สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าฉาดกระบัง

ผลของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.) ต่อการเจริญของเซลล์ไลน์แมลงบางชนิด

นางสาวกานดา สุริยาสกล
นางสาวนฤมล วิชาญเจริญสุข

วพ.
ก432ผ
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 84004
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11983097
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of Crude Extracts from Golden Trumpet (*Allamanda cathartica* L.) on the Growth of some Insect Cell Lines

Miss Kanda Suriyasakol

Miss Narumon Vichancharoensuk

A Special Project Submitted Partial Fulfillment 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

โครงงานพิเศษเรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.) ต่อการเจริญของเซลล์ไลน์แมลงบางชนิด

นักศึกษา นางสาวกานดา สุริยาสกล รหัสนักศึกษา 47050667

นางสาวนฤมล วิชาญเจริญสุข รหัสนักศึกษา 47050680

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา พ.ศ. 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์	
กรรมการ ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์	
กรรมการ ผศ. ลินจง สุขลำภู	

.....

(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.) ต่อการเจริญของเซลล์ไลน์แมลงบางชนิด

นักศึกษา นางสาวกานดา สุริยาสกล รหัสนักศึกษา 47050667

นางสาวนฤมล วิชาญเจริญสุข รหัสนักศึกษา 47050680

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา พ.ศ. 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบและต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ *Helicoverpa armigera* Hübner (KMITL-HA-E1) และเซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Sf9) ใช้วิธี neutral red (NR) assay ในการประเมินผลค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ นำค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ได้ทุกความเข้มข้นมาเขียนกราฟจะทำให้ทราบค่า CC_{50} (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สังเกตความเป็นพิษเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ค่า CC_{50} ของสารสกัดหยาบจากใบและต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 321.81, 555.77 และ 1,211.34 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 273.59, 462.96 และ 976.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบจากใบและต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล นาน 24 ชั่วโมง ค่า CC_{50} เท่ากับ 302.19, 535.75 และ 1,223.69ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ค่า CC_{50} เท่ากับ 238.71, 461.38 และ 1,007.22ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองที่ได้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์แมลงทั้งสองชนิด มากกว่าสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ทั้งนี้พิจารณาจากค่า CC_{50} ผลการศึกษาที่ได้นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน เพื่อทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารฆ่าแมลงในสิ่งมีชีวิตต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Effect of crude extracts from golden trumpet (*Allamanda cathartica* L.) on the growth of some insect cell lines

Student Miss Kanda Suriyasakol Student ID 47050667

Miss Narumon Vichancharoensuk Student ID 47050680

Degree Bachelor of Science

Department Applied Biology

Programme Biotechnology

Academic Year 2007

Advisor Asst. Prof. Dr. Ounruan Petcharawan

Abstracts

Cytotoxicity of crude hexane, dichloromethane, and ethanolic extracts of leaves and stems of *Allamanda cathartica* L. was tested against *Helicoverpa armigera* Hübner cell line (KMITL-HA-E1) and *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) cell line (Sf9). The neutral red (NR) assay was used for evaluation of cytotoxicity. The cytotoxic activity, represented as CC_{50} (µg/ml) values, was evaluated from a plot of percent cytotoxicity against the sample concentrations. The cytotoxicity assay was observed after 24 h and 48 h of exposure.

The values of CC_{50} of crude hexane, dichloromethane, and ethanolic extracts of leaves and stems of *A. cathartica* against KMITL-HA-E1 after 24 h of exposure were 321.81, 555.77 and 1,211.34 µg/ml, respectively and after 48 h of exposure were 273.59, 462.96 and 976.21 µg/ml, respectively. The cytotoxic activity of *A. cathartica* extracts against Sf9 was studied. The 24-h and 48-h CC_{50} of crude hexane, dichloromethane and ethanolic extracts of leaves and stems of *A. cathartica* were 302.19, 535.75 and 1,223.69 µg/ml, respectively and were 238.71, 461.38 and 1,007.22 µg/ml, respectively.

The results showed that hexane extract exhibited more cytotoxic than dichloromethane and ethanolic extracts on both insect cell lines according to CC_{50}. The results from this study can be applied for the development of hexane extract to test the insecticidal activity *in vivo*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสามารถลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร อุ่นเรือน เพชราวัลย์ เป็นอย่างสูงที่คอยให้ความรู้และความช่วยเหลือโครงงานพิเศษจนเสร็จสมบูรณ์ รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และ ผศ. ลินจง สุขลำภู ที่ได้ความกรุณาและช่วยอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร และคุณอนิทัศน์ ทองจันทร์ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับใช้ในการทดลองโครงงานพิเศษครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ตลอดจนเพื่อนๆทุกคน ที่มีส่วนในการช่วยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จไปได้ด้วยดี

นางสาว กานดา สุริยาสกล

นางสาว นฤมล วิชาญเจริญสุข

มีนาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	ซ
สารบัญตาราง	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 บานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.)	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	3
2.1.2 สรรพคุณและส่วนที่นำมาใช้เป็นยา	4
2.2 หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน	4
2.2.1 วงจรชีวิตของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน	4
2.2.2 การแพร่กระจายและฤดูกาลระบาด	4
2.2.3 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย	6
2.2.4 พืชภัณฑ์และอาหาร	6
2.3 เซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera* cell line, KMITL-HA-E1)	6
2.4 หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda*	7
2.4.1 รูปร่างลักษณะ	7
2.4.2 การแพร่กระจายและฤดูกาลระบาด	8
2.4.3 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย	10
2.4.4 พืชภัณฑ์และอาหาร	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 เซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (*Spodoptera frugiperda* cell line, Sf9)	10
2.6 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารสกัดบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 โดยใช้วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด	11
2.6.1 หลักการของวิธีย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	13
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย	13
3.1.1 เซลล์แมลง	13
3.1.2 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	13
3.1.3 อุปกรณ์	13
3.1.4 สารเคมี	14
3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบและต้นบานบุรีเหลือง	15
3.3 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9	16
3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 ในขวดทดลอง	16
3.5 การศึกษากราฟการเจริญ (growth curve) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	17
3.6 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1และ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด	18
3.6.1 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด 0.4 เปอร์เซนต์	18
3.6.2 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด สำหรับย้อมเซลล์ โดยความเข้มข้นสุดท้ายในอาหารเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	18
3.6.3 เตรียมสารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด (formol-calcium)	18
3.6.4 เตรียมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์ Ethanol/Acetic Acid Solution (NR Desorb)	18
3.6.5 เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรด เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง	18
3.7 การตรวจหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	20
3.8.1 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD)	20
3.8.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
4.1 การศึกษากราฟการเจริญ (growth curve) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	21
4.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 โดยเทคนิคนิวทรัลเรด	23
4.2.1 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นเฮกเซน	23
4.2.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นไดคลอโรมีเทน	24
4.2.3 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นเอทานอล	25
4.2.4 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50	26
4.2.5 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นเฮกเซน	26
4.2.6 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นไดคลอโรมีเทน	27
4.2.7 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นเอทานอล	28
4.2.8 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50	30
4.3 การทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	30
4.3.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	32
4.3.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1	34
4.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9	37
4.4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9	37
4.4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9	39
4.4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	45
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	49
ภาคผนวก ก	49
ภาคผนวก ข	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่

2.1 ต้นบานบุรีเหลือง 3

2.2 วัฏจักรของหนอนเจาะสมอฝ้าย 5

2.3 แสดงลักษณะการทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย 6

2.4 เซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera* cell line) passage ที่ 167 7

2.5 ระยะต่างๆของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 8

2.6 ระยะหนอนบริเวณหัวมีลักษณะเป็นรูปตัว Y กลับหัวสีขาว ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 9

2.7 ผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศผู้ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 9

2.8 ผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศเมียของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 9

2.9 แสดงลักษณะการทำลายของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 10

2.10 เซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (*Spodoptera frugiperda* cell line, Sf9) passage ที่ 8 11

2.11 โครงสร้างโมเลกุลของนิวทรัลเรด 11

4.1 กราฟการเจริญของเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 passage ที่ 167 ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน 22

4.2 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน 31

4.3 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน 33

4.4 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล 35

4.5 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน 38

4.6 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่

4.7 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล 42

ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และ ซ้ำที่ 2 52

ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และ ซ้ำที่ 2 53

ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และซ้ำที่ 2 55

ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และ ซ้ำที่ 2 56

ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และ ซ้ำที่ 2 58

ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 และ ซ้ำที่ 2 59

ก-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 61

ก-8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่

ก-9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 63

ก-10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 64

ก-11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 65

ก-12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 66

ก-13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 67

ก-14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 68

ก-15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 69

ก-16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 71

ก-17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่

ก-18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 73

ก-19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 74

ก-20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 75

ก-21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 ซ้ำที่ 2 และ ซ้ำที่ 3 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

4.1 แสดงข้อมูลการนับจำนวนเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เป็นเวลา 10 วัน 21

4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 23

4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 24

4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 25

4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 26

4.6 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 27

4.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 28

4.8 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 29

4.9 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 30

4.10 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 32

4.11 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มในเซลล์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 34

4.12 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 36

4.13 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

4.14 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง ในชั้นเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 38

4.15 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง ในชั้นไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 41

4.16 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง ในชั้นเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 43

4.17 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองใน ตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อ เซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 43

ก-1 ผลผลิตสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง 49

ก-2 ผลการนับจำนวนเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เพื่อศึกษากราฟการเจริญของเซลล์ 49

ก-3 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น เฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 52

ก-4 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น เฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 53

ก-5 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น ไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 54

ก-6 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น ไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 56

ก-7 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น เอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 57

ก-8 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น เอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 59

ก-9 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบ บานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ก-10 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 60

ก-11 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 61

ก-12 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 62

ก-13 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 63

ก-14 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 64

ก-15 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 65

ก-16 ผลการทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 66

ก-17 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 67

ก-18 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 68

ก-19 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 69

ก-20 ผลการทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 70

ก-21 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 70

ก-22 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ก-23 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 72

ก-24 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 73

ก-25 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง 74

ก-26 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง 75

ก-27 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 76

ข-1 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 77

ข-2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 78

ข-3 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้นโดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 79

ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 80

ข-5 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 81

ข-6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 82

ข-7 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้นโดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 84

ข-9 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 85

ข-10 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 86

ข-11 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้นโดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 87

ข-12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 88

ข-13 ผลการทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 88

ข-14 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 89

ข-15 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างชนิดของสารและเวลาบ่มโดยวิธีของดันแคนโปรแกรม SPSS 14.0 for window 90

ข-16 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 90

ข-17 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 91

ข-18 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข-19 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 93

ข-20 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 94

ข-21 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 95

ข-22 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 96

ข-23 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 97

ข-24 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 98

ข-25 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 99

ข-26 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 100

ข-27 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 101

ข-28 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 102

ข-29 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทะละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข-30 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 103

ข-31 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างชนิดของสารและเวลาบ่มโดยวิธีของดันแคนโปรแกรม SPSS14.0 for window 104

ข-32 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

บานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นไม้เถา สารพิษที่พบ คือ resins ทำให้จุกเสียดแน่น อาเจียน ปวดศรีษะ ท้องเสียอย่างรุนแรง และถึงตายได้ (สมสุข. 2542) นอกจากนี้ Nayak *et al.* (2006) รายงานถึงคุณสมบัติทางยาของบานบุรีเหลือง คือใช้รักษาโรคมาเลเรีย และโรคดีซ่านได้ ต่อมาได้ทำการสกัดใบของบานบุรีเหลืองด้วยน้ำกลั่น และนำมาทดสอบประสิทธิภาพทางพฤกษเคมี (phytochemical) โดยนำส่วนน้ำมาสกัดทดสอบประสิทธิภาพในการรักษาแผล (wound-healing activity) ในหนู Schmidt และคณะ (2006) กล่าวถึงคุณสมบัติทางยาของพืชในสกุล *Allamanda* spp. คือ สามารถต้านมะเร็ง (anticancer) และต้านเนื้องอก (antitumer) และบานบุรีเหลืองเคยใช้เป็นยาที่ควบคุมเนื้องอกที่ตับ (liver tumer)

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera*) เป็นแมลงศัตรูที่พบระบาดรุนแรงทั่วทุกแห่งเนื่องจากมีพืชอาหารมากมายที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งพืชไร่ พืชผักชนิดต่างๆ ไม้ผล ไม้ดอก และไม้ประดับ

หนอน *Spodoptera frugiperda* เป็นแมลงศัตรูสำคัญอีกชนิดหนึ่งที่ทำลายพืชอาหารมากมายทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกและพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด, ข้าวฟ่าง, พืชตระกูลถั่ว, หัวผักกาด, มะเขือเทศ, กระหล่ำปลี, ตะน้า, แตงกวา เป็นต้น และในโครงงานพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (KMITL-HA-E1) และเซลล์ไลน์หนอน *Spodoptera frugiperda* (Sf9) โดยผลการทดลองที่ได้นี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบและต้นของบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 และเซลล์ไลน์ Sf9

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบและต้นของบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิด ดังนี้ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเอทานอล (ethanol) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ทำการสกัดส่วนของใบและต้นของต้นบานบุรีเหลือง ด้วยตัวทำละลาย ตามลำดับดังนี้ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ

1.3.2 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบและต้นของบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 และเซลล์ไลน์ Sf9

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำความรู้ที่ได้จากการทดลองไปเป็นพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงในแปลงเพาะปลูกได้

1.4.2 ทำให้ทราบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 และเซลล์ Sf9 เพื่อนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาต่อไป

1.4.3 เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญชนิดอื่นๆ

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัย มีขั้นตอนดังนี้

1.5.1 เตรียมสารสกัดหยาบจากใบและต้นของต้นบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล

1.5.2 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 และเซลล์ไลน์ Sf9 ในที่นี้ใช้อาหาร TNM-FH เสริมด้วยซีรัม 10 % pH 6.24

1.5.3 เพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และเซลล์ไลน์ Sf9 ในขวดทดลองขนาด 25 ซม.^{2}

1.5.4 ศึกษากราฟการเจริญ (growth curve) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

1.5.5 ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อการเจริญและแบ่งเซลล์ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และเซลล์ไลน์ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด

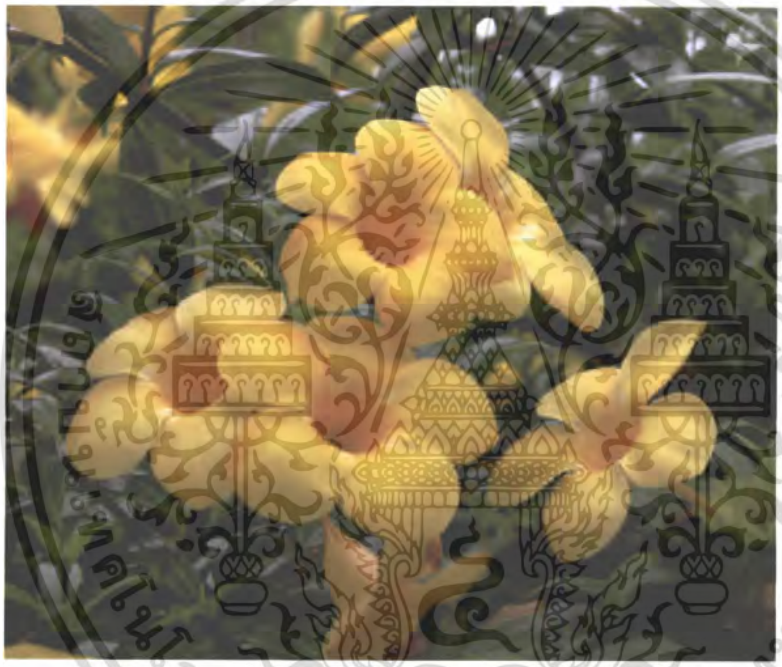
1.5.6 ทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองที่เป็นพิษต่อเซลล์ 50% โดยใช้วิธีการย้อมสีนิวทรัลเรด Neutral red (NR) assay (Shirazi *et al.*, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 บานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.)

ต้นบานบุรีเหลืองเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณมากมายสามารถนำมาใช้เป็นยาระบาย และมีสรรพคุณในการรักษาโรคมาลาเรีย,โรคดีซ่าน, ต้านเนื้องอก และต้านมะเร็ง เป็นต้น ชื่อสามัญของบานบุรีเหลือง ได้แก่ Allamanda และ Golden trumpet จัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae



รูปที่ 2.1 ต้นบานบุรีเหลือง
ที่มา : www.flowerpictures.net

2.1.1 ลักษณะทางพฤกศาสตร์

เป็นไม้พุ่มกึ่งเลื้อยขนาดกลาง ทุกส่วนภายในต้นมีน้ำยางสีขาว ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกรอบข้อ 3-4 ใบ หรือออกเป็นคู่ รูปไข่แกนขอบขนาน ขนาด 2-4 × 8-10 เซนติเมตร ปลายใบแหลมโคนใบมน แผ่นใบสีเขียวสดเป็นมัน เส้นกลางใบด้านใต้ใบมีขนนุ่ม มีการออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ มีทั้งดอกชั้นเดียวและดอกซ้อน ดอกรูปแตร กลีบดอกสีเหลือง ชนิดดอกชั้นเดียว โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยก 5 กลีบ รูปกลมซ้อนเกยกัน เส้นผ่านศูนย์กลางดอก 6-8 เซนติเมตร และชนิดดอกซ้อนมีกลีบดอกซ้อนกันหนาแน่นกลางดอก เส้นผ่านศูนย์กลางดอก 4-6 เซนติเมตร ทั้งสองชนิดออกดอกตลอดทั้งปี ผลมีลักษณะกลม มีหนาม เมื่อผลแก่จะแตกออกมีเมล็ดจำนวนมาก

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 สรรพคุณและส่วนที่นำมาใช้เป็นยา

ใบและยางจากต้นถ้ารับประทานปริมาณน้อยเป็นยาระบาย แต่ถ้ารับประทานมากเกินขนาดจะทำให้จุกเสียดแน่น ปวดศรีษะ ท้องเสียอย่างรุนแรง และถึงตายได้ ส่วนคุณสมบัติทางยาของบานบุรีเหลือง คือใช้รักษาโรคมาลาเรีย โรคดีซ่าน ต้านเนื้องอก และต้านมะเร็งได้

2.2 หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Helicoverpa armigera* (Hübner)

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันจัดอยู่ในวงศ์ (Family) Noctuidae และอันดับ (Order) Lepidoptora

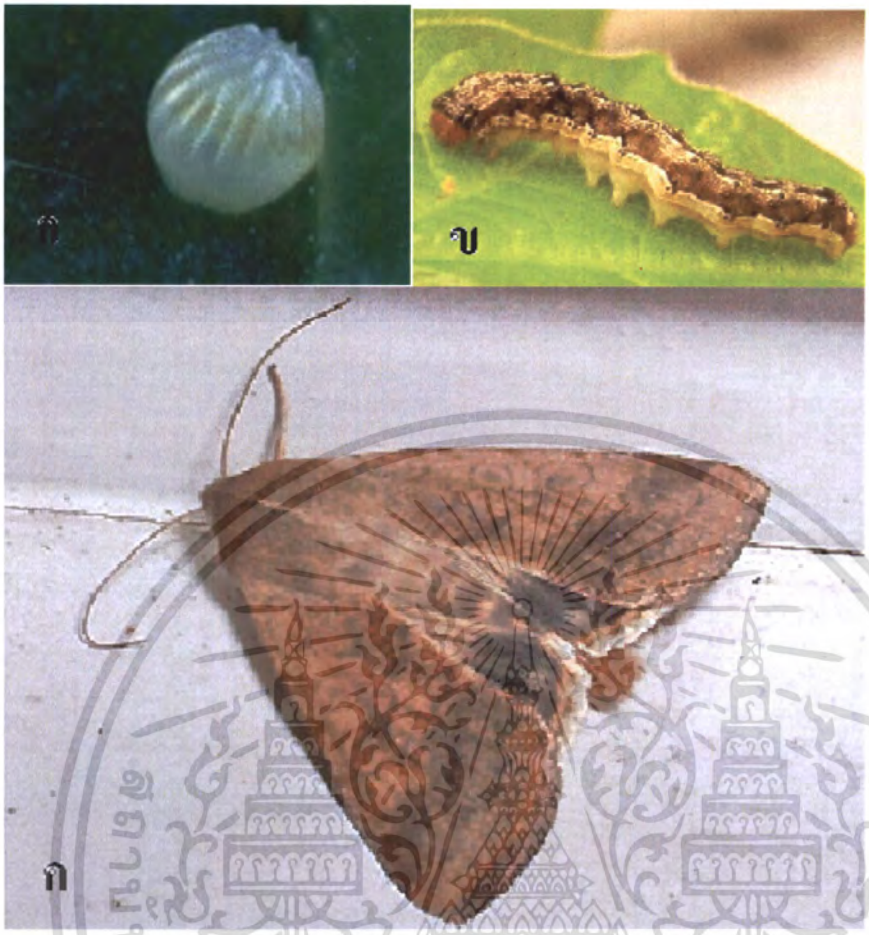
2.2.1 วงจรชีวิตของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ตามส่วนอ่อนของพืช ไข่มีลักษณะกลมคล้ายฝาชี ไข่ที่วางใหม่ๆ มีสีขาวนวลเป็นมัน ระยะไข่ 2-3 วัน จึงฟักออกเป็นตัวหนอน หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ลำตัวมีขนขึ้นประปราย ลายที่พาดยาวตามลำตัวเห็นได้ชัดเจนมีสีต่างๆจากสีเขียวอ่อนไปจนถึงสีค่อนข้างดำ ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม อายุและการลอกคราบ ระยะหนอนมีทั้งหมด 5 ระยะ โดยระยะแรกลำตัวสีขาวนวล เมื่อเข้าสู่ระยะที่สองลายของลำตัวสีเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีตุ่มขนสีน้ำตาลเข้มเส้นขนดำ หนอนระยะที่สามลำตัวมีสีน้ำตาลปนเขียว เมื่อเข้าสู่ระยะที่สี่ลำตัวเปลี่ยนเป็นสีดำปนเขียว และหนอนระยะที่ห้าลำตัวเปลี่ยนเป็นสีส้มแก่ ระยะของหนอนใช้เวลาประมาณ 16-22 วันและระยะดักแด้ใช้เวลาประมาณ 10-12 วันจึงกลายเป็นตัวเต็มวัยคือผีเสื้อกลางคืน

