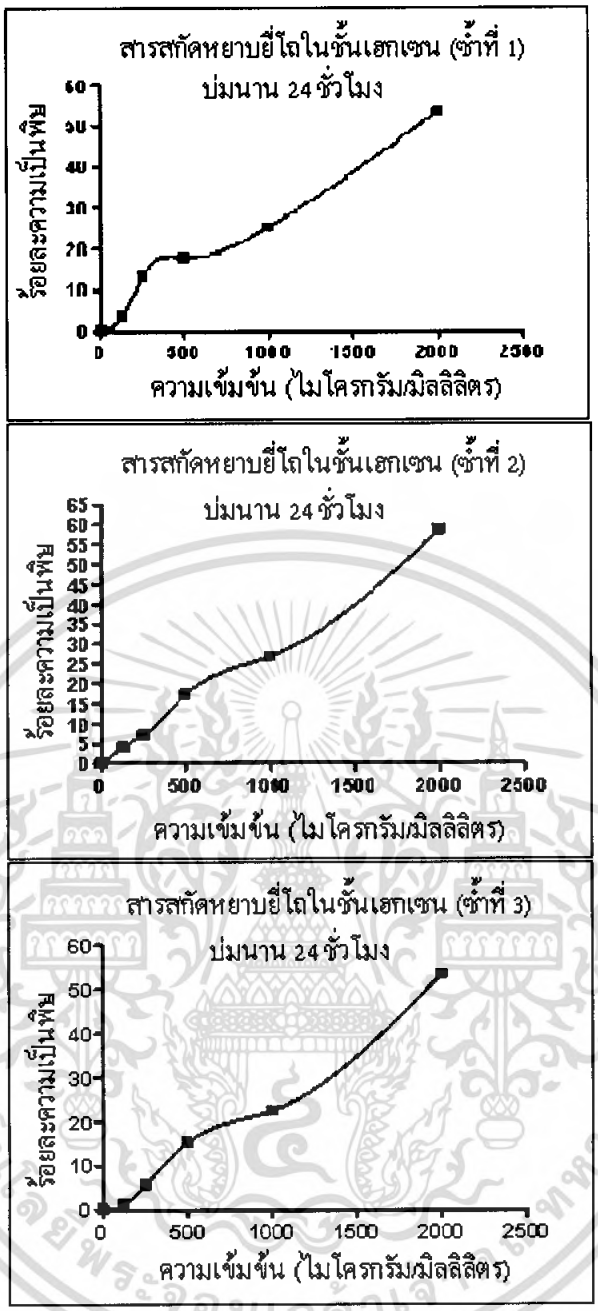
B	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.047	0.093	0.047	0.362	0.365	0.319	0.27	0.197	0.046	0.048	0.36	0.047
0.046	0.08	0.045	0.348	0.344	0.327	0.317	0.184	0.044	0.046	0.372	0.048
0.047	0.081	0.046	0.386	0.332	0.319	0.311	0.191	0.049	0.048	0.391	0.047
0.05	0.084	0.049	0.358	0.356	0.309	0.284	0.213	0.044	0.049	0.354	0.049
0.046	0.048	0.049	0.048	0.048	0.049	0.046	0.046	0.045	0.049	0.045	0.048
0.047	0.047	0.051	0.047	0.045	0.046	0.049	0.048	0.049	0.048	0.046	0.047
0.045	0.046	0.049	0.046	0.048	0.045	0.046	0.049	0.047	0.046	0.047	0.045
0.05	0.049	0.047	0.045	0.049	0.047	0.049	0.045	0.049	0.051	0.045	0.046
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0472 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-6 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.32	0.32	0.30	0.27	0.25	0.15
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	1.16	5.61	15.22	22.41	53.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-1 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 1,880.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 1,779.16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 1,913.85 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

B	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.05	0.076	0.048	0.343	0.352	0.346	0.28	0.105	0.052	0.05	0.352	0.055
0.047	0.075	0.048	0.373	0.355	0.327	0.275	0.111	0.046	0.047	0.378	0.051
0.047	0.082	0.047	0.361	0.365	0.331	0.301	0.128	0.049	0.048	0.363	0.048
0.052	0.084	0.047	0.366	0.362	0.337	0.293	0.132	0.049	0.048	0.374	0.048
0.049	0.049	0.048	0.051	0.046	0.049	0.047	0.049	0.048	0.052	0.049	0.045
0.049	0.047	0.049	0.049	0.049	0.047	0.045	0.048	0.049	0.048	0.047	0.046
0.048	0.052	0.049	0.047	0.053	0.052	0.048	0.051	0.048	0.045	0.048	0.048
0.053	0.049	0.045	0.046	0.048	0.045	0.049	0.045	0.048	0.051	0.045	0.049
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0484 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-8 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.32	0.31	0.31	0.29	0.24	0.07
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	2.40	3.11	10.37	25.37	77.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

B	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.049	0.072	0.051	0.373	0.312	0.328	0.287	0.125	0.05	0.053	0.389	0.05
0.049	0.072	0.047	0.348	0.322	0.326	0.268	0.142	0.052	0.049	0.361	0.051
0.048	0.071	0.047	0.372	0.353	0.319	0.302	0.127	0.045	0.047	0.377	0.047
0.044	0.072	0.045	0.348	0.395	0.332	0.31	0.132	0.046	0.047	0.356	0.045
0.05	0.045	0.047	0.049	0.049	0.046	0.052	0.046	0.047	0.048	0.05	0.048
0.045	0.048	0.048	0.046	0.048	0.048	0.045	0.051	0.048	0.047	0.051	0.049
0.046	0.046	0.049	0.048	0.046	0.049	0.046	0.048	0.049	0.046	0.049	0.045
0.049	0.047	0.046	0.048	0.047	0.048	0.052	0.048	0.052	0.048	0.049	0.049
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-10 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.32	0.31	0.30	0.28	0.24	0.08
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	2.42	7.03	13.04	23.82	73.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

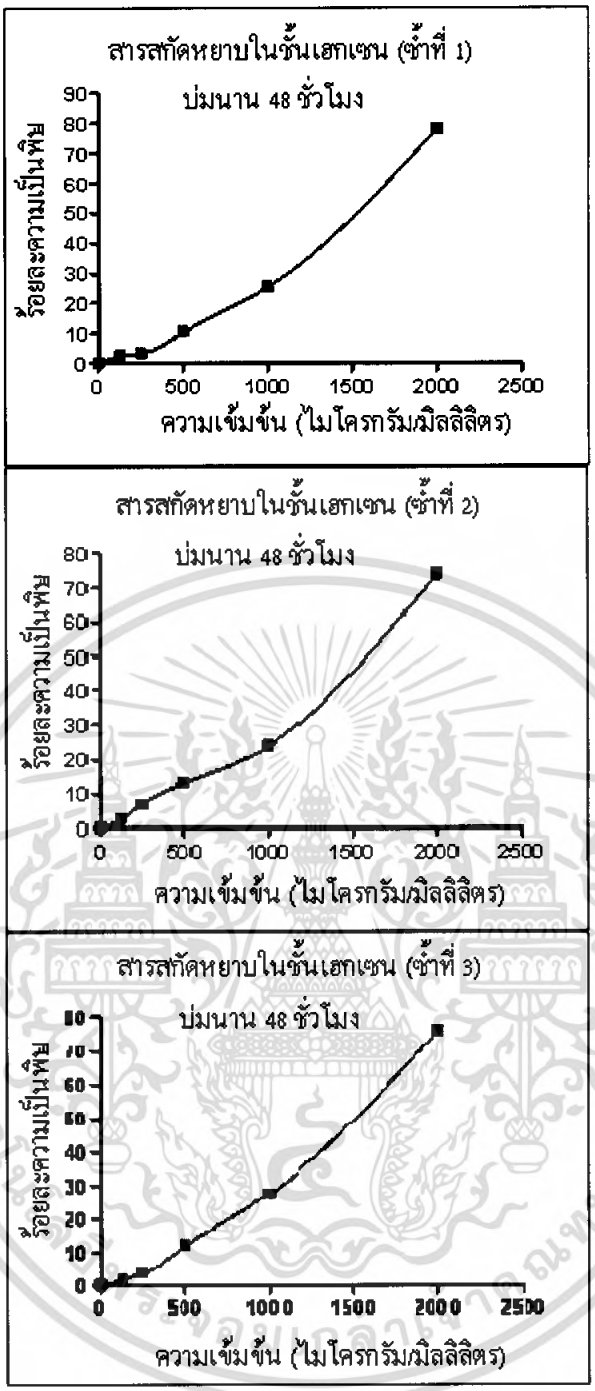
Blank	P	B	125	250	500	1000	2000	B	B	C	B
0.049	0.085	0.048	0.353	0.362	0.332	0.294	0.112	0.048	0.046	0.367	0.054
0.045	0.084	0.045	0.383	0.365	0.339	0.281	0.124	0.051	0.047	0.388	0.049
0.048	0.08	0.046	0.351	0.355	0.314	0.298	0.128	0.051	0.049	0.356	0.045
0.047	0.081	0.052	0.366	0.342	0.336	0.247	0.139	0.047	0.048	0.36	0.046
0.047	0.049	0.045	0.048	0.052	0.045	0.047	0.046	0.048	0.049	0.047	0.051
0.046	0.049	0.047	0.047	0.047	0.047	0.046	0.048	0.048	0.047	0.05	0.045
0.048	0.045	0.049	0.049	0.046	0.052	0.046	0.047	0.049	0.045	0.052	0.045
0.048	0.048	0.052	0.049	0.051	0.048	0.049	0.049	0.048	0.048	0.049	0.045
Blank	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0479 (64 หลุม)

ตารางที่ ก-12 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.32	0.32	0.31	0.28	0.23	0.08
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	1.46	3.73	11.77	27.48	75.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-2 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 1,531.34 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 1,588.706 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 1,517.724 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