2.2.2 การแพร่กระจายและฤดูกาลระบาด

หนอนเจาะสมอฝ้ายพบในแอฟริกาและเอเชีย ส่วนในประเทศไทยหนอนชนิดนี้มีอยู่ทั่วไป เนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายมีพืชอาหารมากมายที่เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจเกือบทุกชนิด ทำให้มีอาหารตลอดปี สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องและกว้างขวาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของหนอนเจาะสมอฝ้าย

ก. ระยะไข่ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ที่มา : www2.dpi.qld.gov.auimages

ข. ระยะหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ที่มา : www.schmetterling-raupe.de/art/armigera.htm

ค. ตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ที่มา : www2.dpi.qld.gov.auimages

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนเจาะสมอฝ้ายเป็นแมลงศัตรูสำคัญอีกชนิดหนึ่งในการปลูกผักและเป็นศัตรูที่สำคัญของผักหลายชนิด หนอนชนิดนี้เป็นที่รู้จักกันดีในหมู่เกษตรกร หนอนชนิดนี้สามารถทำลายพืชผักโดยการกัดกินส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ จะเจาะกัดกินภายในลำต้น ฝักและหน่อไม้

รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะการทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย

ที่มา : www.insectscience.org/6.26/ref

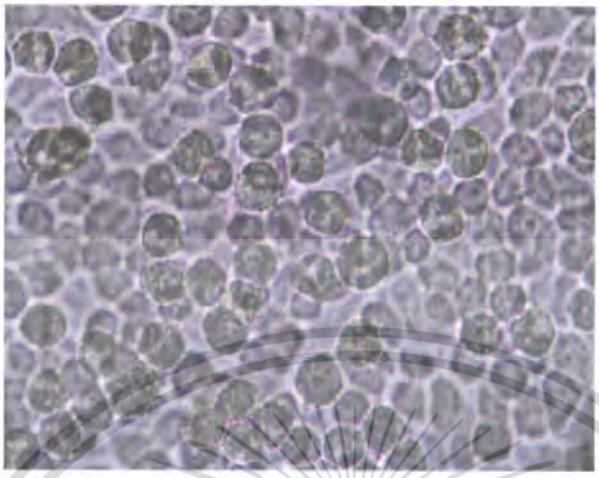
2.2.4 พืชภัณฑ์และอาหาร

หนอนเจาะสมอฝ้าย มีพืชอาหารมากมายทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกและพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วเขียว ยาสูบ ฝ้าย กุหลาบ พริก ถั่วเหลือง ส้มเขียวหวาน เป็นต้น

2.3 เซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera* cell line, KMITL-HA-E1)

เซลล์ไลน์ชนิดนี้สร้างจากเนื้อเยื่อตัวอ่อนของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน โดยเริ่มแรกเพาะเลี้ยงในอาหาร TNM-FH เสริมด้วยซีรัม 20 % ลักษณะรูปร่างของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 มี 2 แบบคือ epithelial-like cell และ fibroblast-like cell โดยมีการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าใน passage ที่ 79 ใช้เวลา 40.8 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่ามีความอ่อนแอต่อเชื้อไวรัสชนิด *Helicoverpa armigera* single nucleopolyhedrovirus (*Ha*SNPV), *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (*Ac*MNPV), *Galleria mellonella* multiple nucleopolyhedrovirus (*Gm*MNPV) และ *Euxoa scandens* cytoplasmic polyhedrosis (*Es*CPV) (Petcharawan *et al.*, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 เซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera* cell line) passage ที่ 167

2.4 หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda*

หนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* มีชื่อสามัญคือ fall armyworm จัดอยู่ในวงศ์ Noctuidae และอันดับ Lepidoptera

2.4.1 รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ติดกันไข่มีรูปร่างเป็นทรงกลมหลายเหลี่ยม ฐานแบนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 มิลลิเมตร ระยะไข่ 2-3 วันจึงกลายเป็นตัวหนอน ระยะหนอนแบ่งได้ 6 ระยะ โดยระยะแรกจะมีสีเทาบริเวณหัวมีสีดำ ระยะที่ 2 บริเวณหัวจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม ระยะที่ 3 บริเวณลำตัวด้านบนจะมีสีน้ำตาล และมีลายเป็นเส้นสีขาวที่บริเวณหลัง ระยะที่ 4-6 บริเวณหัวจะมีสีน้ำตาลแดง มีจุดสีขาว ลำตัวมีสีน้ำตาล หนอนที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีลักษณะเป็นรูปตัว Y หัวกลับสีขาวและมีผิวหนังขรุขระ ระยะดักแด้จะเกิดขึ้นในดินที่มีความลึกประมาณ 2-8 เซนติเมตร แต่ถ้าดินมีลักษณะแข็งหนอนจะพ่นใยลงบนใบไม้เพื่อให้รังไหมอยู่บนผิวหน้าของใบไม้ ดักแด้จะมีสีน้ำตาลแดง มีความยาว 14-18 มิลลิเมตร และความกว้าง 4.5 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 8-9 วัน ในช่วงฤดูร้อน และ 20-30 วัน ในช่วงฤดูหนาว จึงกลายเป็นผีเสื้อตัวเต็มวัย ซึ่งมีความกว้างของปีก 32-40 มิลลิเมตร ในผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศผู้ปีกด้านหน้าจะมีสีเทา สีน้ำตาล และมีจุดสามเหลี่ยมสีขาวที่บริเวณปลายของปีก ส่วนในผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศเมียปีกด้านหน้าจะมีสีน้ำตาลเทา ทั้งผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียจะมีปีกด้านหลังสีขาวเงิน โดยจะออกหากินในช่วงเวลากลางคืน ระยะตัวเต็มวัย 10 วัน (Capinera, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การแพร่กระจายและฤดูกาลระบาด

หนอนชนิดนี้จะพบในรัฐฟอริดาของสหรัฐอเมริกาและตามริมชายฝั่งทะเลทางตอนใต้ ส่วนในเมืองไทยมีอยู่ทั่วไป เนื่องจากเนื่องจากเป็นหนอนที่ทำลายข้าวโพด ทำให้มีอาหารตลอดปี สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องและกว้างขวาง

รูปที่ 2.5 ระยะต่างๆของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

ก. ระยะไข่ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

ข. ระยะหนอนของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

ค. ระยะดักแด้ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

ง. ผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศผู้ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

ที่มา : Capinera (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.6 ระยะหนอนบริเวณหัวมีลักษณะเป็นรูปตัว Y กลับหัวสีขาว
ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)
ที่มา : www.ento.okstate.edu/ddd/insects/fallarmyworm.htm

รูปที่ 2.7 ผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศผู้ของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)
ที่มา : Capinera (2005)

รูปที่ 2.8 ผีเสื้อตัวเต็มวัยเพศเมียของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)
ที่มา : Capinera (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

ระยะหนอนเป็นสาเหตุของการทำลายพืชผลโดยการกัดกินหรือใช้เป็นแหล่งที่อยู่อาศัย หนอนที่เจริญเติบโตเต็มที่จะเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด

รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะการทำลายของ Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)
ที่มา : www.omafra.gov.on.ca/english/crops/pub812/2aw.htm

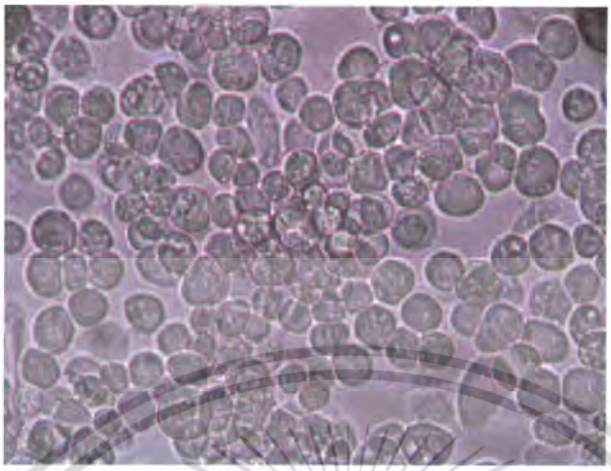
2.4.4 พืชภัณฑ์และอาหาร

หนอนชนิดนี้มีพืชอาหารมากมายทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกและพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง พืชตระกูลถั่ว หัวผักกาด มะเขือเทศ กระหล่ำปลี คะน้า แตงกวา เป็นต้น

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

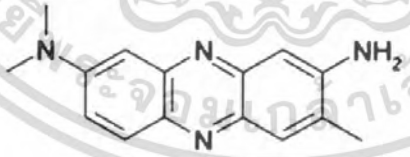
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 เซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (*Spodoptera frugiperda* cell line, Sf9) passage ที่ 8

2.6 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารสกัดบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 โดยใช้วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด

วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรดเป็นวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษของสารที่มีต่อเซลล์สัตว์ โดยนิวทรัลเรด (3-amino-7-dimethyl-2-methylphenazine hydrochloride) เป็นสีย้อมสีแดงที่ใช้สำหรับย้อมเนื้อเยื่อและยังสามารถใช้เป็นตัววัดความเป็นกรด-ด่างของสารต่างๆได้ โดยการเปลี่ยนสีของนิวทรัลเรดจากสีแดงเป็นสีเหลือง ซึ่งแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.8-8.0 และสูตรโครงสร้างของนิวทรัลเรด คือ $C_{15}H_{17}ClN_4$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 288.78 โดยนิวทรัลเรดสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่น 539-544 นาโนเมตร



รูปที่ 2.11 โครงสร้างโมเลกุลของนิวทรัลเรด
ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Neutral_red

วิธีการวิเคราะห์ด้วยนิวทรัลเรดเป็นการตรวจสอบความไวต่อสารเคมีหรือสารพิษของเซลล์ที่มีชีวิต นิวทรัลเรดเป็นสีย้อมที่มีประจุบวกอย่างอ่อนสามารถแตกตัวได้ง่าย ด้วยคุณสมบัตินี้ทำให้นิวทรัลเรดสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งไม่มีประจุเข้าไปได้และเกิดการสะสมภายในไลโซโซม (lysosome) เนื่องจากไลโซโซมมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่น้อยกว่าในไซโตพลาสซึม ในไลโซโซมนิวทรัลเรดจะจับกับประจุลบที่ไลโซโซมแมทริกซ์ (lysosomal matrix) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ลิขสิทธิ์นี้เป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บนผิวหน้าของเซลล์นี้เกิดจากผลของการได้รับสารพิษแปลกปลอมที่ใช้ในการศึกษาและการรวมตัวของนิวทรัลเรดจึงเป็นผลที่ทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย เพราะเซลล์ที่ตายแล้วนิวทรัลเรดจะไม่สามารถเกิดการสะสมในไซโตพลาสมิคแวคิวโอล (Cytoplasmic vacuole) โดยสีย้อมที่เกิดขึ้นสามารถวัดได้ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2.6.1 หลักการของวิธีย้อมสีเซลล์ด้วยนิวทรัลเรด

ทำการปลูกเซลล์ลงใน 96-well-plate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่โดยการเทอาหารเก่าทิ้งและเติมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ผสมสารพิษที่ต้องการทดสอบระดับความเข้มข้นต่างๆใน 4-8 หลุมต่อหนึ่งความเข้มข้น จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเซลล์ เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้เทอาหารเก่าทิ้งและเติมอาหารเพาะเลี้ยงใหม่ที่ผสมนิวทรัลเรดลงไปจากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเทนิวทรัลเรดทิ้งแล้วล้างเซลล์ด้วยสารละลายฟอร์มอลแคลเซียม ซึ่งเป็นขั้นตอนการล้างและการตรึงเซลล์ เทฟอร์มอลแคลเซียมทิ้ง ทำการสกัดสีย้อมออกจากเซลล์ด้วยสารละลายที่มีส่วนผสมของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 1 เอทานอลร้อยละ 50 และกรดอะซิติกร้อยละ 1 จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-15 นาที ต่อมานำ 96-well plate วางลงในเครื่อง microtiter plate reader ตั้งโปรแกรมการเขย่าความเร็วรอบ 480 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาทีทำการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ความยาวคลื่นที่ 540 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

3.1.1 เซลล์แมลง

เซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (KMITL-HA-E1) และเซลล์ไลน์ *Spodoptera frugiperda* (Sf9)

3.1.2 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ต้นบานบุรีเหลือง ใช้ส่วนของใบและต้น วัดจากปลายยอดลงมาประมาณ 3-4 นิ้ว

3.1.3 อุปกรณ์

3.1.3.1 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (low temperature incubator)

3.1.3.2 ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (larmina air flow hood)

3.1.3.3 กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เตต (inverted light microscope)

3.1.3.4 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

3.1.3.5 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)

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 และ -70 องศาเซลเซียส

3.1.3.11 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.3.12 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (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 ตารางเซนติเมตร (tissue culture flask)

3.1.3.16 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร

3.1.3.17 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

3.1.3.18 ขวดสำหรับบรรจุสารขนาด 50 100 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.3.19 ปิเปตต์แก้วขนาด 1 5 10 และ 25 มิลลิลิตร

3.1.3.20 ไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (microtiter plate reader) และตัวกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(filter) 540 นาโนเมตร

3.1.3.21 เครื่องระเหยสารภายใต้สุญญากาศ (evaporator)

3.1.3.22 ตู้ดูดควัน (Hood)

3.1.3.23 ขวดโหลสำหรับแช่สารสกัด 3 ขวด

3.1.3.24 ขวด vial

3.1.3.25 ฟอยด์

3.1.3.26 ขวดที่ใช้สำหรับระเหยสาร ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.1.3.27 ชุดกรอง

3.1.3.28 กระดาษกรอง

3.1.3.29 พลาสเจอร์ปิเปตต์

3.1.3.30 ถาด

3.1.3.31 ผ้าขาวบาง

3.1.3.32 เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (เครื่อง blender)

3.1.3.33 ลูกยาง

3.1.4 สารเคมี

3.1.4.1 อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงชนิดเกรซ (Grace's medium)

3.1.4.2 แลคทาลบูมิน ไฮโดรไลเสท (lactalbumin hydrolysate)

3.1.4.3 ยีสต์โดเลท (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 95 และ 99.99

3.1.4.10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide, DMSO)

3.1.4.11 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปราศจากแคลเซียมไอออนและแมกนีเซียมไอออน

3.1.4.12 นิวทรัลเรด (neutral red)

3.1.4.13 กรดอะซิติก (acetic acid)

3.1.4.14 เฮกเซน

3.1.4.15 ไดคลอโรมีเทน

3.1.4.16 น้ำที่ปราศจากไอออน (DI)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบและต้นบานบุรีเหลือง

เตรียมขวดโหล 3 ขวดและผ้าขาวบางที่ซักและตากแห้งแล้วทำการปลอดเชื้อ จากนั้นนำใบและต้นของบานบุรีเหลืองล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันเมื่อครบกำหนดนำไปชั่งน้ำหนักครั้งที่ 1 และนำไปอบต่อประมาณ 1-2 วัน นำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้งเมื่อน้ำหนักเท่ากับครั้งแรกจึงนำไปปั่นด้วยเครื่องบด (blender) (ถ้าค่ายังไม่คงที่ให้นำไปอบอีกจนกว่าจะได้ค่าที่คงที่ เพื่อจะได้ทราบว่าค่าที่ได้นั้นในใบและต้นของบานบุรีเหลืองจะไม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ) เมื่อปั่นเสร็จจนหมดให้นำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งและบันทึกค่าไว้ จากนั้นจะสกัดสารโดยการชั่งใบและต้นที่ปั่นแล้วในอัตรา 1 ส่วน ต่อ ตัวทำละลาย 20 ส่วน นำใบและต้นไปชั่งในอัตรา 1 ส่วนมาห่อด้วยผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วมัดให้แน่นใส่ลงในขวดโหลขวดที่หนึ่งที่มีเฮกเซนปริมาตร 20 ส่วน แช่ในเฮกเซนเป็นเวลา 7 วันในที่มืดพร้อมทั้งห่อฟอยด์ปิดให้มิดชิด เพื่อป้องกันการทำปฏิกิริยาของแสงกับสารละลาย (ระหว่างที่แช่สารสกัดนั้นควรจะเขย่าบ้างเพื่อให้สารละลายซึมเข้าไปในบานบุรีเหลืองให้ได้มากที่สุด เพื่อจะได้สารที่ต้องการออกมากับสารละลาย) เมื่อครบ 7 วันนำขวดโหลขวดที่สองมาเติมไดคลอโรมีเทนปริมาตร 20 ส่วนจากนั้นนำห่อของบานบุรีเหลืองออกจากสารสกัดเฮกเซนบีบให้แห้งและนำไปแช่ในไดคลอโรมีเทนนาน 7 วัน ส่วนสารสกัดของเฮกเซนที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อเตรียมนำไปเข้าเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศพร้อมทั้งปิดฟอยด์ให้มิดชิด เมื่อไดคลอโรมีเทนแช่ครบ 7 วัน นำขวดโหลขวดที่สามมาเติมเอทานอลในปริมาตร 20 ส่วนในขวดโหล จากนั้นนำห่อของบานบุรีเหลืองออกจากสารสกัดไดคลอโรมีเทนบีบให้แห้งนำไปแช่ในเอทานอลแช่อีก 7 วันส่วนสารสกัดไดคลอโรมีเทนที่ได้ทำเช่นเดียวกันกับเฮกเซน และเมื่อครบ 7 วัน นำห่อของบานบุรีเหลืองเอาออกจากสารสกัดเอทานอลบีบให้แห้งส่วนสารสกัดเอทานอลที่ได้ทำเช่นเดียวกันกับเฮกเซน จากนั้นนำสารสกัดเฮกเซนที่ได้ไปเข้าเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ โดยต้องกรองก่อนเพื่ออาจจะมีเศษใบไม้ที่หลุดออกมาระหว่างการแช่เมื่อกรองเสร็จแล้วนำใส่ขวดระเหยสาร ขนาด 500 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปเข้าเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ ระหว่างที่รอเอาขวด vial ไปชั่งน้ำหนักแล้วบันทึกค่าเพื่อที่จะนำมาใส่สารสกัดหยาบ ที่ได้จากการเข้าเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ เมื่อได้สารสกัดหยาบ ทำการล้างสารสกัดหยาบ ด้วยการใช้พลาสเจอร์ปิเปตต์ดูดสารละลายเฮกเซนมาล้างส่วนที่ติดข้างขวดระเหยสารให้หมดและดูดสารที่ได้ใส่ในขวด vial ที่ชั่งน้ำหนักแล้วจากนั้นนำฟอยด์มาปิดให้มิดชิดโดยทำการเจาะรูที่บริเวณฝาแต่จะไม่ปิดฝาเพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกไปทั้งหมดเหลือเพียงสารสกัดหยาบเพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อไป นำขวดที่มีสารสกัดหยาบไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งจากนั้นนำไปเก็บในที่มืดและห่อฟอยด์ให้มิดชิดส่วนสารสกัดจากไดคลอโรมีเทนและเอทานอลทำเช่นเดียวกับเฮกเซนแต่ใช้ความดันในการระเหยสารที่แตกต่างกันออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9

เตรียมอาหาร TNM-FH โดยใช้อาหารชนิดเกรซ (Grace powder) ละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใช้แท่งแม่เหล็กกวนจนกระทั่ง Grace powder ละลายจนหมด เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 0.35 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมยีสต์โตเลท 3.33 กรัมต่อลิตร และแลคทาลบูมิน ไฮโดรไลเสท 3.33 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนจนมีปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร ทำการวัดและปรับค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้ 1 นอร์มอลกรดไฮโดรคลอลิค (HCl) หรือ 1 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.0 ต่อจากนั้นทำการกรองด้วยชุดกรองและใช้แผ่นกรองที่มีช่องผ่านขนาด 0.22 ไมโครเมตร ที่ปลอดเชื้อแล้ว ทำการเตรียมอาหารที่พร้อมเลี้ยงเซลล์โดยการเติมซีรัม (FBS, fetal bovine serum) ที่ผ่านการกรองแล้ว ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด และทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างครั้งสุดท้ายโดย ใช้ 1 นอร์มอลกรดไฮโดรคลอลิค (HCl) หรือ 1 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.2 นำอาหารที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วแบ่งเก็บใส่ขวด ทำการเขียนฉลากติดไว้ที่ขวดและเก็บไว้ในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 ในขวดทดลอง

นำเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน HA-E1 และ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงในขวดพลาสติกที่มีพื้นที่ผิว 25 ตารางเซนติเมตร โดยพิจารณาเซลล์ที่เจริญบนพื้นผิวของขวดให้ได้ประมาณร้อยละ 80–90 ของพื้นผิวทั้งหมดสามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต เซลล์ที่สมบูรณ์จะมีลักษณะกลมมองเห็นขอบเซลล์และนิวเคลียสชัดเจน นอกจากนี้ต้องไม่ปรากฏแกรนูล (granule) และต้องไม่พบการปนเปื้อน จากนั้นใช้ปิเปตต์ดูดอาหารเดิมออกจากขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมด จากนั้นเติมอาหารใหม่ลงไป 5 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตต์ดูด และปล่อยอาหารให้กระแทกบริเวณที่มีเซลล์เกาะอยู่ ทำเช่นนี้จนกระทั่งเซลล์หลุดออกจากพื้นผิวทั้งหมด ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต แต่ถ้าเซลล์เกาะติดแน่นกับพื้นผิวอาจจะต้องใช้ที่ขูดเซลล์ (rubber policeman) ทำการดูดเซลล์ที่แขวนลอยออกมาปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับปั่นแยกสาร (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมทริปแพนบลูร้อยละ 0.4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน ดูดเซลล์ที่ย้อมสีแล้วใส่ลงในแอ่ง (chamber) 1 แอ่งของฮีมาไซโตมิเตอร์ ตรวจสอบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายด้วยกล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะสีใสไม่ติดสีฟ้า ส่วนเซลล์ตายจะติดสีฟ้าของทริปแพนบลู ทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายจากช่องสี่เหลี่ยมใหญ่ (primary square) ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ และบันทึกจำนวนลงในตารางเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อมิลลิลิตรต่อไป เมื่อคำนวณจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อมิลลิลิตรได้แล้วจะทำการถ่ายเซลล์ลงในเพาะเลี้ยงขวดใหม่ โดยปลูกเซลล์ที่มีชีวิตจำนวน 2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรทั้งหมด 5 มิลลิลิตร ต่อ 1 ขวดเพาะเลี้ยง นำขวดเพาะเลี้ยงที่ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปลูกเซลล์แล้วเก็บไว้ในตู้บ่มอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เซลล์จะเจริญเต็มพื้นผิวของขวดเพาะเลี้ยง แต่ถ้าเซลล์เจริญไม่เต็มพื้นที่ผิว ต้องทำการเปลี่ยนอาหารใหม่และเก็บไว้ประมาณ 4 วัน จึงสามารถทำการถ่ายเซลล์ (subculture) ต่อไป

3.5 การศึกษากราฟการเจริญ (growth curve) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

นำเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน HA-E1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TNM-FH เสริมด้วย FBS ร้อยละ 10 ในขวดเพาะเลี้ยงที่มีพื้นที่ผิว 25 ตารางเซนติเมตร ซึ่งเพาะเลี้ยงนาน 4 วัน ทำการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต สังเกตการเจริญของเซลล์และการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ใช้ปิเปตต์ดูดอาหารเก่าออกจากขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมด จากนั้นเติมอาหารใหม่ลงไป 5 มิลลิลิตร และใช้ที่ขูดเซลล์ ขูดให้เซลล์หลุดออกจากพื้นที่ผิวทั้งหมด จากนั้นนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต ถ้ายังมีเซลล์เกาะอยู่จำนวนมาก จะต้องทำการขูดเซลล์ต่อไป ดูดเซลล์ที่แขวนลอยออกมาปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับปั่นแยกสารขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมทริปแพนบลู ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากันดูดเซลล์ที่ย้อมสีแล้วลงในแอ่ง (chamber) ของฮีมาไซโตมิเตอร์ ตรวจสอบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะสีใสไม่ติดสีฟ้า ส่วนเซลล์ตายจะติดสีฟ้าของทริปแพนบลู นับจำนวนเซลล์ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ต่อ 1 chamber โดยนับทั้ง 2 ด้าน บันทึกจำนวนลงในตารางเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อไป จากนั้นปลูกเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร จำนวน 30 จานเพาะเลี้ยง จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตั้งต้นเท่ากับ 2.0×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรทั้งหมด 2 มิลลิลิตรต่อ 1 จานเพาะเลี้ยง นำเซลล์ทั้งหมดเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการนับจำนวนเซลล์หลังจากปลูกเซลล์ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน โดยนับเซลล์จำนวน 3 จานเพาะเลี้ยงต่อ 1 วัน วิธีการนับจำนวนเซลล์เริ่มจากดูดอาหารเก่าออกจากจานเพาะเลี้ยง แล้วเติมอาหารใหม่ลงไป 2 มิลลิลิตร จากนั้นขูดเซลล์และนับจำนวนเซลล์ บันทึกจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายทั้งหมดในแต่ละจานเพาะเลี้ยง นำข้อมูลที่ได้มาแสดงในรูปของกราฟการเจริญของเซลล์โดยใช้โปรแกรม Mirosoft Excel ทำให้เราทราบช่วงเวลาการเจริญของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และสามารถคำนวณหาค่าของจำนวนเซลล์ที่เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (population doubling time, PDT) จากสูตรต่อไปนี้

$$PDT = (t-t_0) \log 2 / (\log N - \log N_0)$$

t_0 หมายถึง เวลาเริ่มต้นที่นับเซลล์หรือปลูกเซลล์ (ชั่วโมงหรือวัน)

t หมายถึง เวลาที่เก็บเกี่ยวเซลล์ ช่วงที่เซลล์มีการเจริญสูงสุด (ชั่วโมงหรือวัน)

N_0 หมายถึง จำนวนเซลล์ที่ปลูก (ต่อมิลลิลิตรหรือตารางเซนติเมตร) ณ เวลา t_0

N หมายถึง จำนวนเซลล์ที่เก็บเกี่ยว (ต่อมิลลิลิตรหรือตารางเซนติเมตร) ณ เวลา t

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

84004

3.6 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1และ Sf9 โดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด

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

3.6.1 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด 0.4 เปอร์เซนต์ ดังนี้

Neutral red (NR) Stock Solution

0.4 กรัม	NR Dye
100 มิลลิลิตร	H_2O

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

ควรกรองตะกอนหรือผลึกก่อนนำมาผสมกับอาหาร

3.6.2 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรด สำหรับย้อมเซลล์ โดยความเข้มข้นสุดท้ายในอาหารเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Neutral Red (NR) Medium

1 มิลลิลิตร	NR Stock Solution
79 มิลลิลิตร	TNM -FH Medium+ 5 เปอร์เซนต์ FBS

ถ้ามีผลึก ต้องปั่นแยกประมาณ 2,000 rpm นาน 10 นาที

3.6.3 เตรียมสารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด (formol-calcium)

0.5 เปอร์เซนต์	Formaldehyde
1.0 เปอร์เซนต์	Calcium chloride
98.5 เปอร์เซนต์	H_2O

3.6.4 เตรียมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์

Ethanol/Acetic Acid Solution (NR Desorb)

1 เปอร์เซนต์	Glacial acetic acid solution
50 เปอร์เซนต์	Ethanol
49 เปอร์เซนต์	H_2O

กรณีที่มี Absolute ethanol ใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร + Glacial acetic acid 1 มิลลิลิตร + น้ำ 49 มิลลิลิตร

ควรเตรียมทันทีก่อนใช้งาน อย่าเตรียมล่วงหน้านานกว่า 1 ชั่วโมง

3.6.5 เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรด เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง

3.6.5.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้มีช่วงความเข้มข้น ที่จะทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.2 ปลูกเซลล์ HA-E1 และ Sf9 จำนวน 2 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate ปริมาตร 100ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทั้งนี้ดูจากข้อมูลการศึกษากราฟการเจริญของเซลล์ก่อนการทดสอบ

3.6.5.3 ดูดอาหารออกจาก 96-well plate จากนั้นเติมสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม และแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 หลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

3.6.5.4 เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว ทำการเทสารสกัดในอาหารทิ้ง โดยการคว่ำ 96-well plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ จากนั้นดูดสารละลายนิวทรัลเรด ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมที่ทดสอบ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.6.5.5 เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว คว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.6.5.6 จากนั้นล้างและตรึงเซลล์ด้วยสารละลายฟอร์มอล-แคลเซียม ปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม จากนั้นคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.6.5.7 เติมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์ (Ethanol/Acetic Acid Solution หรือ NR Desorb) เพื่อสกัดสีออกจากเซลล์ เติมลงไป 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม ทำการเขย่าภายในเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ ความเร็วรอบเท่ากับ 480 rpm เป็นเวลา 10 นาที

3.6.5.8 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

3.6.5.9 คำนวณหาค่า % Cytotoxicity

% cytotoxicity = [(A-B)/A] x 100 , A= the optical density หลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง) , B = the optical density ของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดบานบุรีเหลืองแต่ละความเข้มข้น (Valdivieso-Garcia *et al.*,1993)

3.7 การตรวจหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองโดยเทคนิคการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)

3.7.1 เทคนิคการย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรด เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลือง

3.7.1.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้มีช่วงความเข้มข้น ที่จะทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ซึ่งเราทราบได้จากการทดสอบในข้อ 3.6

3.7.1.2 ปลูกเซลล์ HA-E1 และ Sf9 จำนวน 2 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทั้งนี้ดูจากข้อมูลการศึกษากราฟการเจริญของเซลล์ก่อนการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.1.3 ดูดอาหารออกจาก 96-well plate จากนั้นเติมสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม และแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 หลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

3.7.1.4 เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว ทำการเทสารสกัดในอาหารทิ้ง โดยการคว่ำ 96-well plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ จากนั้นดูดสารละลายนิวทรัลเรด ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมที่ทดสอบ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.7.1.5 เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว คว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.7.1.6 จากนั้นล้างและตรึงเซลล์ด้วยสารละลายฟอร์มอล-แคลเซียม ปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม จากนั้นคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ

3.7.1.7 เติมสารละลายสำหรับละลายสีที่อยู่ในเซลล์ (Ethanol/Acetic Acid Solution หรือ NR Desorb) เพื่อสกัดสีออกจากเซลล์ เติมลงไป 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม ทำการเขย่าภายในเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ ความเร็วรอบเท่ากับ 480 rpm เป็นเวลา 10 นาที

3.7.1.8 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

3.7.1.9 คำนวณหาค่า % Cytotoxicity

% cytotoxicity = [(A-B)/A] x 100 , A= the optical density หลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง), B = the optical density ของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดบานบุรีเหลืองแต่ละความเข้มข้น (Valdivieso-Garcia *et al.*,1993)

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (สุรพล, 2528)

3.8.1 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD)

แผนการทดลองแบบนี้เป็นแบบที่ง่ายที่สุด ซึ่งใช้ได้ดีเมื่อหน่วยทดลองที่ใช้ในการทดลองมีความสม่ำเสมอกันหรือเหมือนกัน สามารถใช้กับการทดลองที่มีสิ่งทดลองจำนวนมากๆได้ และแต่ละสิ่งทดลองไม่จำเป็นต้องใช้จำนวนหน่วยทดลองเท่ากัน หรือจำนวนซ้ำเท่ากัน ทั้งนี้การกำหนดสิ่งทดลองให้แก่หน่วยทดลองไม่มีข้อจำกัดหรือเงื่อนไขใดๆในการสุ่มทั้งสิ้น จึงเรียกว่าเป็นการสุ่มแบบสมบูรณ์ และความน่าจะเป็นในการที่หน่วยทดลองได้รับสิ่งทดลองใดๆ

3.8.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

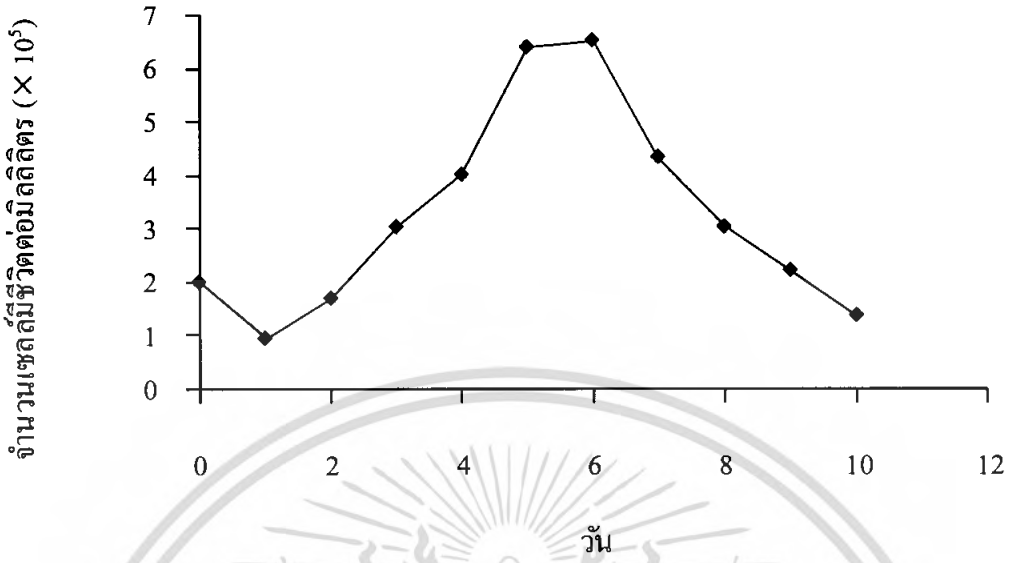
4.1 การศึกษากราฟการเจริญ (growth curve) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 Passage ที่ 167 ด้วยอาหาร TNM-FH เสริมด้วยซีรัมร้อยละ 10 โดยใช้จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 2.0×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร โดยใช้ปริมาตรเซลล์แขวนลอย 2 มิลลิลิตรต่อ 1 จานเพาะเลี้ยง และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ทุกวันวันละ 4 ซ้ำ โดยขูดเซลล์ออกจากพื้นผิวของจานเพาะเลี้ยง จากนั้นดูดเซลล์แขวนลอยปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรใส่หลอดสำหรับปั่นแยกสาร (Microtube) เติมสีย้อมทริปแพนบลูปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรหลังจากนั้นผสมให้เข้ากัน ดูดเซลล์แขวนลอยใส่ลงแอ่งฮีมาไซโตมิเตอร์ และทำการนับเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย ข้อมูลการนับเซลล์ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลการนับจำนวนเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เป็นเวลา 10 วัน

วันที่นับจำนวนเซลล์	จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร ($\times 10^5$)				ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร ($\times 10^5$)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	
0	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
1	0.600	0.880	1.200	1.125	0.951
2	1.280	1.630	2.000	1.880	1.698
3	3.025	2.250	3.575	3.325	3.044
4	3.450	4.250	4.150	4.250	4.025
5	4.320	4.925	8.000	8.375	6.405
6	6.250	6.150	7.000	6.725	6.531
7	4.475	4.450	4.425	4.075	4.356
8	2.825	3.275	2.825	3.275	3.050
9	2.175	2.275	2.275	2.200	2.231
10	1.600	1.625	1.200	1.100	1.381

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟการเจริญของเซลล์ไลน์หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน KMITL-HA-E1 passage ที่ 167 ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน

จากตารางที่ 4.1 สามารถคำนวณหาค่าเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (population doubling time, PDT) จากสูตรต่อไปนี้

$$PDT = (t-t_0) \log 2 / (\log N - \log N_0)$$

โดย t_0 = วันที่ปลูกเซลล์

t = วันที่มีจำนวนมีชีวิตสูงสุด (วันที่ 6)

N_0 = 2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ($\log N_0 = 5.301$)

N = 6.531×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ($\log N = 5.815$)

แทนค่า PDT = $(6-0) \times 0.301 / (5.815-5.301)$

= 3.514 วัน หรือ 84.336 ชั่วโมงต่อการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า

แสดงว่าเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 passage ที่ 167 มีจำนวนเซลล์มีชีวิตเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าจากจำนวนเซลล์เริ่มต้นหลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 3.514 วัน หรือประมาณ 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 โดยเทคนิคนิวทรัลเรด

4.2.1 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นเฮกเซน

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ ไลน์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 300-350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 46.39-54.87) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 250-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 41.84-61.28) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HA-E1 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100	8.15	8.92	17.07	8.54	11.10	9.57	20.67	10.34
150	16.35	15.71	32.06	16.03	17.85	18.94	36.79	18.40
200	24.44	27.64	52.08	26.04	25.01	24.32	49.33	24.67
250	34.86	32.92	67.78	33.89	40.00	43.67	83.67	41.84
300	47.39	45.38	92.77	46.39	60.87	61.68	122.55	61.28
350	54.51	55.23	109.74	54.87	71.82	72.81	144.63	72.32
400	62.15	61.90	124.05	62.03	80.36	79.38	159.74	79.87
450	68.53	69.02	137.55	68.78	85.17	85.80	170.97	85.49
100 % DMSO	90.29	91.86	182.15	91.07	92.84	91.85	184.69	92.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นไดคลอโรมีเทน

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.3 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ ไลน์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 500-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 47.25-56.27) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 300-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 43.77-51.18) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HA-E1 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100	7.79	7.91	15.70	7.85	28.74	29.23	57.97	28.99
200	13.74	14.67	28.41	14.21	32.50	40.98	73.48	36.74
300	21.90	24.34	46.24	23.12	39.75	47.79	87.54	43.77
400	32.31	31.35	63.66	31.83	49.45	52.90	102.35	51.18
500	51.38	43.12	94.50	47.25	58.13	64.73	122.86	61.43
600	59.79	52.74	112.53	56.27	66.43	71.18	137.61	68.81
700	68.92	67.27	136.19	68.10	76.14	79.59	155.73	77.87
800	78.41	78.37	156.78	78.39	87.15	88.85	176.00	88.00
900	83.90	84.61	168.51	84.26	93.86	95.05	188.91	94.46
100 % DMSO	91.44	91.76	183.20	91.60	94.35	93.60	187.95	93.98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในชั้นเอทานอล

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ ไลน์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 800, 900, 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 1,300-1,400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 45.79-55.61) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 1,200-1,300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 31.94-62.10) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HA-E1 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
800	9.76	14.24	24.00	12.00	15.83	12.01	27.84	13.92
900	21.06	20.59	41.65	20.83	25.80	22.65	48.45	24.23
1,000	29.45	27.49	56.94	28.47	25.63	21.99	47.62	23.81
1,100	29.40	27.91	57.31	28.66	33.61	30.29	63.90	31.95
1,200	36.98	35.23	72.21	36.11	33.56	30.32	63.88	31.94
1,300	43.65	47.93	91.58	45.79	60.87	63.33	124.20	62.10
1,400	54.25	56.97	111.22	55.61	67.99	68.80	136.79	68.40
1,500	59.28	64.08	123.36	61.68	73.77	74.50	148.27	74.14
1,600	68.98	70.87	139.85	69.93	80.28	82.06	162.34	81.17
100 % DMSO	95.62	93.92	189.54	94.77	93.57	93.46	187.03	93.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HA-E1ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	334.17	334.42	668.59	334.30	274.55	272.27	546.82	273.41
ไดคลอโรมีเทน	531.39	547.48	1,078.87	539.44	415.93	375.10	791.03	395.52
เอทานอล	1,478.37	1,372.58	2,850.95	1,425.48	1,234.67	1,248.90	2,483.57	1,241.79

4.2.5 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นเฮกเซน

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.6 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 300-350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 48.63-59.38) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 250-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 45.31-59.86) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100	13.22	16.77	29.99	15.00	11.37	11.54	22.91	11.46
150	14.23	13.73	27.96	13.98	21.12	19.19	40.31	20.16
200	26.27	27.24	53.51	26.76	26.46	25.22	51.68	25.84
250	36.63	37.60	74.23	37.12	44.84	45.77	90.61	45.31
300	48.50	48.75	97.25	48.63	58.91	60.81	119.72	59.86
350	58.36	60.40	118.76	59.38	72.63	73.22	145.85	72.93
400	65.70	66.87	132.57	66.29	78.95	77.11	156.06	78.03
450	72.40	71.43	143.83	71.92	84.15	83.85	168.00	84.00
100 % DMSO	91.57	91.13	182.70	91.35	91.94	91.95	183.89	91.95

4.2.6 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นไดคลอโรมีเทน

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.7 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 500-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 49.67-63.04) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 400-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 47.11-59.36) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100	6.43	6.62	13.05	6.53	23.74	12.00	35.74	17.87
200	13.82	15.73	29.55	14.78	32.79	25.40	58.19	29.10
300	21.63	32.12	53.75	26.88	41.53	33.77	75.30	37.65
400	37.04	42.16	79.20	39.60	49.06	45.16	94.22	47.11
500	49.55	49.78	99.33	49.67	60.29	58.42	118.71	59.36
600	61.78	64.29	126.07	63.04	69.28	69.96	139.24	69.62
700	75.40	75.61	151.01	75.51	80.75	82.51	163.26	81.63
800	83.07	84.99	168.06	84.03	88.28	91.53	179.81	89.91
900	88.87	89.24	178.11	89.06	91.38	92.29	183.67	91.84
100 % DMSO	87.21	89.40	176.61	88.31	89.86	91.83	181.69	90.85