B	P	B	250	500	1000	2000	4000	B	B	C	B
0.047	0.429	0.048	0.262	0.211	0.123	0.12	0.105	0.048	0.048	0.14	0.049
0.048	0.454	0.047	0.251	0.175	0.132	0.141	0.086	0.047	0.049	0.136	0.047
0.045	0.459	0.045	0.273	0.193	0.168	0.13	0.116	0.046	0.046	0.156	0.048
0.045	0.444	0.046	0.298	0.224	0.153	0.117	0.085	0.049	0.045	0.128	0.044

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0469 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-14 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.40	0.22	0.15	0.10	0.08	0.05
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	43.98	61.54	75.73	79.98	87.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

Blank	P	B	250	500	1000	2000	4000	B	B	C	B
0.049	0.378	0.048	0.251	0.18	0.122	0.107	0.094	0.049	0.049	0.107	0.05
0.048	0.369	0.047	0.263	0.202	0.116	0.114	0.093	0.048	0.048	0.109	0.044
0.048	0.372	0.046	0.215	0.187	0.108	0.122	0.097	0.047	0.048	0.136	0.046
0.042	0.391	0.046	0.224	0.182	0.106	0.104	0.09	0.048	0.05	0.134	0.049

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0475 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-16 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.33	0.19	0.14	0.07	0.06	0.05
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	42.20	57.50	80.15	80.53	86.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

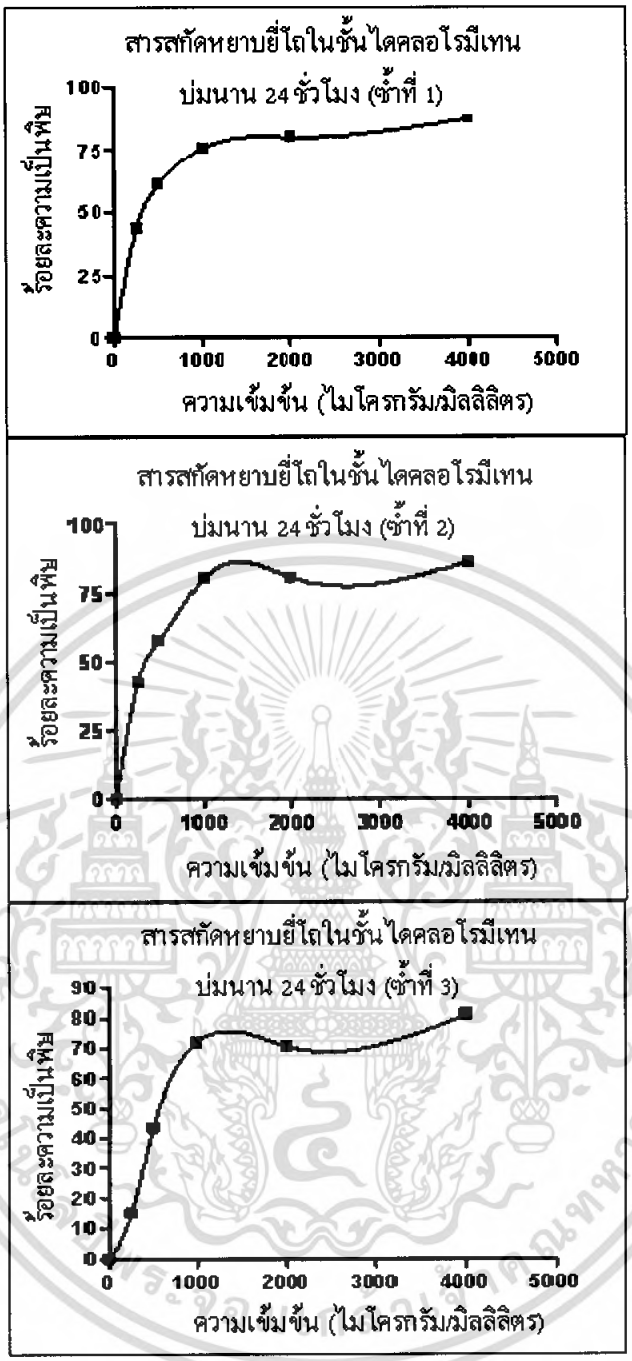
Blank	**P**	**B**	**250**	**500**	**1000**	**2000**	**4000**	**B**	**B**	**C**	**B**
0.048	0.351	0.048	0.311	0.264	0.138	0.14	0.105	0.049	0.048	0.138	0.048
0.048	0.344	0.049	0.358	0.203	0.143	0.134	0.106	0.047	0.048	0.13	0.048
0.05	0.339	0.046	0.263	0.192	0.116	0.129	0.107	0.046	0.047	0.135	0.047
0.044	0.325	0.045	0.245	0.188	0.115	0.126	0.091	0.044	0.044	0.127	0.044

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0469 (20หลุม)

ตารางที่ ก-18 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.29	0.25	0.16	0.08	0.09	0.06
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	14.71	43.16	72.03	70.57	80.91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-3 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 305.76 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 339.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 568.68 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-19 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

Blank	P	B	250	500	1000	2000	4000	B	B	C	B
0.048	0.467	0.048	0.291	0.124	0.097	0.073	0.03	0.049	0.048	0.091	0.048
0.048	0.536	0.05	0.295	0.12	0.113	0.092	0.156	0.047	0.048	0.112	0.048
0.045	0.49	0.046	0.317	0.147	0.071	0.064	0.04	0.046	0.046	0.107	0.045
0.043	0.518	0.047	0.296	0.136	0.085	0.087	0.05	0.047	0.05	0.108	0.046

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0472 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-20 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.46	0.25	0.08	0.04	0.03	0.02
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	45.13	81.65	90.40	93.11	95.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-21 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

Blank	P	B	250	500	1000	2000	4000	B	B	C	B
0.048	0.237	0.048	0.229	0.12	0.07	0.065	0.068	0.049	0.048	0.076	0.048
0.048	0.357	0.049	0.193	0.128	0.07	0.072	0.067	0.047	0.048	0.074	0.048
0.05	0.37	0.046	0.155	0.107	0.069	0.066	0.068	0.046	0.047	0.078	0.047
0.044	0.371	0.045	0.252	0.158	0.07	0.068	0.07	0.044	0.044	0.084	0.044

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0469 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-22 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.29	0.16	0.08	0.02	0.02	0.02
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	44.71	71.95	92.12	92.81	92.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-23 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

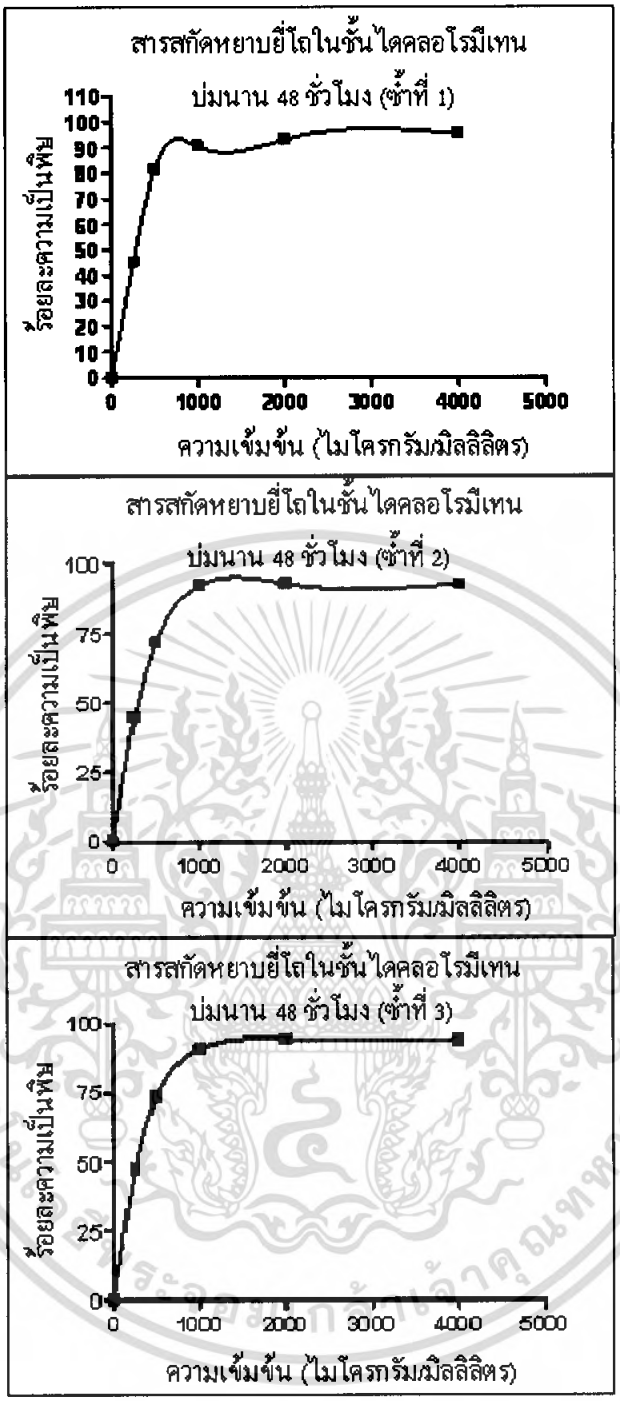
Blank	P	B	250	500	1000	2000	4000	B	B	C	B
0.048	0.192	0.049	0.234	0.132	0.077	0.066	0.067	0.049	0.05	0.085	0.051
0.047	0.476	0.048	0.2	0.165	0.081	0.064	0.064	0.047	0.049	0.082	0.048
0.048	0.5	0.045	0.223	0.131	0.083	0.069	0.07	0.046	0.048	0.085	0.047
0.045	0.402	0.045	0.244	0.116	0.067	0.061	0.064	0.049	0.047	0.076	0.049

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0478 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-24 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.34	0.18	0.09	0.03	0.02	0.02
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	47.81	74.06	91.41	94.94	94.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-4 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 278.173 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 287.462 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 264.73 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-25 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