4.2.7 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในชั้นเอทานอล

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.8 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 800, 900, 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 1,300-1,400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 46.56-54.34) เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 1,100-1,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 43.87-56.65) เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (% Cytotoxicity)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
800	12.07	12.53	24.60	12.30	12.52	11.10	23.62	11.81
900	23.03	22.28	45.31	22.66	23.55	21.74	45.29	22.65
1,000	32.70	29.88	62.58	31.29	36.11	30.42	66.53	33.27
1,100	35.45	33.44	68.89	34.45	44.58	43.15	87.73	43.87
1,200	37.50	42.03	79.53	39.77	58.45	54.84	113.29	56.65
1,300	45.53	47.58	93.11	46.56	63.42	63.66	127.08	63.54
1,400	54.26	54.41	108.67	54.34	69.61	68.53	138.14	69.07
1,500	64.34	60.08	124.42	62.21	75.85	76.94	152.79	76.40
1,600	72.72	73.66	146.38	73.19	82.64	82.05	164.69	82.35
100 % DMSO	90.18	91.41	181.59	90.80	93.32	93.90	187.22	93.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.8 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากต้นบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	318.23	314.07	632.30	316.15	271.84	272.75	544.59	272.30
ไดคลอโรมีเทน	507.98	486.99	994.97	497.49	411.88	439.73	851.61	425.81
เอทานอล	1,346.96	1,349.80	2,696.76	1,348.38	1,138.98	1,163.66	2,302.64	1,151.32

4.3 การทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

4.3.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 (รูปที่ 4.2)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในตารางที่ 4.10 และตารางที่ ข-1 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 150, 200, 250, 300, 350, 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 300-350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 47.39-57.48) เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง และ 250-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 43.94-58.94) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

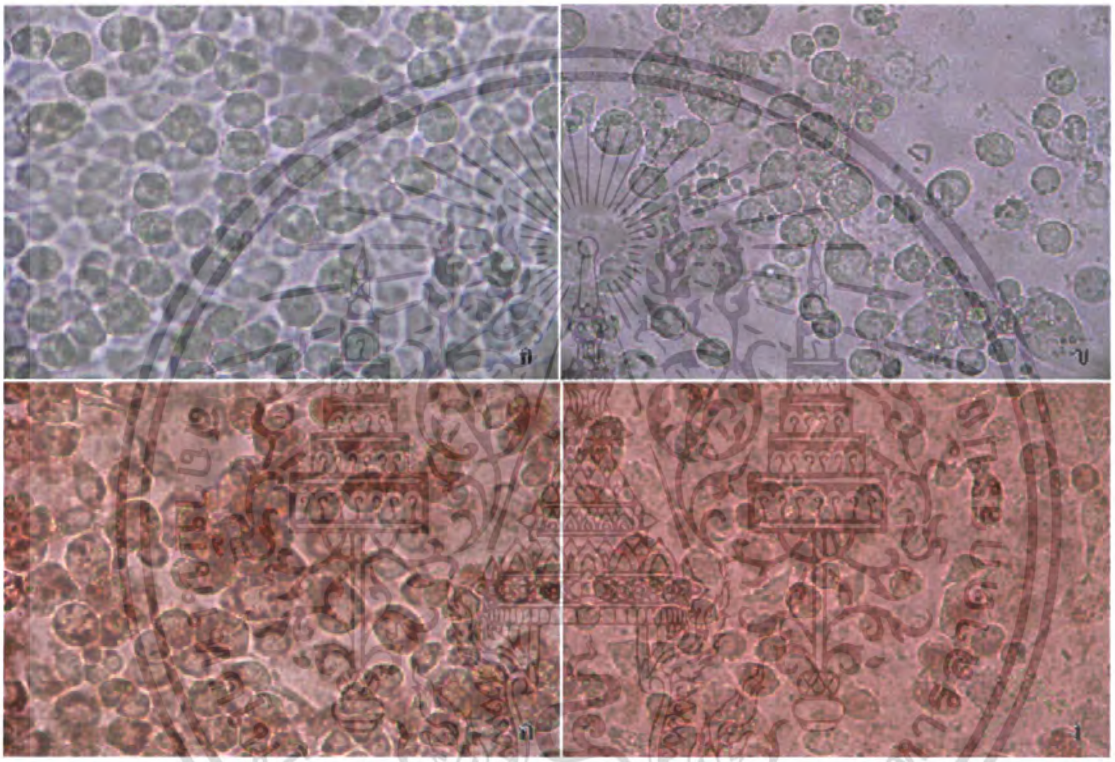
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบมีความเป็นพิษแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 150-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน และมีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดในชั้นเฮกเซนนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 150-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน และมีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน

ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน

ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1*	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
150	8.48[b]	15.97[c]
200	21.05[c]	32.29[d]
250	33.11[d]	43.94[e]
300	47.39[e]	58.94[f]
350	57.48[f]	67.61[g]
400	70.61[g]	76.79[h]
100 % DMSO	91.16[i]	93.13[i]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 (รูปที่ 4.3)

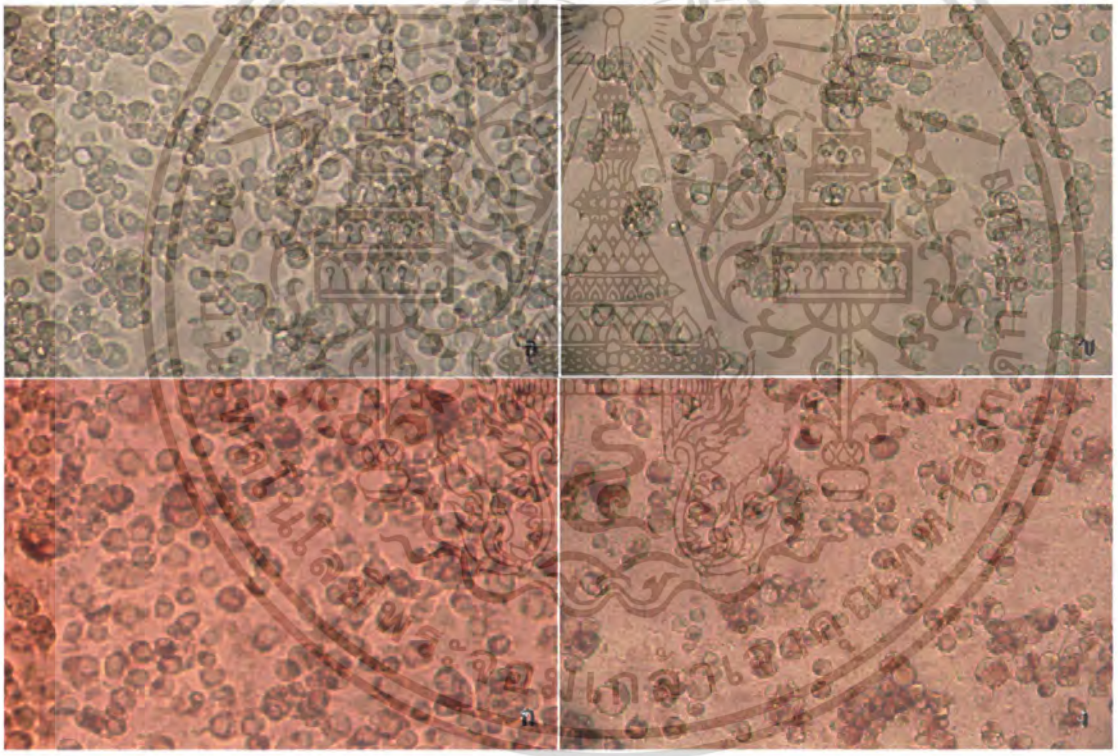
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 4.11 และตารางที่ ข-5 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นเมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้นและเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้น และเมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 500-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 46.17-56.85) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง และ 400-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 47.75-57.38) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบมีความเป็นพิษแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 300-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และทุกความเข้มข้นมีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กับ 100 % DMSO ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 300-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และทุกความเข้มข้นมีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กับ 100 % DMSO ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน

ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน

ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน

ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มในเซลล์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1*	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
300	25.81[b]	31.68[c]
400	34.69[d]	47.75[e]
500	46.17[e]	57.38[f]
600	56.85[f]	70.64[h]
700	66.78[g]	77.45[i]
800	72.68[h]	83.04[j]
900	79.33[i]	87.70[k]
1,000	85.09[jk]	90.82[l]
100 % DMSO	87.83[k]	91.68[l]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 (รูปที่ 4.4)

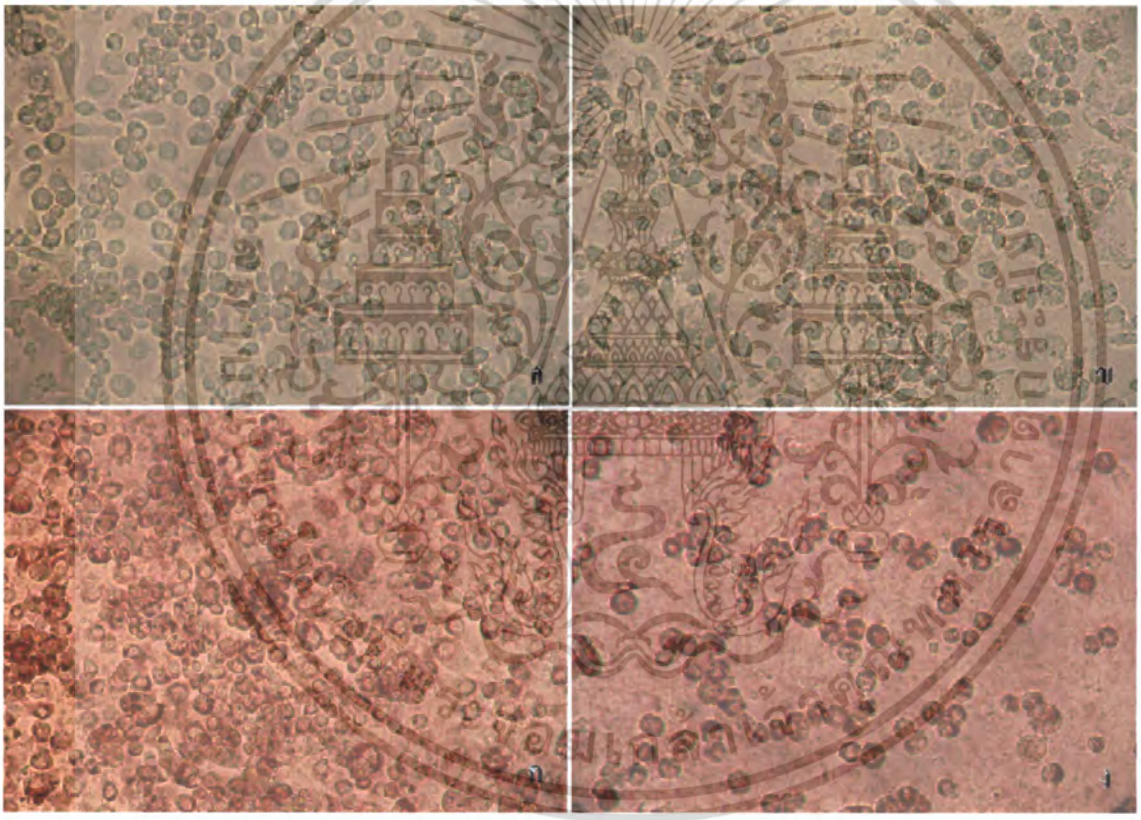
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในตารางที่ 4.12 และตารางที่ ข-9 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 400, 800, 1,000, 1,200, 1,400, 1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรและ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้น เมื่อบ่มในสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้นและเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 1,200-1,400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 47.02-62.26) เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมงและ 1,000-1,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 48.82-59.40) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบมีความเป็นพิษแตกต่างกันและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอลนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 400-1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดในชั้นเอทานอลนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 400-1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล

ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล

ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1*	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
400	6.40[b]	25.80[d]
800	20.40[c]	37.20[e]
1200	34.86[e]	48.82[f]
1200	47.02[f]	59.40[g]
1400	62.26[g]	72.21[h]
1600	76.89[i]	84.89[j]
100% DMSO	89.58[k]	93.15[l]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.13 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองใน ตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นเฉลี่ยที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50* (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
เฮกเซน	321.81[b]	273.59[a]
ไดคลอโรมีเทน	555.77[d]	462.96[c]
เอทานอล	1211.34[f]	976.21[e]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.13 และตารางที่ ข-16 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่ทำให้เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ตายร้อยละ 50 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง สรุปได้ดังนี้ สารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 321.81 และ 273.59 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ความเป็นพิษรองลงมาคือสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนโดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 555.77 และ 462.96 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 น้อยที่สุด คือมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,211.34 และ 976.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

4.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9

4.4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (รูปที่ 4.5)

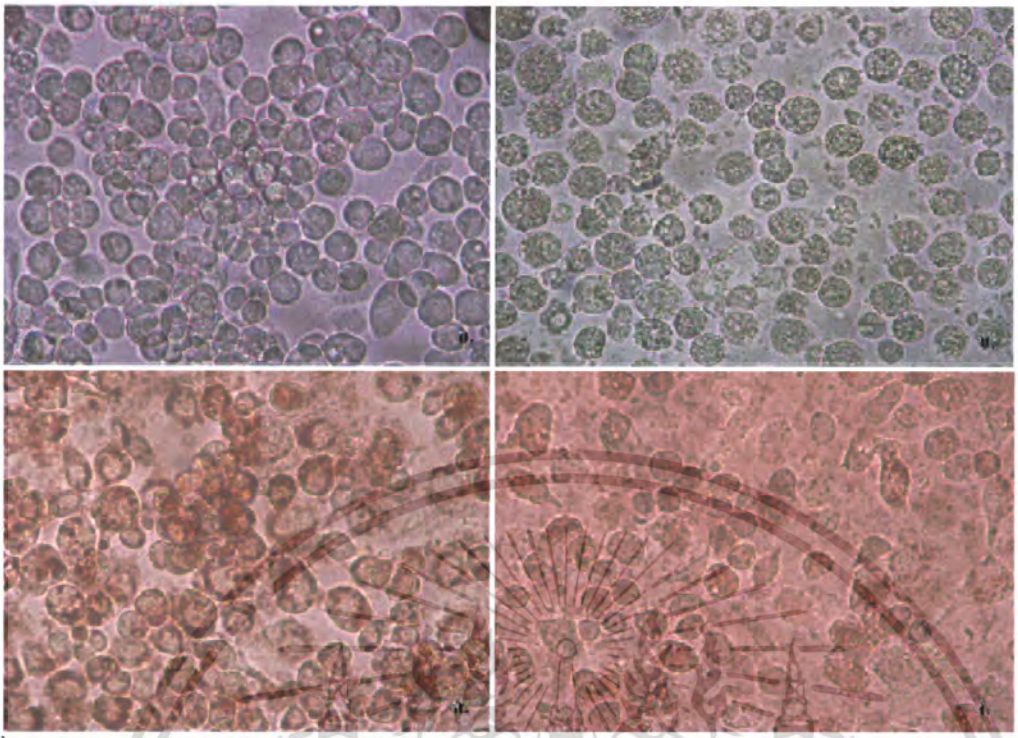
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 4.14 และตารางที่ ข-17 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 สารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 150, 200, 250, 300, 350 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้น เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้นและเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 300 – 350 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 48.22 – 59.50) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง และ 250 – 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 45.39 – 61.20) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนแต่ละความเข้มข้นสรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 150-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดในชั้นเฮกเซนนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 150-400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน
ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน
ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

ตารางที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
150	11.76[b]	20.31[c]
200	24.59[d]	28.41[e]
250	37.85[f]	45.39[g]
300	48.22[g]	61.20[h]
350	59.50[h]	68.51[i]
400	77.12[j]	78.40[j]
100% DMSO	91.04[k]	93.36[k]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (รูปที่ 4.6)

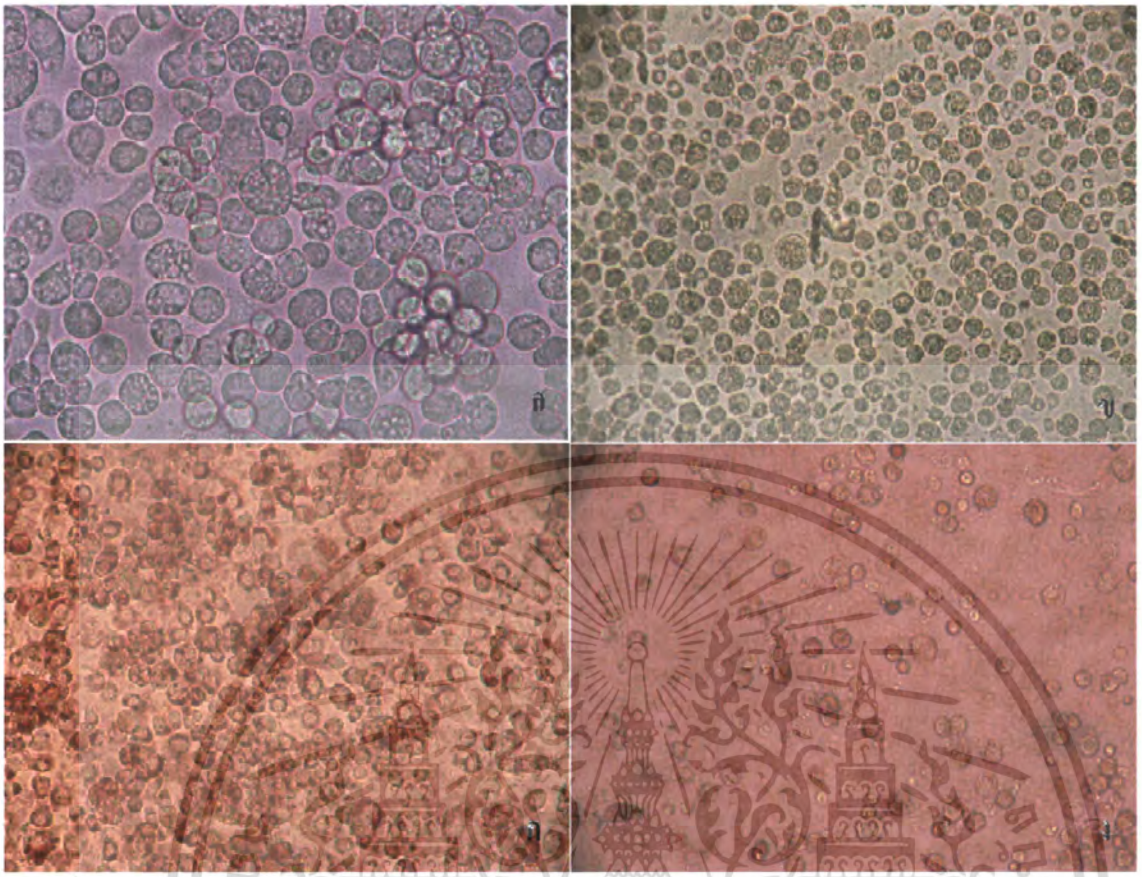
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 4.15 และตารางที่ ข-21 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้น เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้น และเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 500 – 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 46.95 – 62.29) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง และ 400 – 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 46.31 – 59.00) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนแต่ละความเข้มข้นสรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 300-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กับ 100 % DMSO ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 300-900 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 900, 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 100 % DMSO ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน

ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน

ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน

ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด

ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9*	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
300	15.60[b]	29.46[c]
400	32.75[d]	46.31[e]
500	46.95[e]	59.00[f]
600	62.29[g]	68.91[h]
700	71.98[h]	78.32[i]
800	81.11[i]	86.25[j]
900	86.59[j]	91.09[k]
1,000	91.34[k]	93.55[k]
100 % DMSO	91.06[k]	92.78[k]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 (รูปที่ 4.7)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 4.16 และตารางที่ ข-25 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีความเข้มข้น 0, 400, 800, 1,000, 1,200, 1,400 และ 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้น เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้นและเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 1,200 – 1,400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 46.80 – 58.31) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง และ 1,000 – 1,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 45.98 – 64.34) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