B	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.047	0.149	0.047	0.542	0.411	0.347	0.238	0.123	0.05	0.049	0.465	0.048
0.047	0.149	0.047	0.485	0.401	0.359	0.245	0.125	0.046	0.047	0.561	0.047
0.05	0.158	0.048	0.517	0.405	0.364	0.259	0.132	0.052	0.044	0.561	0.05
0.05	0.147	0.049	0.419	0.383	0.357	0.249	0.115	0.05	0.049	0.484	0.048

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0483 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-26 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.48	0.44	0.35	0.31	0.20	0.08
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	7.81	26.72	35.73	58.44	84.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-27 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

Blank	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.047	0.124	0.048	0.376	0.253	0.278	0.226	0.101	0.049	0.05	0.408	0.047
0.046	0.113	0.047	0.323	0.297	0.267	0.181	0.112	0.048	0.047	0.377	0.048
0.047	0.139	0.049	0.356	0.288	0.303	0.186	0.102	0.05	0.049	0.372	0.046
0.049	0.135	0.048	0.386	0.303	0.259	0.19	0.105	0.048	0.048	0.359	0.047

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0483 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-28 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.33	0.31	0.24	0.23	0.15	0.06
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	5.35	28.08	30.65	55.20	82.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-29 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

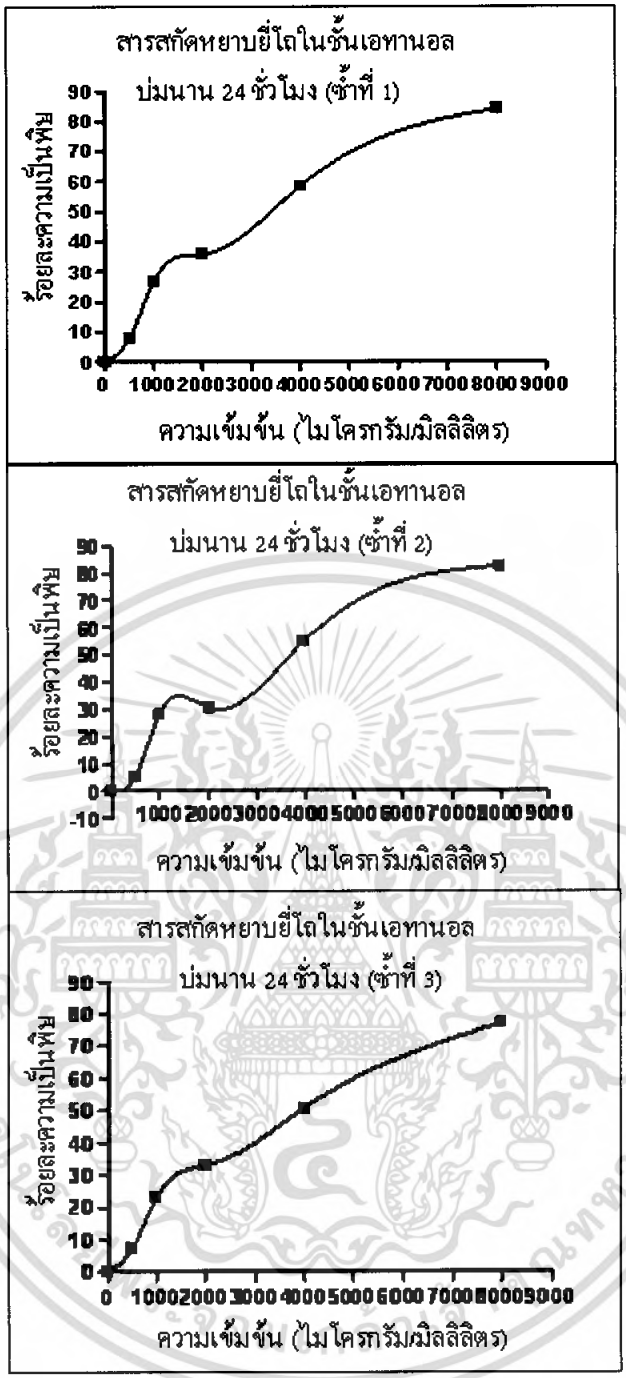
B	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.047	0.135	0.048	0.313	0.267	0.236	0.156	0.114	0.049	0.05	0.349	0.047
0.046	0.124	0.047	0.301	0.258	0.228	0.16	0.104	0.048	0.047	0.324	0.048
0.047	0.131	0.049	0.31	0.272	0.266	0.198	0.107	0.05	0.049	0.319	0.046
0.049	0.13	0.048	0.306	0.256	0.213	0.23	0.122	0.048	0.048	0.31	0.047

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0479 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-30 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.28	0.26	0.22	0.19	0.14	0.06
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	7.29	23.09	32.91	50.68	77.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-5 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 3,414.74 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 3,718.90 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 3,934.27 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-31 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

Blank	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.046	0.132	0.047	0.429	0.393	0.324	0.124	0.06	0.048	0.048	0.557	0.046
0.046	0.134	0.047	0.453	0.401	0.323	0.134	0.068	0.047	0.047	0.415	0.047
0.049	0.137	0.047	0.462	0.407	0.347	0.158	0.064	0.048	0.048	0.535	0.049
0.047	0.139	0.048	0.458	0.305	0.334	0.167	0.061	0.049	0.047	0.404	0.049