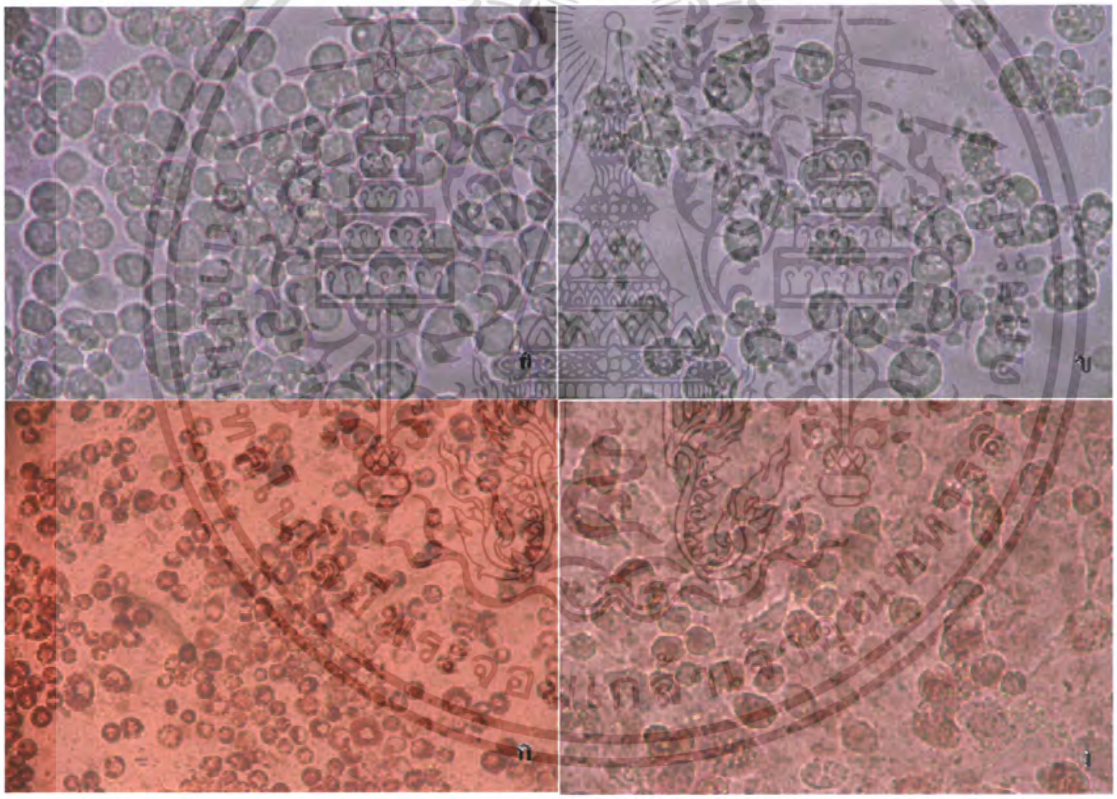
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลแต่ละความเข้มข้นสรุปได้ดังนี้ ทุกความเข้มข้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกัน และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอลนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 400-1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกัน และทุกความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันกับ 100 % DMSO อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดในชั้นเอทานอลนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 400-1,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และและทุกความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันกับ 100% DMSO อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ Sf9 ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล

ก. ก่อนบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล ข. หลังจากบ่มในสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล

ค. ลักษณะเซลล์ที่ย้อมสีนิวทรัลเรด ง. หลังจากสกัดสีนิวทรัลเรดออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล หลังจากบ่มเซลล์ไลน์ Sf9 นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9*	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
400	8.99[b]	9.83[b]
800	22.33[c]	30.19[d]
1,000	36.42[e]	45.98[f]
1,200	46.80[f]	64.34[g]
1,400	58.31[h]	75.66[i]
1,600	75.88[i]	86.41[j]
100% DMSO	87.19[j]	91.94[k]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.17 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นเฉลี่ยที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50* (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
เฮกเซน	302.19[b]	268.71[a]
ไดคลอโรมีเทน	535.74[d]	461.38[c]
เอทานอล	1,223.69[f]	1,007.22[e]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.17 และตารางที่ ข-32 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่ทำให้เซลล์ไลน์ Sf9 ตายร้อยละ 50 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง สรุปได้ดังนี้ สารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 302.19 และ 268.71 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ความเป็นพิษรองลงมาคือสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 535.74 และ 461.38 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 น้อยที่สุด คือมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,223.69 และ 1,007.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวัดการเจริญเติบโตของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 โดยการปลูกเซลล์ที่ 2.0 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังจากปลูกเซลล์เป็นเวลา 6 วัน พบว่า เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสูงสุด คือ 6.531 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นเซลล์เริ่มมีการเจริญลดลงในวันที่ 7 และเมื่อคำนวณหาค่า PDT (เวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า) ของเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ได้เท่ากับ 3.514 day/doubling นั่นคือเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 มีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าต้องใช้เวลาประมาณ 4 วัน

จากการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิดต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 334.30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 273.41 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง ซึ่งในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 539.44 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 395.52 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง และในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 800, 900, 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 1,425.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 1,241.79 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

จากการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิดต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 316.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 272.30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง ซึ่งในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

500, 600, 700, 800, 900 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 497.49 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 425.81 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง และในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 800, 900, 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 1,348.38 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 1,151.32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

จากการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิดต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 และ Sf9 ผลที่ได้แสดงว่าความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของแต่ละตัวทำละลายมีความเข้มข้นแตกต่างกันเมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิด ต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 150, 200, 250, 300, 350, 400 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 321.81 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 273.59 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง ซึ่งในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 555.77 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 462.96 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง และในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 400, 800, 1,000, 1,200, 1,400, 1,600 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 1,211.34 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 976.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่ทำให้เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ตายร้อยละ 50 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง สรุปได้ดังนี้ สารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 321.81 และ 273.59 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ความเป็นพิษรองลงมาคือสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนโดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 555.77 และ 462.96 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 น้อยที่สุด คือมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,211.34 และ 976.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

จากนั้นทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย 3 ชนิด ต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0, 150, 200, 250, 300, 350, 400 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเฮกเซนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 302.19 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 268.71 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง ซึ่งในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นไดคลอโรมีเทนที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 535.74 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 461.38 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง และในสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 400, 800, 1,000, 1,200, 1,400, 1,600 และ 100 % DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองชั้น เอทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 คือ 1,223.69 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 1,007.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองที่ทำให้เซลล์ไลน์ Sf9 ตายร้อยละ 50 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง สรุปได้ดังนี้ สารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 302.19 และ 268.71 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ความเป็นพิษรองลงมาคือสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนโดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 535.74 และ 461.38 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 น้อยที่สุด คือมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์เป็นพิษร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,223.69 และ 1,007.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. พืชสมุนไพร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุรพล อุปดิสสกุล. 2528. สถิติ การวางแผนการทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ANIARA CORPORATION. 2006. IN CYTOTOX-NR Neutral Red KIT. Lysosomal activity and Membrane integrity.

Nayak, S., Nalabothu, P., Sandiford, S., Bhogadi, V. and Adogwa, A. 2006. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica* L. and *Laurus nobilis* L. extracts on rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6:12.

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

Petcharawan,O., Chareonsak, S. and Bellonick, S. 2005. Establishment and characterization of cell line from embryonic tissue of the American cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae). In : Qian, Y. and Ziniu, Y. (eds) *Study on Plant Pest and Diseases Biological Control andBio-technology.* Heliongjiang Science and Technology Press. Harbin.

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

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).

www.flowerpictures.net

www2.dpi.qld.gov.auimages

www.schmetterling-raupe.de/art/armigera.htm

www.insectscience.org/6.26/ref

www.ento.okstate.edu/ddd/insects/fallarmyworm.htm

www.omafra.gov.on.ca/english/crops/pub812/2aw.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง

1. ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ตารางที่ ก-1 ผลผลิตสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง

	เฮกเซน (Hexane)	ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)	เอทานอล (Ethanol)
ผลผลิต* (น.น./น.น.)	0.3954 กรัม	0.9750 กรัม	1.6391 กรัม

น้ำหนัก* (กรัม) ของสารสกัดหยาบต่อ 20.00 กรัมของน้ำหนักแห้งของพืชต่อปริมาตรตัวทำละลาย 400 มิลลิลิตร

ตารางที่ ก-2 ผลการนับจำนวนเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เพื่อศึกษากราฟการเจริญของเซลล์

วันที่	ช่องที่	จำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย							
		ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		ซ้ำที่ 4	
		เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย
1	1	8	2	7	2	10	1	7	2
	2	2	2	10	3	9	2	10	3
	3	2	2	6	1	10	0	12	1
	4	8	3	5	1	8	1	9	1
	5	4	2	7	2	11	3	7	2
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		$0.6x10^5$		$0.88x10^5$		$1.20x10^5$		$1.125x10^5$	
2	1	12	5	15	5	12	3	15	4
	2	9	5	10	5	18	2	10	5
	3	13	5	9	4	15	2	20	3
	4	7	5	15	5	19	3	13	2
	5	10	3	16	6	16	1	17	3
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		$1.28x10^5$		$1.63 x10^5$		$2.0x10^5$		$1.88 x10^5$	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่	ช่องที่	จำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย							
		ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		ซ้ำที่ 4	
		เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย
3	1	28	4	17	11	28	4	31	8
	2	24	7	19	6	25	5	29	6
	3	24	9	17	4	30	7	25	7
	4	21	8	15	6	28	5	26	5
	5	24	8	21	7	32	8	22	7
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		3.025×10^5		2.225×10^5		3.575×10^5		3.325×10^5	
4	1	25	7	46	9	30	7	46	9
	2	34	5	27	10	34	5	27	10
	3	38	8	32	7	38	8	32	7
	4	18	7	22	3	29	7	28	3
	5	23	3	28	6	35	3	35	6
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		3.45×10^5		4.25×10^5		4.15×10^5		4.25×10^5	
5	1	35	9	40	7	90	21	67	12
	2	33	11	38	10	68	10	75	18
	3	30	5	35	9	65	9	59	9
	4	35	8	45	5	55	7	64	7
	5	40	6	39	6	42	6	70	13
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		4.325×10^5		4.925×10^5		8.0×10^5		8.375×10^5	
6	1	46	6	53	10	55	13	57	12
	2	48	6	49	7	58	15	50	14
	3	53	12	49	6	59	10	54	11
	4	52	9	45	7	52	11	58	13
	5	51	7	50	8	56	15	50	17
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		6.25×10^5		6.15×10^5		7.0×10^5		6.725×10^5	

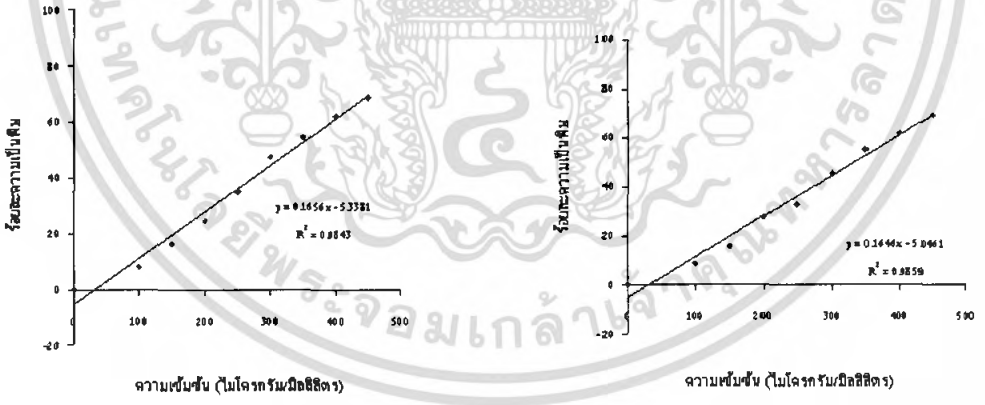
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่	ช่องที่	จำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย							
		ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		ซ้ำที่ 4	
		เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ตาย
7	1	35	9	33	6	35	15	28	9
	2	43	11	39	10	43	20	33	11
	3	34	3	28	5	29	10	28	13
	4	30	6	35	3	33	11	35	15
	5	37	5	43	8	37	12	39	13
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		4.475×10^5		4.45×10^5		4.425×10^5		4.075×10^5	
8	1	23	7	32	10	25	10	34	12
	2	17	6	34	11	26	13	32	16
	3	22	8	11	4	22	11	11	6
	4	26	8	30	9	17	8	30	18
	5	25	7	24	5	23	9	24	10
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		2.825×10^5		3.275×10^5		2.825×10^5		3.275×10^5	
9	1	19	10	26	12	20	12	21	13
	2	21	9	13	5	16	10	14	10
	3	23	12	15	7	17	11	17	9
	4	14	6	20	11	23	14	24	14
	5	10	6	17	9	15	9	12	6
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		2.175×10^5		2.275×10^5		2.275×10^5		2.2×10^5	
10	1	15	11	16	12	8	4	6	5
	2	17	10	15	13	11	7	10	8
	3	10	6	11	9	7	3	8	6
	4	9	8	8	11	9	5	9	5
	5	13	10	15	12	13	10	11	7
จำนวนเซลล์มีชีวิต/มิลลิลิตร		1.6×10^5		1.625×10^5		1.2×10^5		1.1×10^5	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-3 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
100	8.15	8.92
150	16.35	15.71
200	24.44	27.64
250	34.86	32.92
300	47.39	45.38
350	54.51	55.23
400	62.15	61.90
450	68.53	69.02



รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และ ซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.1656x-5.3381 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+5.3381)/0.1656 = 334.17

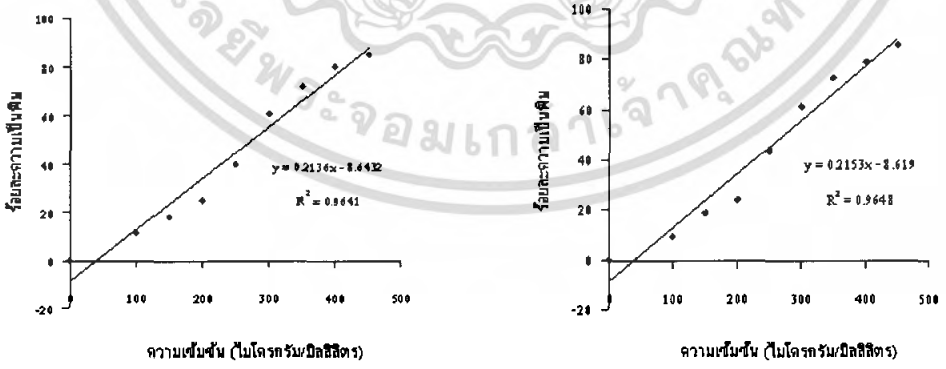
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 334.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 จาก regression line สมการ y = 0.1646x-5.0461 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+5.0461)/0.1646 = 334.42 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 334.42 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ตารางที่ ก-4 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
100	11.10	9.57
150	17.85	18.94
200	25.01	24.32
250	40.00	43.67
300	60.87	61.68
350	71.82	72.81
400	80.36	79.38
450	85.17	85.80



รูปที่ ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และ ซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

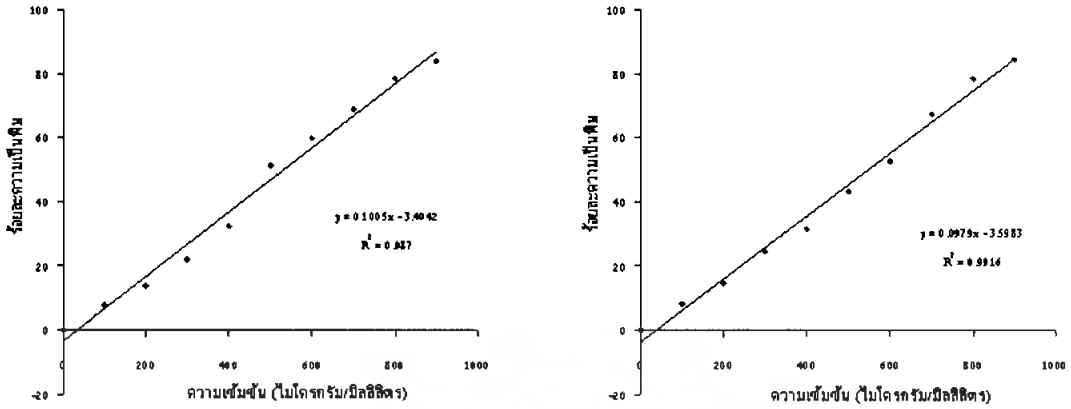
จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.2136x-8.6432 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+8.6432)/0.2136 = 274.55 ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 274.55 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 จาก regression line สมการ y = 0.2153x-8.619 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+8.619)/0.2153 = 272.27 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 272.27 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ก-5 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
100	7.79	7.91
200	13.74	14.67
300	21.90	24.34
400	32.31	31.35
500	51.38	43.12
600	59.79	52.74
700	68.92	67.27
800	78.41	78.37
900	83.90	84.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

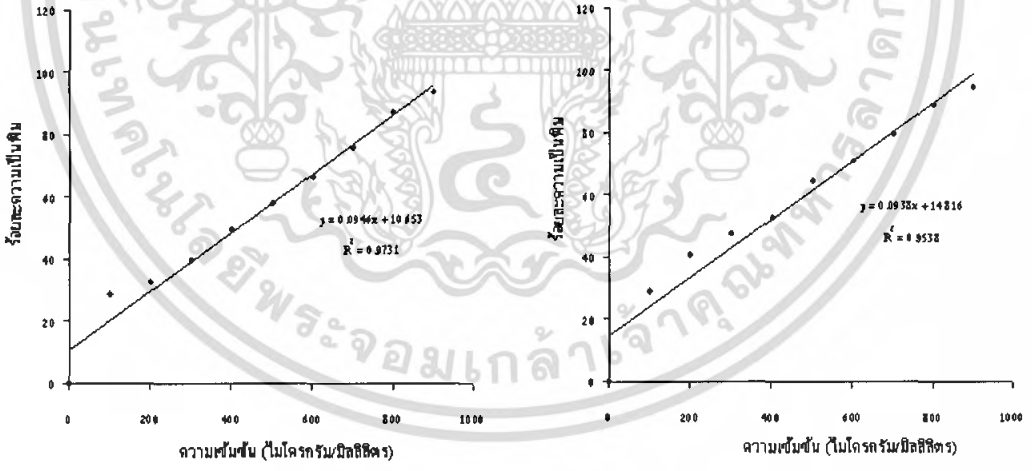
จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.1005x-3.4042 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+3.4042)/0.1005 = 531.39 ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 531.39 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 regression line สมการ y = 0.0979x-3.5983 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+3.5983)/0.0979 = 547.48 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 547.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-6 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
100	28.74	29.23
200	32.50	40.98
300	39.75	47.79
400	49.45	52.90
500	58.13	64.73
600	66.43	71.18
700	76.14	79.59
800	87.15	88.85
900	93.86	95.05



รูปที่ ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และ ซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

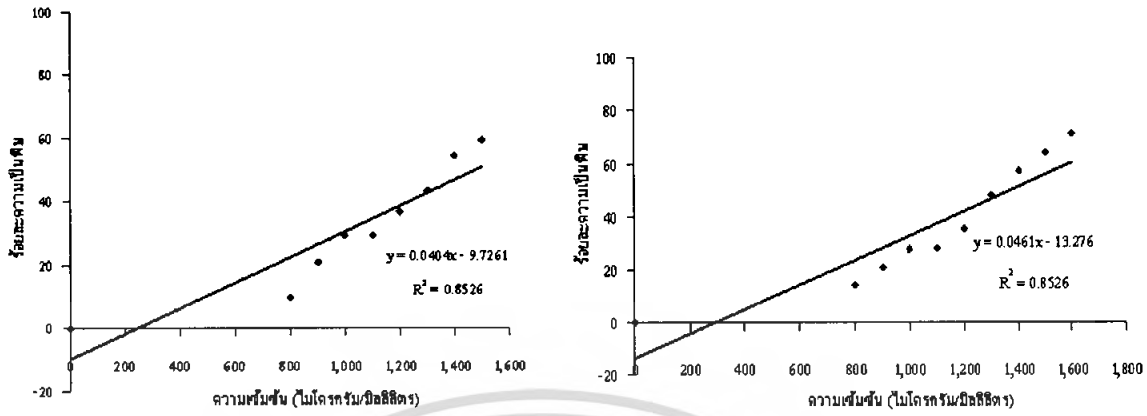
จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.0946x-10.653 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+10.653)/0.0946 = 415.93 ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 415.93 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 จาก regression line สมการ y = 0.0938x-14.816 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+14.816)/0.0938 = 375.10 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 375.10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ก-7 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
800	9.76	14.24
900	21.06	20.59
1,000	29.45	27.49
1,100	29.40	27.91
1,200	36.98	35.23
1,300	43.65	47.93
1,400	54.25	56.97
1,500	59.28	64.08
1,600	68.98	70.87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และ ซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

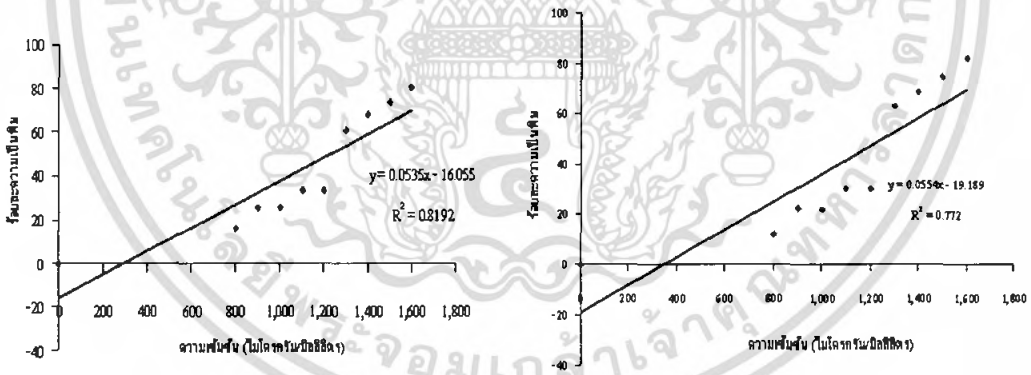
จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.0404x-9.7261 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+9.7361)/0.0404 = 1478.37 ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 1478.37 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 regression line สมการ y = 0.0461x-13.276 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+13.276)/0.0461 = 1,372.58 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 1,372.58 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-8 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00
800	15.83	12.01
900	25.80	22.65
1,000	25.63	21.99
1,100	33.61	30.29
1,200	33.56	30.32
1,300	60.87	63.33
1,400	67.99	68.80
1,500	73.77	74.50
1,600	80.28	82.06



รูปที่ ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพซ้าย) และ ซ้ำที่ 2 (ภาพขวา)

จากข้อมูลซ้ำที่ 1 จาก regression line สมการ y = 0.0535x-16.055 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+16.055)/0.0535 = 1234.67 ดังนั้นซ้ำที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 1234.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลซ้ำที่ 2 จาก regression line สมการ y = 0.0554x-19.189 ถ้าต้องการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ได้ดังนี้ x = (50+19.189)/0.0554 = 1,248.90 ดังนั้นซ้ำที่ 2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 คือ ความเข้มข้น 1,248.90 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ก-9 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

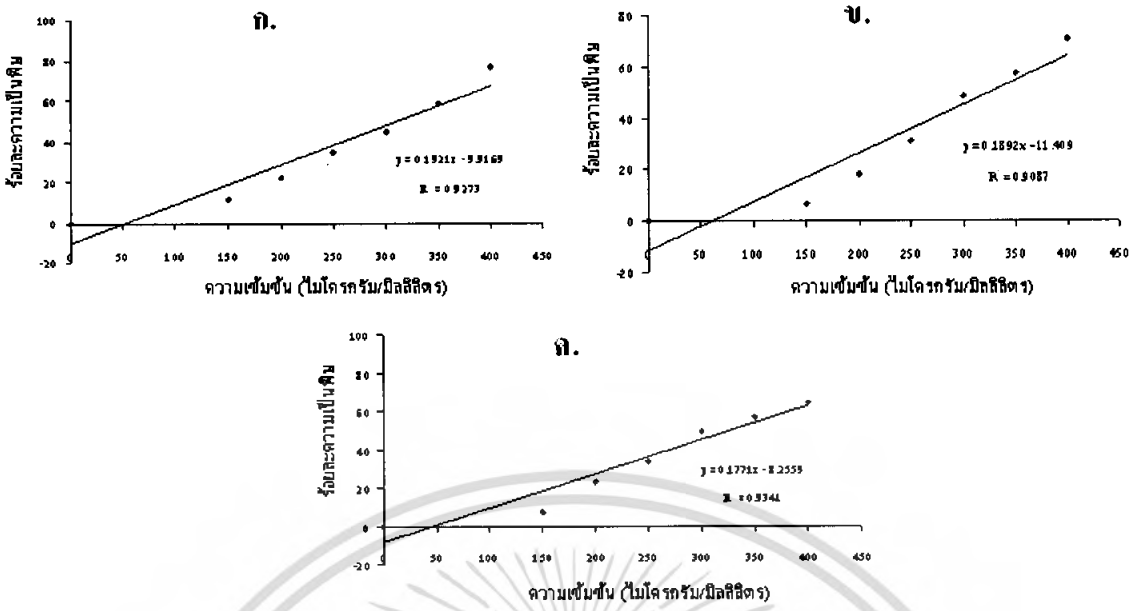
สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	334.17	334.42	668.59	334.30	274.55	272.27	546.82	273.41
ไดคลอโรมีเทน	531.39	547.48	1,078.87	539.44	415.93	375.10	791.03	395.52
เอทานอล	1,478.37	1,372.58	2,850.95	1,425.48	1,234.67	1,248.90	2,483.57	1,241.79

2. ผลความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง

ตารางที่ ก-10 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
150	11.56	6.47	7.40
200	21.82	18.19	23.14
250	34.57	31.12	33.65
300	44.36	48.41	49.39
350	58.77	57.12	56.54
400	76.50	70.96	64.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

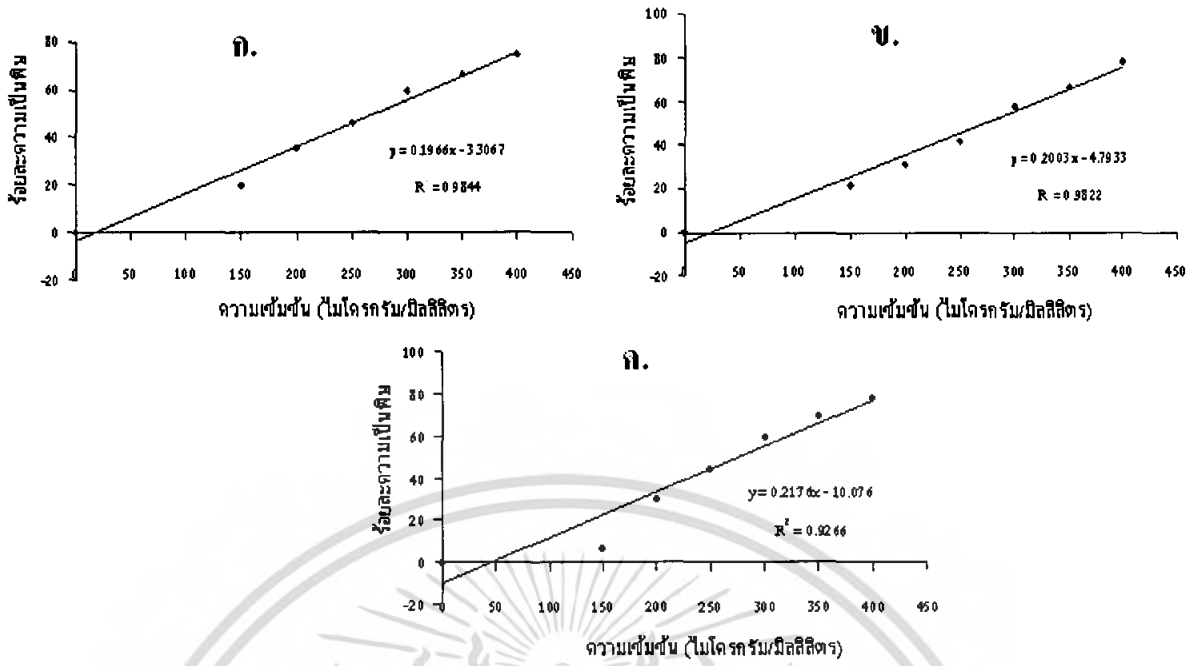


รูปที่ ก-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และ ซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-11 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
150	19.77	21.67	6.47
200	35.42	31.38	30.07
250	45.79	41.57	44.47
300	59.20	57.73	59.90
350	66.45	66.82	69.57
400	74.53	77.84	78.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

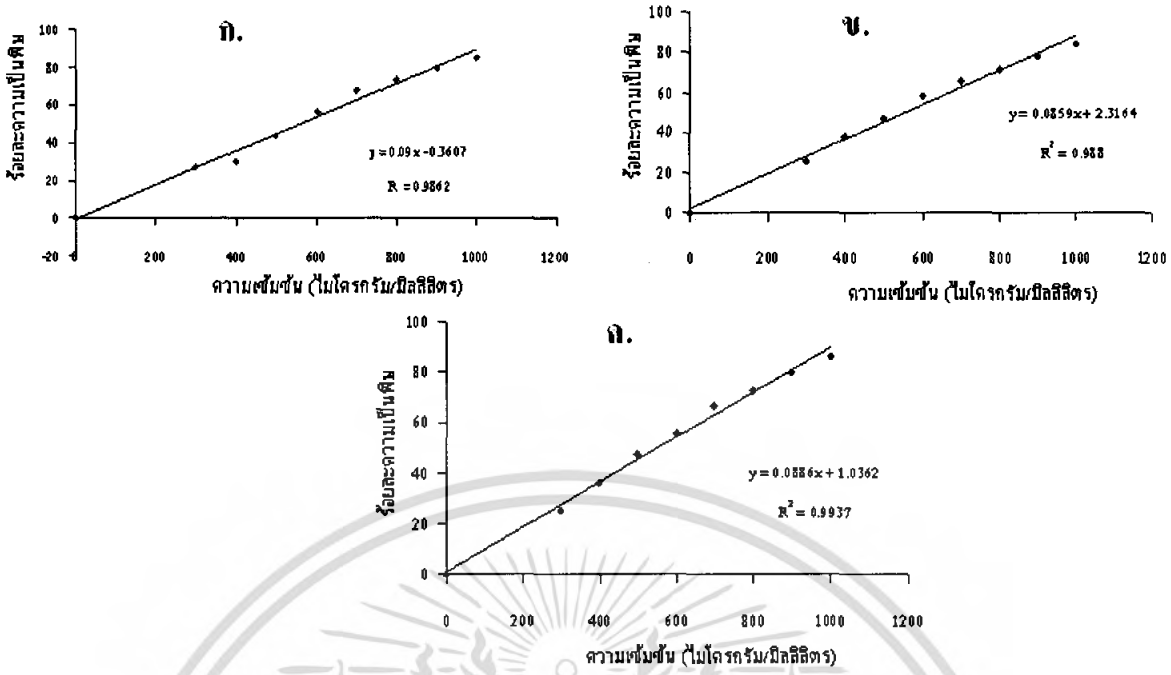


รูปที่ ก-8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-12 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
300	26.86	25.32	25.26
400	30.30	37.59	36.19
500	43.67	47.29	47.55
600	56.50	58.18	55.87
700	68.01	65.79	66.54
800	73.97	71.70	72.38
900	79.85	77.99	80.14
1,000	85.48	83.70	86.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

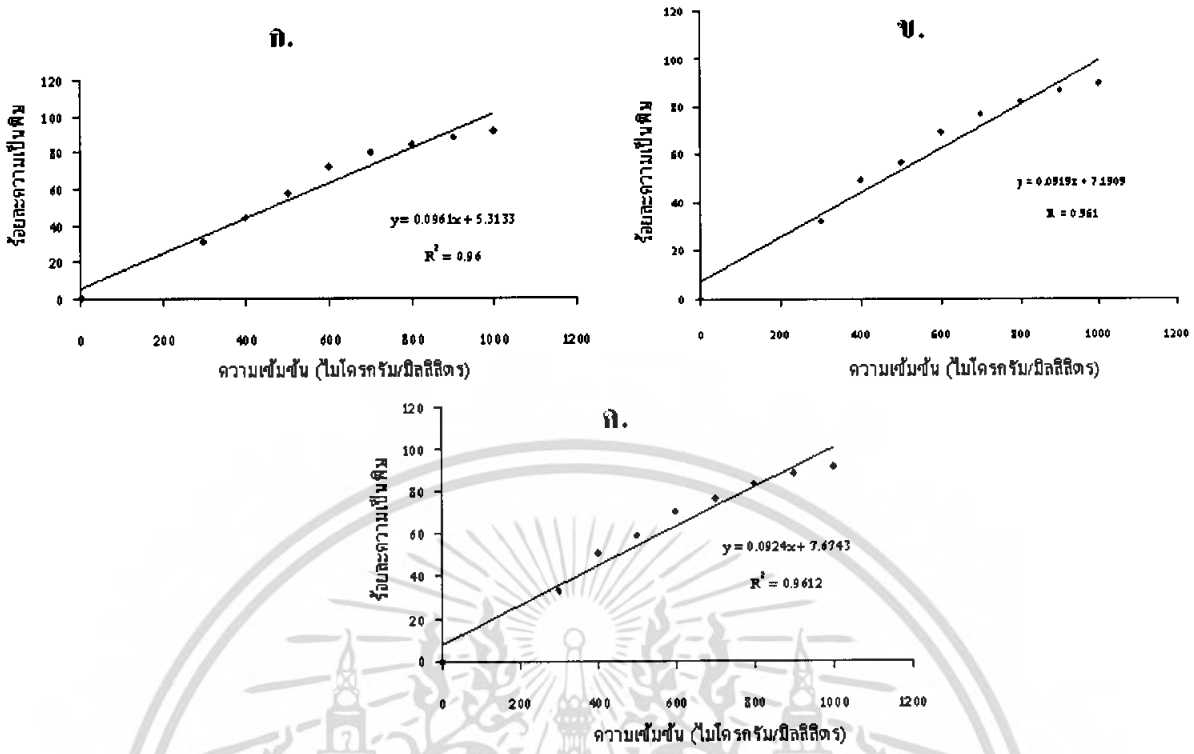


รูปที่ ก-9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-13 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
300	30.48	31.91	32.66
400	43.78	49.23	50.23
500	57.19	56.44	58.50
600	72.64	69.14	70.13
700	79.34	76.94	76.07
800	84.05	82.11	82.95
900	88.19	86.95	87.96
1,000	91.70	89.75	91.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

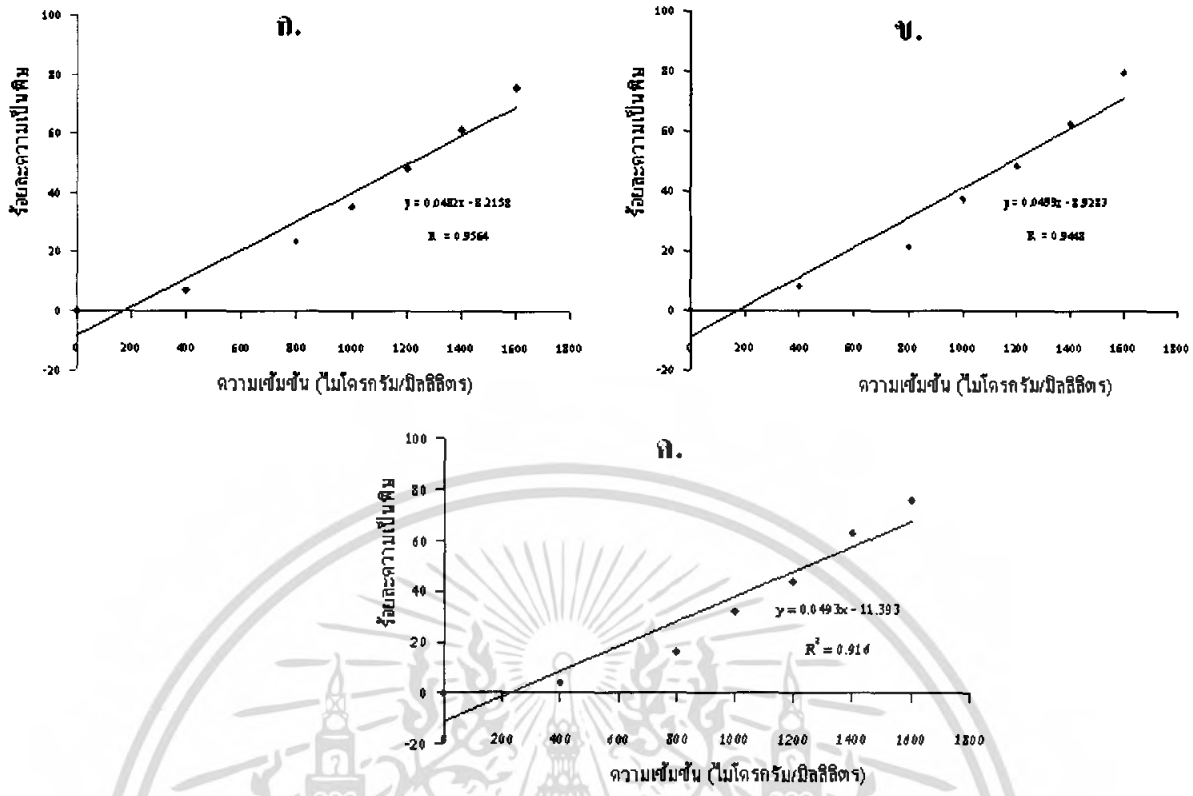


รูปที่ ก-10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-14 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
400	7.20	8.05	3.96
800	23.53	21.20	16.47
1,000	35.19	37.17	32.23
1,200	48.33	48.43	44.31
1,400	61.32	62.50	62.97
1,600	75.59	79.25	75.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

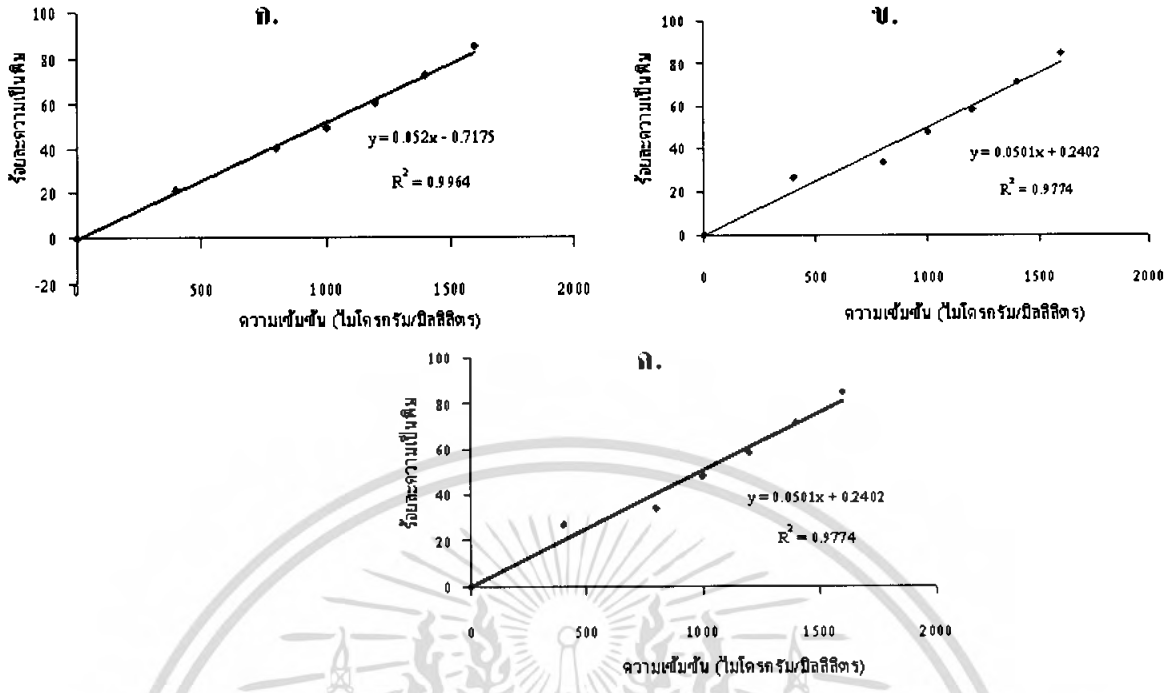


รูปที่ ก-11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-15 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL- HA-E1 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
400	21.29	26.68	29.43
800	40.32	33.91	37.37
1,000	48.90	47.92	49.63
1,200	59.88	58.06	60.26
1,400	72.28	71.05	73.29
1,600	85.20	84.53	84.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ภาพ ก.) ซ้ำที่ 2 (ภาพ ข.) และซ้ำที่ 3 (ภาพ ค.)