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0475 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-32 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.43	0.40	0.33	0.28	0.10	0.02
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	6.24	23.45	33.80	77.11	96.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-33 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถ ในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

Blank	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.047	0.083	0.048	0.366	0.277	0.217	0.11	0.062	0.048	0.048	0.356	0.049
0.046	0.089	0.047	0.341	0.262	0.251	0.12	0.065	0.046	0.047	0.451	0.048
0.048	0.084	0.048	0.355	0.243	0.24	0.174	0.063	0.049	0.049	0.396	0.049
0.049	0.081	0.05	0.359	0.252	0.237	0.161	0.064	0.052	0.052	0.369	0.048

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0484 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-34 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.34	0.31	0.21	0.19	0.09	0.02
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	9.75	38.21	44.75	72.69	95.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-35 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

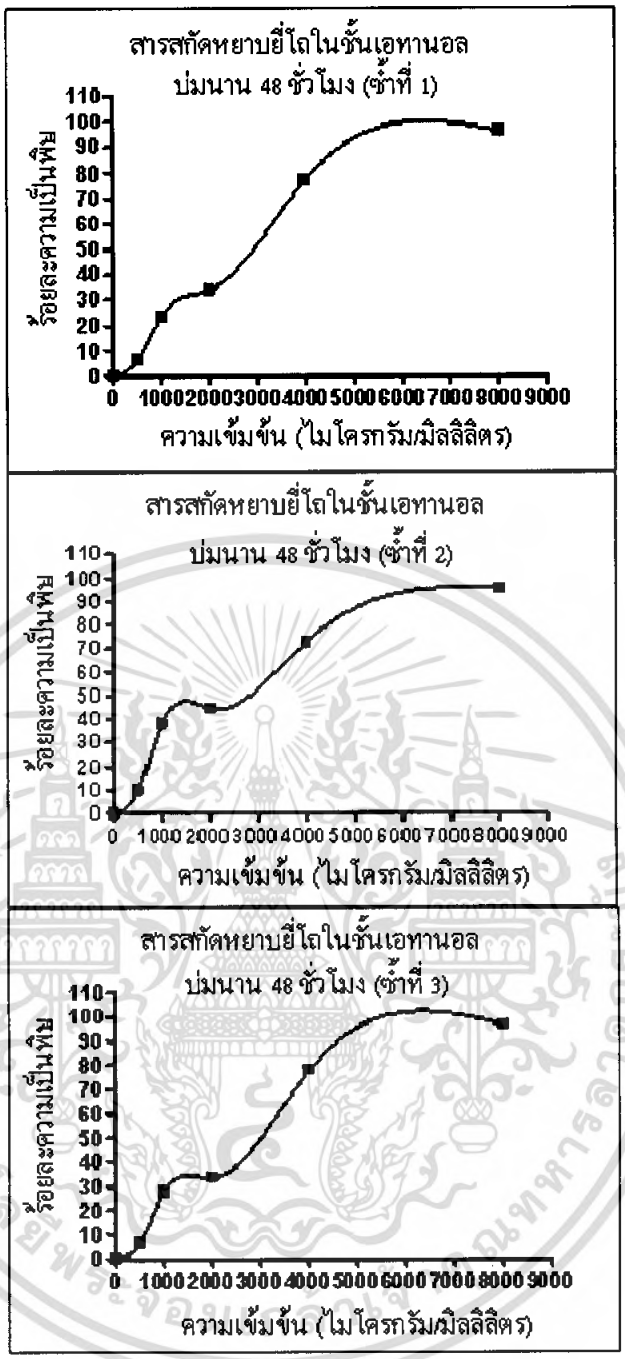
Blank	P	B	500	1000	2000	4000	8000	B	B	C	B
0.048	0.097	0.049	0.354	0.272	0.246	0.109	0.06	0.05	0.048	0.399	0.049
0.047	0.082	0.047	0.362	0.288	0.282	0.124	0.058	0.047	0.048	0.44	0.047
0.048	0.087	0.049	0.366	0.333	0.303	0.125	0.061	0.05	0.051	0.413	0.048
0.049	0.085	0.049	0.386	0.287	0.27	0.145	0.061	0.05	0.049	0.295	0.047

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.0485 (20 หลุม)

ตารางที่ ก-36 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 หลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	0	500	1,000	2,000	4,000	8,000
ค่าเฉลี่ย (OD)	0.34	0.32	0.25	0.23	0.08	0.01
ร้อยละความเป็นพิษ	0.00	6.32	27.50	33.31	77.28	96.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

จากการคำนวณความเป็นพิษของสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (CC_{50})ในรูปที่ ก-6 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 4.0 ได้ผลดังนี้

ซ้ำที่ 1 CC_{50} = 2,926.07 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 2 CC_{50} = 2,829.78 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ซ้ำที่ 3 CC_{50} = 3,023.65 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-37 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีความเป็นพิษร้อยละ 50 ต่อเซลล์ไลน์ Sf9

สารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)				
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SD.
เฮกเซน	1,880.22	1,779.16	1,913.85	1,857.74	70.10
ไดคลอโรมีเทน	305.76	339.15	568.67	404.53	143.13
เอทานอล	3,414.74	3,718.90	3,934.27	3,689.30	261.03
	บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SD.
เฮกเซน	1,531.34	1,588.71	1,517.72	1,545.92	37.67
ไดคลอโรมีเทน	278.17	287.46	264.73	276.79	11.43
เอทานอล	2,926.07	2,829.78	3,023.65	2,926.50	96.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ข-1 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3		
เฮกเซน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		125	3.33	4.05	1.16	8.54	2.85[a]
		250	13.48	7.13	5.61	26.22	8.74[b]
		500	18.03	17.34	15.22	50.59	16.86[c]
		1,000	25.30	26.91	22.41	74.62	24.87[d]
		2,000	53.63	58.70	53.42	165.75	55.25[e]
		100 % DMSO	88.86	91.55	88.35	268.76	89.59[f]
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		125	2.40	2.42	1.46	6.28	2.09[ab]
		250	3.11	7.03	3.73	13.86	4.62[b]
		500	10.37	13.04	11.77	35.19	11.73[c]
		1,000	25.37	23.82	27.48	76.67	25.56[d]
		2,000	77.95	73.90	75.68	227.53	75.84[e]
		100 % DMSO	90.37	92.57	89.20	272.14	90.71[f]

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน มีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน เมื่อระยะเวลาบ่มต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อระยะเวลาบ่มต่างกัน

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนมีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อบ่มเซลล์ในสาร สกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนและระยะเวลาบ่มเซลล์ มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44793.962[a]	13	3445.689	863.320	.000
Intercept	35796.281	1	35796.281	8968.780	.000
time	32.931	1	32.931	8.251	.008
concentration	44089.379	6	7348.230	1841.104	.000
time * concentration	671.651	6	111.942	28.047	.000
Error	111.754	28	3.991		
Total	80701.997	42			
Corrected Total	44905.716	41			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .996)

สรุปผลการทดลองจากตารางที่ ข-2

เมื่อพิจารณาค่า F จากตารางที่ ข-2 สรุปได้ดังนี้

1. เมื่อพิจารณาระยะเวลาบ่ม ค่า F = 8.251 และมีค่า Sig. = 0.008 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

2. เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้น ค่า F = 1,841.104 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

3. เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นกับระยะเวลาบ่มเซลล์ ค่า F = 28.047 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดยี่โถในตัวทำละลาย เฮกเซน มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ					
		1	2	3	4	5	6
0	3	0.0000					
125	3	2.8467					
250	3		8.7400				
500	3			16.8633			
1,000	3				24.8733		
2,000	3					55.2500	
100% DMSO	3						89.5867
Sig.	3	0.161	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) = 5.561.

a. Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ					
		1	2	3	4	5	6
0	3	0.0000					
125	3	2.0933	2.0933				
250	3		4.6233				
500	3			11.7267			
1,000	3				25.5567		
2,000	3					75.8433	
100% DMSO	3						90.7133
Sig.	3	0.161	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) = 2.421.

a. Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-5 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
125	2.85[a]	2.09[ab]
250	8.74[b]	4.62[b]
500	16.86[c]	11.73[c]
1,000	24.87[d]	25.56[d]
2,000	55.25[e]	75.84[e]
100 % DMSO	89.59[f]	90.71[f]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-6 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นสารสกัด(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3		
ไดคลอโรมีเทน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		125	43.98	42.20	14.71	100.88	33.63[b]
		250	61.54	57.50	43.16	162.19	54.06[c]
		500	75.73	80.15	72.03	227.91	75.97[d]
		1,000	79.98	80.53	70.57	231.07	77.02[d]
		2,000	87.23	86.06	80.91	254.20	84.73[d]
		100 % DMSO	87.23	77.58	70.48	235.28	78.43[d]
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		125	45.13	44.71	47.81	137.64	45.88[b]
		250	81.65	71.95	74.06	227.65	75.88[c]
		500	90.40	92.12	91.41	273.93	91.31[dc]
		1,000	93.11	92.81	94.94	280.87	93.62[e]
		2,000	95.29	92.64	94.57	282.50	94.17[e]
		100 % DMSO	87.57	89.28	89.94	266.79	88.93[d]

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน มีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เมื่อระยะเวลาบ่มต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อระยะเวลาบ่มต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อบ่มเซลล์ในสาร สกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและระยะเวลาบ่มเซลล์ มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

ตารางที่ ข- 7 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41364.826[a]	13	3181.910	84.578	.000
Intercept	171127.606	1	171127.606	4548.705	.000
time	1582.802	1	1582.802	42.072	.000
concentration	39360.393	6	6560.065	174.372	.000
time * concentration	421.631	6	70.272	1.868	.122
Error	1053.393	28	37.621		
Total	213545.825	42			
Corrected Total	42418.219	41			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองจากตารางที่ ข-7

เมื่อพิจารณาค่า F จากตารางที่ ข-7 สรุปได้ดังนี้

1. เมื่อพิจารณาระยะเวลาบ่ม ค่า F = 42.072 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

2. เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้น ค่า F = 174.132 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

3. เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นกับระยะเวลาบ่มเซลล์ ค่า F = 1.868 และมีค่า Sig. = 0.122 ซึ่งมีค่ามากกว่า α = 0.05 จึงยอมรับ H_0 แสดงว่าระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ไม่มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ตารางที่ ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ			
		1	2	3	4
0	3	0.0000			
250	3		33.6263		
500	3			54.0642	
1,000	3				75.9703
2,000	3				77.0248
4,000	3				84.7331
100% DMSO	3				78.4300
Sig.	3	1.000	1.000	1.000	0.257

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) =70.342.
a. Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-9 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ				
		1	2	3	4	5
0	3	0.0000				
250	3		45.8802			
500	3			75.8846		
1,000	3				91.3097	91.3097
2,000	3					93.6219
4,000	3					94.1665
100% DMSO	3				88.9300	
Sig.	3	1.000	1.000	1.000	0.209	0.155

Duncan [a,b]

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) =70.342.
[c.] Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
[d.] Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-10 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ ในตัวทำละลายเฮกเซน(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
250	33.63[b]	45.88[b]
500	54.06[c]	75.88[c]
1,000	75.97[d]	91.31[dc]
2,000	77.02[d]	93.62[e]
4,000	84.73[d]	94.17[e]
100 % DMSO	78.43[d]	88.93[d]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-11 ผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล แต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3		
เอทานอล	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		500	7.81	5.35	7.29	20.45	6.82[b]
		1,000	26.72	28.08	23.09	77.88	25.96[c]
		2,000	35.73	30.65	32.91	99.29	33.10[d]
		4,000	58.44	55.20	50.68	164.31	54.77[e]
		8,000	84.27	82.70	77.20	244.16	81.39[g]
		100 % DMSO	78.65	75.74	70.68	225.07	75.02[f]
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		500	6.24	9.75	6.32	22.31	7.44[a]
		1,000	23.45	38.21	27.50	89.15	29.72[b]
		2,000	33.80	44.75	33.31	111.86	37.29[b]
		4,000	77.11	72.69	77.28	227.08	75.69[c]
		8,000	96.30	95.56	96.62	288.47	96.16[c]
		100 % DMSO	79.49	89.46	88.46	257.41	85.80[d]

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล มีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล เมื่อระยะเวลา บ่มต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล อย่างน้อย 1 ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อระยะเวลาบ่มต่างกัน

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลมีผลต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อบ่มเซลล์ในสาร สกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลและระยะเวลาบ่มเซลล์ มีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์-ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล อย่างน้อย 1 ค่า เมื่อระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดต่างกัน

ตารางที่ ข-12 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	45690.967[a]	13	3514.690	244.456	.000
Intercept	79515.007	1	79515.007	5530.469	.000
time	649.033	1	649.033	45.142	.000
concentration	44484.916	6	7414.153	515.673	.000
time * concentration	557.019	6	92.837	6.457	.000
Error	402.573	28	14.378		
Total	125608.548	42			
Corrected Total	46093.541	41			

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองจากตารางที่ ข-12

เมื่อพิจารณาค่า F จากตารางที่ ข-12 สรุปได้ดังนี้

1. เมื่อพิจารณาระยะเวลาบ่ม ค่า F = 45.142 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

2. เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้น ค่า F = 515.673 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 0.05 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 อย่างน้อย 1 ค่า ต่างกัน

3. เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นกับระยะเวลาบ่มเซลล์ ค่า F = 28.047 และมีค่า Sig. = 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α = 6.457 จึงปฏิเสธ H_0 แสดงว่าระยะเวลาบ่มเซลล์และระดับความเข้มข้นสารสกัดยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลมีผลกระทบต่อค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-13 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's *new multiple range test* และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ						
		1	2	3	4	5	6	7
0	3	0.0000						
500	3		6.8152					
1,000	3			25.9631				
2,000	3				33.0969			
4,000	3					54.7729		
8,000	3							81.3888
100% DMSO	3						75.0233	
Sig.	3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) = 8.582.

[c.] Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
[d.] Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-14 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้น เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง โดยวิธี Duncan's new multiple range test และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan [a,b]

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษ				
		1	2	3	4	5
0	3	0.0000				
500	3	7.4373				
1,000	3		29.7179			
2,000	3		37.2851			
4,000	3			75.6937		
8,000	3					96.1577
100% DMSO	3				85.8033	
Sig.	3	0.062	0.058	1.000	0.209	0.155

Mean for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square (Error) =20.173.
[c.] Use Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
[f.] Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-15 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบยี่โถในตัวทำละลายเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ ในตัวทำละลายเอทานอล(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
500	6.82[b]	7.44[a]
1,000	25.96[c]	29.72[b]
2,000	33.10[d]	37.29[b]
4,000	54.77[e]	75.69[c]
8,000	81.39[g]	96.16[e]
100 % DMSO	75.02[f]	85.80[d]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตในคอลัมน์เดียวกัน ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้