ตารางที่ ก-16 ผลการทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

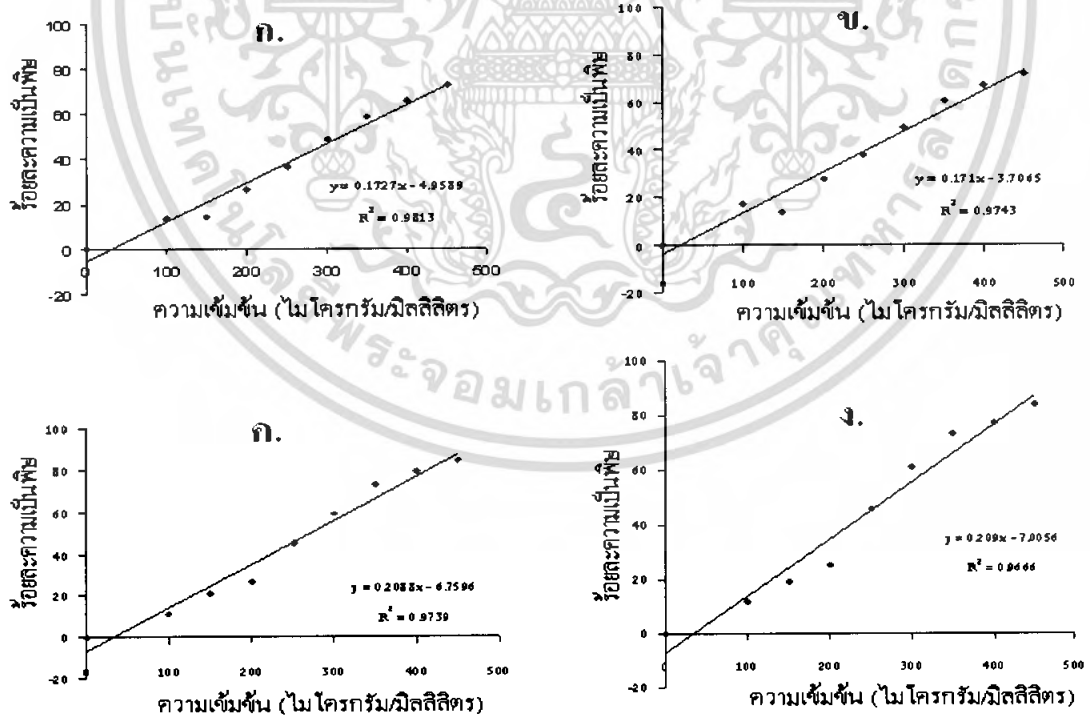
สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	311.92	324.57	328.94	965.43	321.81	271.14	273.56	276.08	820.78	273.59
ไดคลอโรมีเทน	559.56	555.11	552.64	1,667.31	555.77	465.00	465.82	458.07	1,388.89	462.96
เอทานอล	1,207.80	1,180.93	1,245.29	3,634.02	1,211.34	975.34	995.20	958.10	2,928.64	976.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ตารางที่ ก-17 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์			
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง		บ่มนาน 48 ชั่วโมง	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00	0.00	0.00
100	13.22	16.77	11.37	11.54
150	14.23	13.73	21.12	19.19
200	26.27	27.24	26.46	25.22
250	36.63	37.60	44.84	45.77
300	48.50	48.75	58.91	60.81
350	58.36	60.40	72.63	73.22
400	65.70	66.87	78.95	77.11
450	72.40	71.43	84.15	83.85

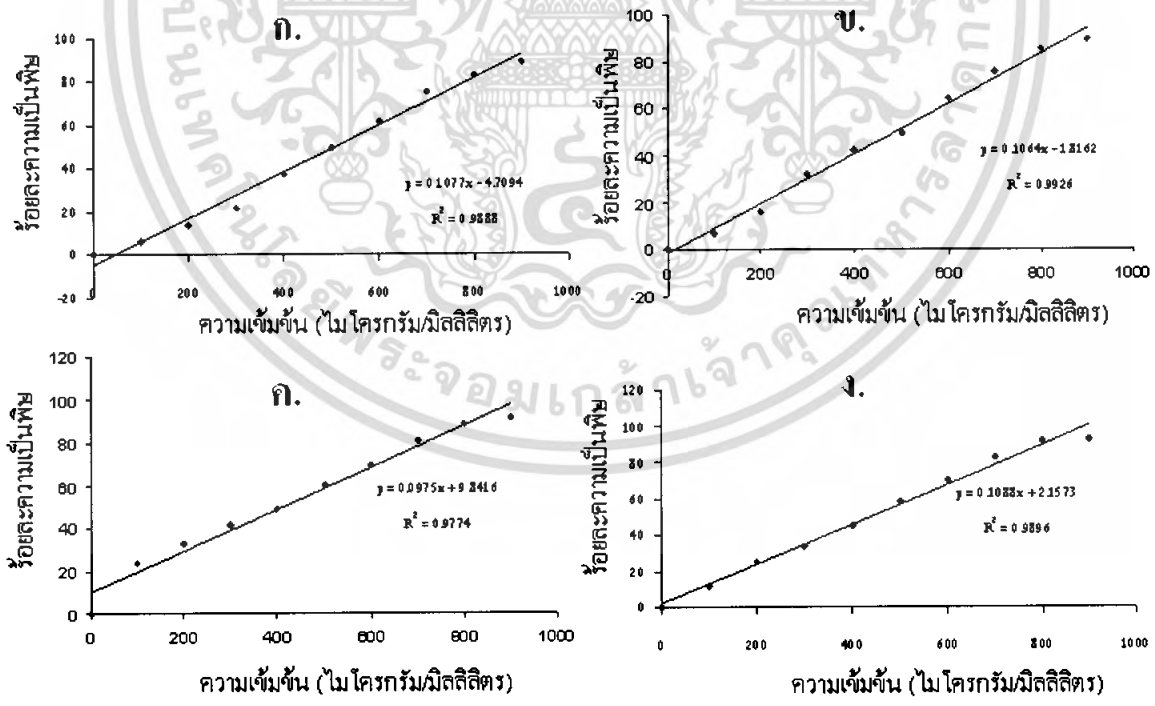


รูปที่ ก-13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 (ก. และ ข.) และ 48 ชั่วโมง (ค. และ ง.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-18 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์			
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง		บ่มนาน 48 ชั่วโมง	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00	0.00	0.00
100	6.43	6.62	23.74	12.00
200	13.82	15.73	32.79	25.40
300	21.63	32.12	41.53	33.77
400	37.04	42.16	49.06	45.16
500	49.55	49.78	60.29	58.42
600	61.78	64.29	69.28	69.96
700	75.40	75.61	80.75	82.51
800	83.07	84.99	88.28	91.53
900	88.87	89.24	91.38	92.29

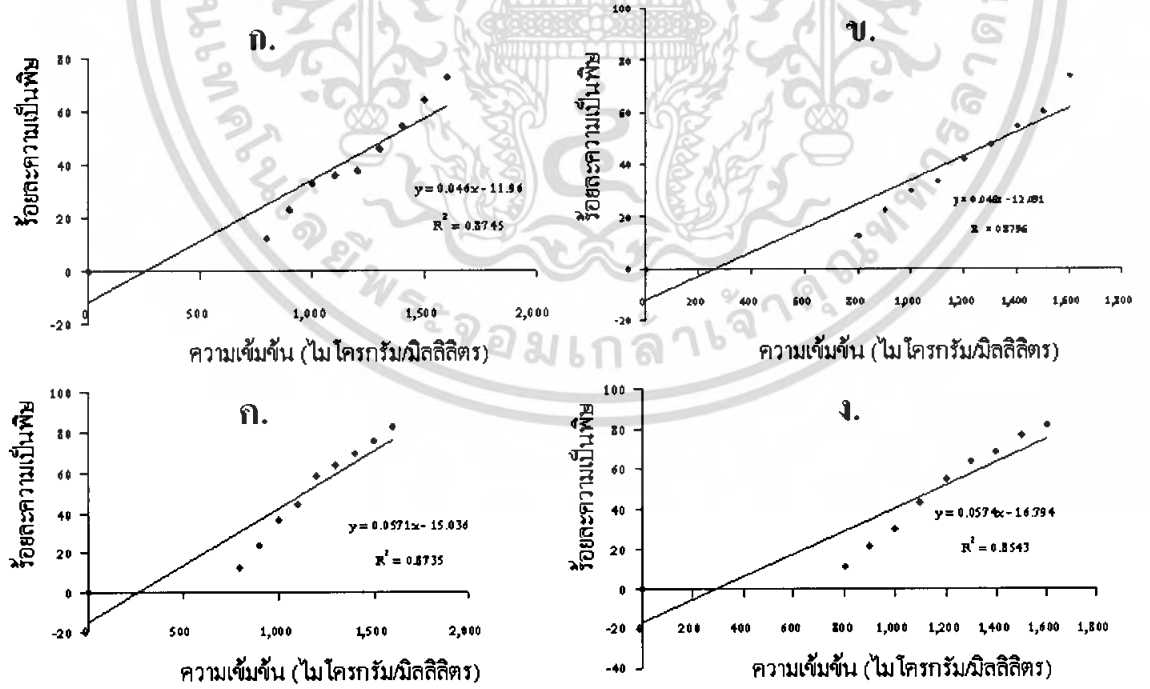


รูปที่ ก-14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 (ก. และ ข.) และ 48 ชั่วโมง (ค. และ ง.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-19 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์			
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง		บ่มนาน 48 ชั่วโมง	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
0	0.00	0.00	0.00	0.00
800	12.07	12.53	12.52	11.10
900	23.03	22.28	23.55	21.74
1000	32.70	29.88	36.11	30.42
1100	35.45	33.44	44.58	43.15
1200	37.50	42.03	58.45	54.84
1300	45.53	47.58	63.42	63.66
1400	54.26	54.41	69.61	68.53
1500	64.34	60.08	75.85	76.94
1600	72.72	73.66	82.64	82.05



รูปที่ ก-15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษเบื้องต้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 (ก. และ ข.) และ 48 ชั่วโมง (ค. และ ง.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-20 ผลการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9

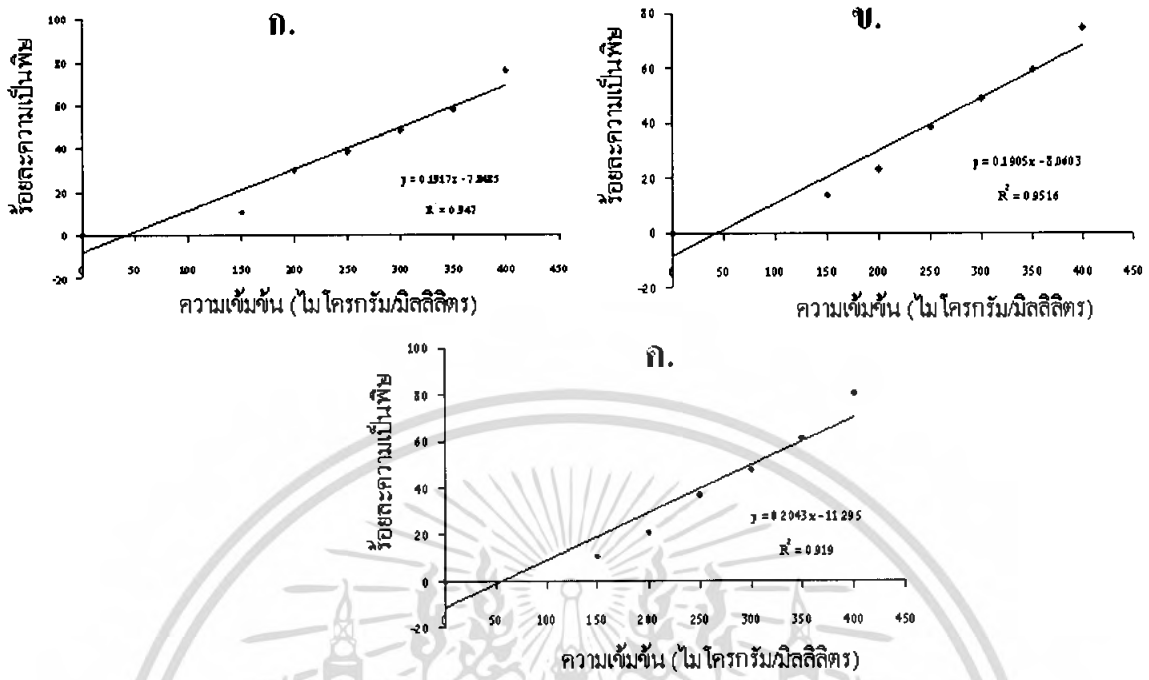
สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)							
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง				บ่มนาน 48 ชั่วโมง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	318.23	314.07	632.30	316.15	271.84	272.75	544.59	272.30
ไดคลอโรมีเทน	507.98	486.99	994.97	497.49	411.88	439.73	851.61	425.81
เอทานอล	1,346.96	1,349.80	2,696.76	1,348.38	1,138.98	1,163.66	2,302.64	1,151.32

4. ผลความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลือง

ตารางที่ ก-21 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
150	10.67	13.99	10.61
200	29.73	23.06	20.99
250	38.42	38.38	36.92
300	48.39	48.61	47.65
350	58.18	59.30	61.03
400	75.97	74.61	80.79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

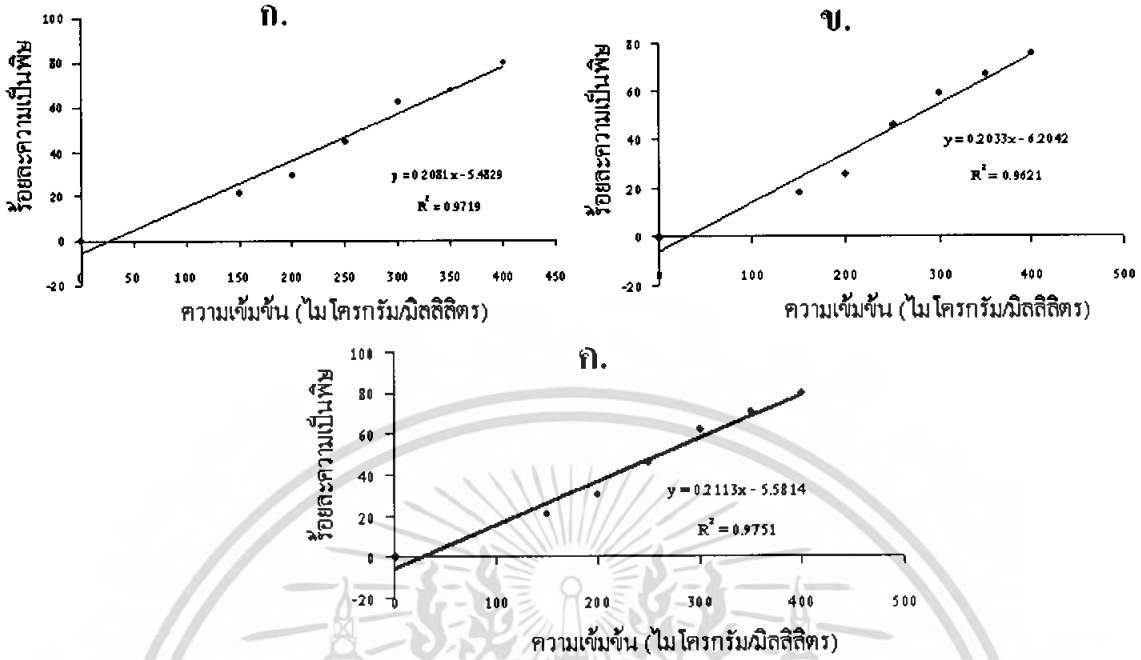


รูปที่ ก-16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-22 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
150	21.55	18.27	21.11
200	29.16	25.74	30.33
250	44.43	46.20	45.54
300	62.51	59.01	62.08
350	67.60	67.25	70.68
400	79.78	75.61	79.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

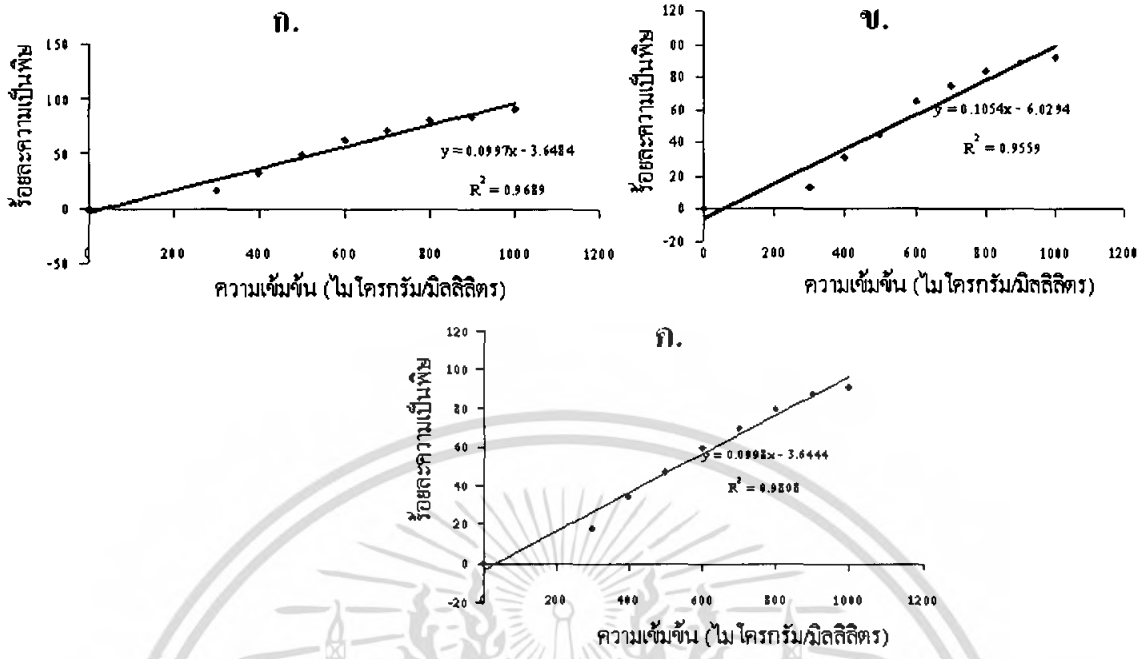


รูปที่ ก-17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-23 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
300	15.96	13.18	17.66
400	32.59	31.34	34.33
500	48.60	45.06	47.19
600	62.14	65.19	59.55
700	71.33	74.90	69.70
800	80.69	83.28	79.36
900	83.56	88.62	87.60
1,000	90.95	92.15	90.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

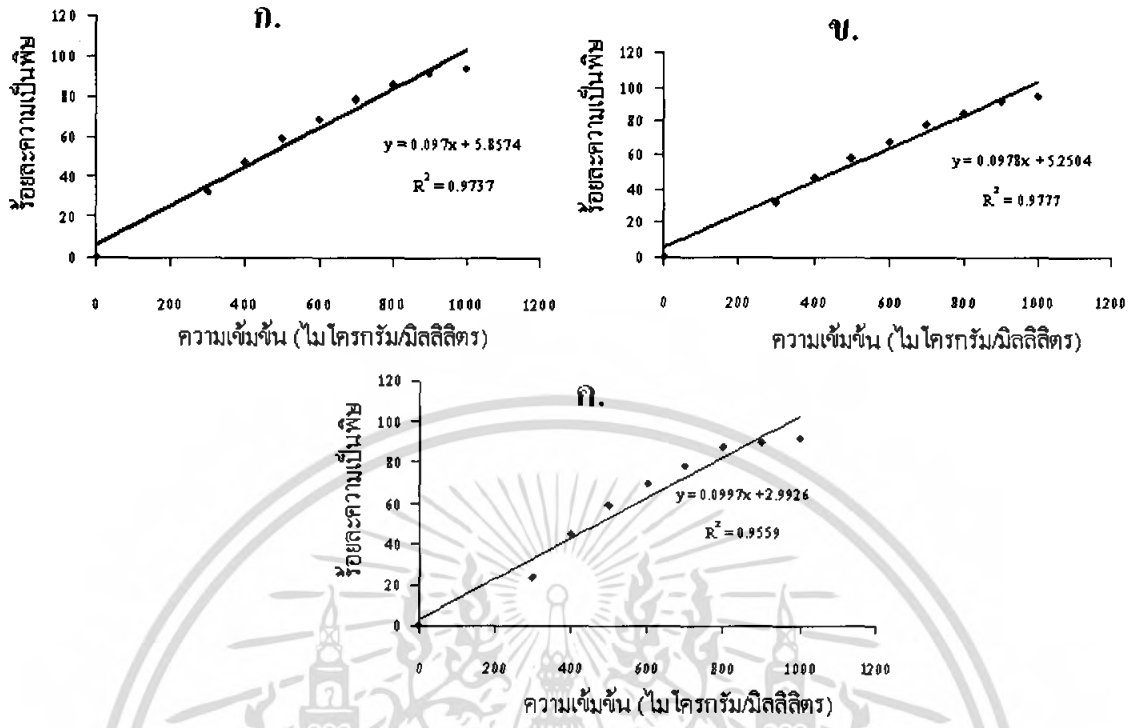


รูปที่ ก-18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-24 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
300	32.43	32.24	23.70
400	47.63	46.64	44.67
500	59.11	58.62	59.26
600	68.63	68.36	69.74
700	78.34	78.36	78.26
800	85.90	84.94	87.91
900	91.19	92.20	89.87
1,000	93.99	94.64	92.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

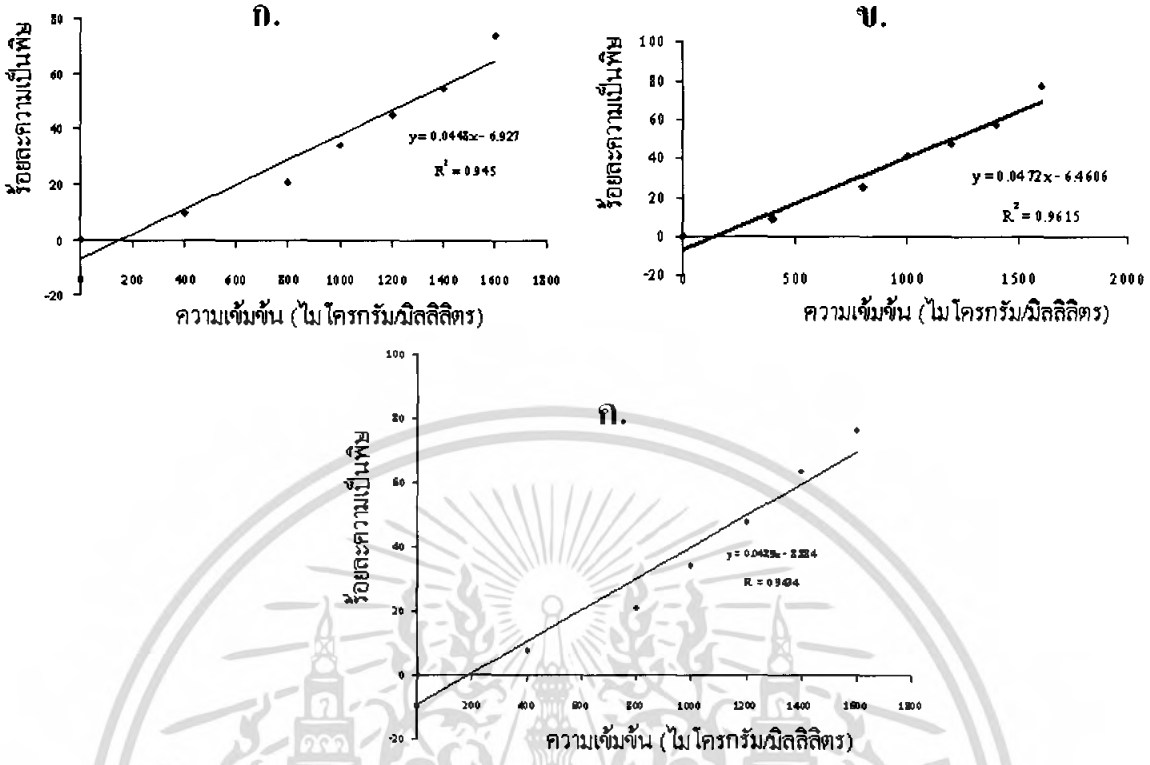


รูปที่ ก-19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-25 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
400	10.02	9.04	7.92
800	20.65	25.20	21.13
1,000	34.18	40.97	34.10
1,200	44.80	47.70	47.89
1,400	54.62	56.74	63.57
1,600	74.07	77.13	76.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

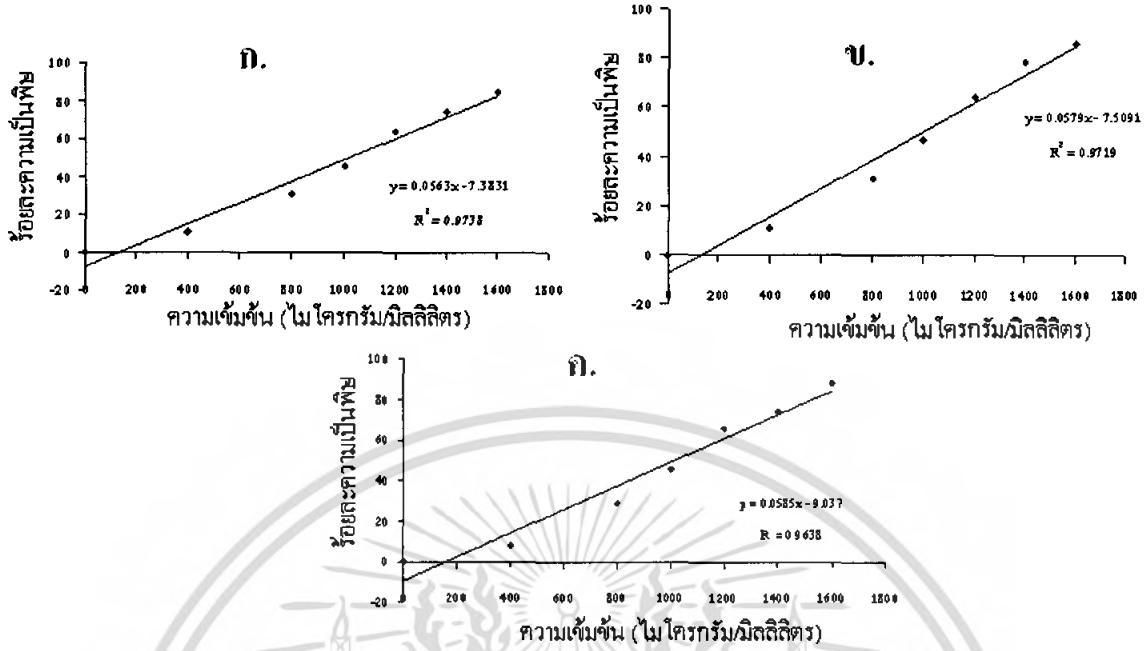


รูปที่ ก-20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-26 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0.00	0.00	0.00
400	10.17	11.09	8.24
800	30.58	31.05	28.94
1,000	45.41	46.68	45.86
1,200	63.28	64.11	65.64
1,400	74.17	78.80	74.01
1,600	84.71	86.30	88.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ Sf9 บ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซ้ำที่ 1 (ก.) ซ้ำที่ 2 (ข.) และซ้ำที่ 3 (ค.)

ตารางที่ ก-27 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	301.77	304.78	300.02	906.57	302.19	266.62	276.46	263.04	806.12	268.71
ไดคลอโรมีเทน	538.10	531.59	537.52	1,607.21	535.74	455.08	457.56	471.49	1384.13	461.38
เอทานอล	1,270.69	1,196.20	1,204.17	3,671.06	1,223.69	1,019.24	993.25	1,009.18	3,021.67	1,007.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ก. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ตารางที่ ข-1 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
เฮกเซน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		150	11.56	6.47	7.40	25.43	8.48
		200	21.82	18.19	23.14	63.15	21.05
		250	34.57	31.12	33.65	99.34	33.11
		300	44.36	48.41	49.39	142.16	47.39
		350	58.77	57.12	56.54	172.43	57.48
		400	76.50	70.96	64.38	211.84	70.61
		100 % DMSO	90.85	90.81	91.81	273.47	91.16
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		150	19.77	21.67	6.47	47.91	15.97
		200	35.42	31.38	30.07	96.87	32.29
		250	45.79	41.57	44.47	131.83	43.94
		300	59.20	57.73	59.90	176.83	58.94
		350	66.45	66.82	69.57	202.84	67.61
		400	74.53	77.84	78.01	230.38	76.79
		100 % DMSO	92.27	94.10	93.02	279.39	93.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตั้งสมมติฐาน

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	42254.779(a)	15	2816.985	295.462	.000
Intercept	96649.083	1	96649.083	10137.138	.000
treatment	42254.779	15	2816.985	295.462	.000
Error	305.093	32	9.534		
Total	139208.955	48			
Corrected Total	42559.872	47			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 295.462 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า $\alpha = 0.05$ (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-3 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treatmemt	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
24h 0	3	.0000								
48h 0	3	.0000								
24h 150	3		8.4767							
48h 150	3			15.9700						
24h 200	3			21.0500						
48h 200	3				32.2900					
24h 250	3				33.1133					
48h 250	3					43.9433				
24h 300	3					47.3867				
24h 350	3						57.4767			
48h 300	3						58.9433			
48h 350	3							67.6133		
24h 400	3							70.6133		
48h 400	3								76.7933	
24h 100 % DMSO	3									91.1567
48h 100 % DMSO	3									93.1300
Sig.		1.000	1.000	.052	.746	.182	.565	.243	1.000	.440

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 9.534.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
150	8.48[b]	15.97[c]
200	21.05[c]	32.29[d]
250	33.11[d]	43.94[e]
300	47.39[e]	58.94[f]
350	57.48[f]	67.61[g]
400	70.61[g]	76.79[h]
100 % DMSO	91.16[i]	93.13[j]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ตารางที่ ข-5 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไดคลอโรมีเทน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		300	26.86	25.32	25.26	77.44	25.81
		400	30.30	37.59	36.19	104.08	34.69
		500	43.67	47.29	47.55	138.51	46.17
		600	56.50	58.18	55.87	170.55	56.85
		700	68.01	65.79	66.54	200.34	66.78
		800	73.97	71.70	72.38	218.05	72.68
		900	79.85	77.99	80.14	237.98	79.33
		1000	85.48	83.70	86.10	255.28	85.09
		100 % DMSO	87.79	87.57	88.14	263.50	87.83
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		300	30.48	31.91	32.66	95.05	31.68
		400	43.78	49.23	50.23	143.24	47.75
		500	57.19	56.44	58.50	172.13	57.38
		600	72.64	69.14	70.13	211.91	70.64
		700	79.34	76.94	76.07	232.35	77.45
		800	84.05	82.11	82.95	249.11	83.04
		900	88.19	86.95	87.96	263.10	87.70
		1000	91.70	89.75	91.01	272.46	90.82
		100 % DMSO	91.59	91.47	91.99	275.05	91.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	47463.191(a)	19	2498.063	989.949	.000
Intercept	213622.180	1	213622.180	84655.649	.000
<u>treatment</u>	<u>47463.191</u>	<u>19</u>	<u>2498.063</u>	<u>989.949</u>	<u>.000</u>
Error	100.937	40	2.523		
Total	261186.308	60			
Corrected Total	47564.128	59			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 989.949 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-7 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treatment	N	Subset											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
24h 0	3	.0000											
48h 0	3	.0000											
24h 300	3		25.8133										
48h 300	3			31.6833									
24h 400	3				34.6933								
24h 500	3					46.1700							
48h 400	3					47.7467							
24h 600	3						56.8500						
48h 500	3						57.3767						
24h 700	3							66.7800					
48h 600	3								70.6367				
24h 800	3								72.6833				
48h 700	3									77.4500			
24h 900	3									79.3267			
48h 800	3										83.0367		
24h 1000	3										85.0933	85.0933	
48h 900	3											87.7000	
24h 100 % DMSO	3											87.8333	
48h 1,000	3												90.8200
48h 100 % DMSO	3												91.6833
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.231	.687	1.000	.122	.156	.121	.051	.509

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.523.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00^{a}	0.00^{a}
300	25.81^{b}	31.68^{c}
400	34.69^{d}	47.75^{e}
500	46.17^{e}	57.38^{f}
600	56.85^{f}	70.64^{h}
700	66.78^{g}	77.45^{i}
800	72.68^{h}	83.04^{j}
900	79.33^{i}	87.70^{k}
1,000	85.09^{jk}	90.82^{l}
100 % DMSO	87.83^{k}	91.68^{l}

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

ตารางที่ ข-9 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
เอทานอล	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		400	7.20	8.05	3.96	19.21	6.40
		800	23.53	21.20	16.47	61.20	20.40
		1000	35.19	37.17	32.23	104.59	34.86
		1200	48.33	48.43	44.31	141.07	47.02
		1400	61.32	62.50	62.97	186.79	62.26
		1600	75.59	79.25	75.83	230.67	76.89
		100 % DMSO	89.72	90.12	88.91	268.75	89.58
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		400	21.29	26.68	29.43	19.21	25.80
		800	40.32	33.91	37.37	111.60	37.20
		1000	48.90	47.92	49.63	146.45	48.82
		1200	59.88	58.06	60.26	178.20	59.40
		1400	72.28	71.05	73.29	216.62	72.21
		1600	85.20	84.53	84.93	254.66	84.89
		100 % DMSO	94.19	93.64	91.62	279.45	93.15

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-10 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44282.533(a)	15	2952.169	701.227	.000
Intercept	107982.932	1	107982.932	25649.127	.000
treatment	44282.533	15	2952.169	701.227	.000
Error	134.720	32	4.210		
Total	152400.186	48			
Corrected Total	44417.254	47			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 701.227 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-11 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treatmemt	N	Subset											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
24 h0	3	.0000											
48 h0	3	.0000											
24 h400	3		6.4033										
24 h800	3			20.4000									
48 h400	3				25.8000								
24 h1000	3					34.8633							
48 h800	3					37.2000							
24 h1200	3						47.0233						
48 h1000	3						48.8167						
48 h1200	3							59.4000					
24 h1400	3							62.2633					
48 h1400	3								72.2067				
24 h1600	3									76.8900			
48 h1600	3										84.8867		
24 h100% DMSO	3											89.5833	
48 h 100%DMSO	3												93.1500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.173	.292	.097	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.210.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HA-E1	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
400	6.40[b]	25.80[d]
800	20.40[c]	37.20[e]
1000	34.86[e]	48.82[f]
1200	47.02[f]	59.40[g]
1400	62.26[g]	72.21[h]
1600	76.89[i]	84.89[j]
100% DMSO	89.58[k]	93.15[l]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทะละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ข-13 ผลการทดสอบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทะละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	311.92	324.57	328.94	965.43	321.81	271.14	273.56	276.08	820.78	273.59
ไดคลอโรมีเทน	559.56	555.11	552.64	1667.31	555.77	465.00	465.82	458.07	1388.89	462.96
เอทานอล	1,207.80	1,180.93	1,245.29	3,634.02	1,211.34	975.34	995.20	958.10	2,928.64	976.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตั้งสมมติฐาน

H_0: ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)ที่ทำให้เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ตายร้อยละ50 ไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)ที่ทำให้เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ตายร้อยละ 50 อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-14 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CC_{50}

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2139478.762(a)	5	427895.752	1706.707	.000
Intercept	7226423.428	1	7226423.428	28823.343	.000
treatment	2139478.762	5	427895.752	1706.707	.000
Error	3008.571	12	250.714		
Total	9368910.762	18			
Corrected Total	2142487.334	17			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 1,767.707 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ตายร้อยละ 50 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-15 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างชนิดของสารและเวลาบ่ม โดยวิธีของดันแคนโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treat	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
48h hexane	3	273.5933					
24h hexane	3		321.8100				
48h dichloromethane	3			462.9633			
24h dichloromethane	3				555.7700		
48h ethanol	3					976.2133	
24h ethanol	3						1211.3400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 250.714.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ข-16 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)*									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	311.92	324.57	328.94	965.43	321.81[b]	271.14	273.56	276.08	820.78	273.59[a]
ไดคลอโรมีเทน	559.56	555.11	552.64	1667.31	555.77[d]	465.00	465.82	458.07	1388.89	462.96[c]
เอทานอล	1207.80	1180.93	1245.29	3634.02	1211.34[f]	975.34	995.20	958.10	2928.64	976.21[e]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองต่อเซลล์ไลน์ Sf9

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ตารางที่ ข-17 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
เฮกเซน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		150	10.67	13.99	10.61	35.27	11.76
		200	29.73	23.06	20.99	73.78	24.59
		250	38.25	38.38	36.92	113.55	37.85
		300	48.39	48.61	47.65	144.65	48.22
		350	58.18	59.30	61.03	178.51	59.50
		400	75.97	74.61	80.79	231.37	77.12
		100 % DMSO	91.30	91.49	90.34	273.13	91.04
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		150	21.55	18.27	21.11	60.93	20.31
		200	29.16	25.74	30.33	85.23	28.41
		250	44.43	46.20	45.54	136.17	45.39
		300	62.51	59.01	62.08	183.60	61.20
		350	67.60	67.25	70.68	205.53	68.51
		400	79.78	75.61	79.81	235.20	78.40
		100 % DMSO	94.48	92.81	92.79	280.08	93.36

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-18 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	42325.431(a)	15	2821.695	726.555	.000
Intercept	104253.521	1	104253.521	26844.125	.000
treatment	42325.431	15	2821.695	726.555	.000
Error	124.277	32	3.884		
Total	146703.229	48			
Corrected Total	42449.708	47			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 726.555 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-19 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treat	N	Subset										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
24h 0	3	.0000										
48h 0	3	.0000										
24h 150	3		11.7567									
48h 150	3			20.3100								
24h 200	3				24.5933							
48h 200	3					28.4100						
24h 250	3						37.8500					
48h 250	3							45.3900				
24h 300	3							48.2167				
24h 350	3								59.5033			
48h 300	3								61.2000			
48h 350	3									68.5100		
24h 400	3										77.1233	
48h 400	3										78.4000	
24h 100 % DMSO	3											91.0433
48h 100 % DMSO	3											93.3600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.089	.300	1.000	.433	.160

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.884.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-20 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเฮกเซน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00^{a}	0.00^{a}
150	11.76^{b}	20.31^{c}
200	24.59^{d}	28.41^{e}
250	37.85^{f}	45.39^{g}
300	48.22^{g}	61.20^{h}
350	59.50^{h}	68.51^{i}
400	77.12^{j}	78.40^{j}
100% DMSO	91.04^{k}	93.36^{k}

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ตารางที่ ข-21 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทนต่อเซลล์ไลน์ Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไดคลอโรมีเทน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		300	15.96	13.18	17.66	46.80	15.60
		400	32.59	31.34	34.33	98.26	32.75
		500	48.60	45.06	47.19	140.85	46.95
		600	62.14	65.19	59.55	186.88	62.29
		700	71.33	74.90	69.70	215.93	71.98
		800	80.69	83.28	79.36	243.33	81.11
		900	83.56	88.62	87.60	259.78	86.59
		1000	90.95	92.15	90.93	274.03	91.34
		100 % DMSO	91.97	90.41	90.80	273.18	91.06
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		300	32.43	32.24	23.70	88.37	29.46
		400	47.63	46.64	44.67	138.94	46.31
		500	59.11	58.62	59.26	176.99	59.00
		600	68.63	68.36	69.74	206.73	68.91
		700	78.34	78.36	78.26	234.96	78.32
		800	85.90	84.94	87.91	258.75	86.25
		900	91.19	92.20	89.87	273.26	91.09
		1000	93.99	94.64	92.02	280.65	93.55
		100 % DMSO	93.65	92.61	92.08	278.34	92.78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตั้งสมมติฐาน

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-22 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	56077.218(a)	19	2951.433	821.934	.000
Intercept	225219.943	1	225219.943	62720.684	.000
treatment	56077.218	19	2951.433	821.934	.000
Error	143.634	40	3.591		
Total	281440.795	60			
Corrected Total	56220.852	59			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 821.934 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-23 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treatment	N	Subset										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
24h 0	3	.0000										
48h 0	3	.0000										
24h 300	3		15.6000									
48h 300	3			29.4567								
24h 400	3				32.7533							
48h 400	3					46.3133						
24h 500	3					46.9500						
48h 500	3						58.9967					
24h 600	3							62.2933				
48h 600	3								68.9100			
24h 700	3								71.9767			
48h 700	3									78.3200		
24h 800	3									81.1100		
48h 800	3										86.2500	
24h 900	3										86.5933	
24h 100%DMSO	3											91.0600
48h 900	3											91.0867
24 h1000	3											91.3433
48h 100 % DMSO	3											92.7800
48h 1,000	3											93.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.683	1.000	1.000	.054	.079	.826	.159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.591.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-24 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นไดคลอโรมีเทน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
300	15.60[b]	29.46[c]
400	32.75[d]	46.31[e]
500	46.95[e]	59.00[f]
600	62.29[g]	68.91[h]
700	71.98[h]	78.32[i]
800	81.11[i]	86.25[j]
900	86.59[j]	91.09[k]
1,000	91.34[k]	93.55[k]
100 % DMSO	91.06[k]	92.78[k]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์ Sf9

ตารางที่ ข-25 ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอลต่อเซลล์ไลน์Sf9 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ระยะเวลาบ่ม ชั่วโมง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ			รวม	เฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
เอทานอล	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		400	10.02	9.04	7.92	26.98	8.99
		800	20.65	25.20	21.13	66.98	22.33
		1000	34.18	40.97	34.10	109.25	36.42
		1200	44.80	47.70	47.89	140.39	46.80
		1400	54.62	56.74	63.57	174.93	58.31
		1600	74.07	77.13	76.45	227.65	75.88
		100 % DMSO	88.00	85.21	88.35	261.56	87.19
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		400	10.17	11.09	8.24	26.98	9.83
		800	30.58	31.05	28.94	90.57	30.19
		1000	45.41	46.68	45.86	137.95	45.98
		1200	63.28	64.11	65.64	193.03	64.34
		1400	74.17	78.80	74.01	226.98	75.66
		1600	84.71	86.30	88.23	259.24	86.41
		100 % DMSO	92.12	90.04	93.67	275.83	91.94

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0 : ค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-26 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	46537.039(a)	15	3102.469	686.219	.000
Intercept	102752.715	1	102752.715	22727.350	.000
treatment	46537.039	15	3102.469	686.219	.000
Error	144.675	32	4.521		
Total	149434.429	48			
Corrected Total	46681.715	47			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 686.219 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการตายเซลล์ไลน์ Sf9 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-27 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างความเข้มข้น โดยวิธีของดันแคนโดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

treat	N	Subset										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
24h 0	3	.0000										
48h 0	3	.0000										
24h 400	3		8.9933									
48h 400	3		9.8333									
24h 800	3			22.3267								
48h 800	3				30.1900							
24h 1,000	3					36.4167						
48h 1,000	3						45.9833					
24h 1,200	3						46.7967					
24h 1,400	3							58.3100				
48h 1,200	3								64.3433			
48h 1,400	3									75.6600		
24h 1,600	3									75.8833		
48h 1,600	3										86.4133	
24h 100 % DMSO	3										87.1867	
48h 100 % DMSO	3											91.9433
Sig.		1.000	.632	1.000	1.000	1.000	.643	1.000	1.000	.898	.659	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.521.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-28 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้นเอทานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Sf9	
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง	บ่มนาน 48 ชั่วโมง
0	0.00[a]	0.00[a]
400	8.99[b]	9.83[b]
800	22.33[c]	30.19[d]
1,000	36.42[e]	45.98[f]
1,200	46.80[f]	64.34[g]
1,400	58.31[h]	75.66[i]
1,600	75.88[i]	86.41[j]
100% DMSO	87.19[j]	91.94[k]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ข-29 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทะละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นที่เป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	301.77	304.78	300.02	906.57	302.19	266.62	276.46	263.04	806.12	268.71
ไดคลอโรมีเทน	538.10	531.59	537.52	1,607.21	535.74	455.08	457.56	471.49	1384.13	461.38
เอทานอล	1,270.69	1,196.20	1,204.17	3,671.06	1,223.69	1,019.24	993.25	1,009.18	3,021.67	1,007.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตั้งสมมติฐาน

H_0: ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)ที่ทำให้เซลล์ไลน์ Sf9 ตายร้อยละ 50 ไม่แตกต่างกัน

H_1 : มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)ที่ทำให้เซลล์ ไลน์ Sf9 ตายร้อยละ 50 อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-30 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลายทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: cytotoxicity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2310039.941(a)	5	462007.988	1393.045	.000
Intercept	7215896.583	1	7215896.583	21757.341	.000
treatment	2310039.941	5	462007.988	1393.045	.000
Error	3979.841	12	331.653		
Total	9529916.365	18			
Corrected Total	2314019.782	17			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 1,393.045 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ Sf9 ตายร้อยละ 50 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในชั้น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ตามลำดับ เมื่อบ่มนาน 24 และ48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2) เปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-31 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างชนิดของสารและเวลาบ่ม โดยวิธีของดันแคนโปรแกรม SPSS14.0 for window

treatment	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
48 h hexane	3	268.7067					
24 h hexane	3		302.1900				
48 h dichloromethane	3			461.3767			
24 h dichloromethane	3				535.7367		
48 h ethanol	3					1007.2233	
24 h ethanol	3						1223.6867
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 331.653.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ข-32 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบบานบุรีเหลืองในตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบในตัวทำละลาย	ความเข้มข้นเป็นพิษเบื้องต้นต่อเซลล์ไลน์ Sf9 ร้อยละ 50 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)*									
	บ่มนาน 24 ชั่วโมง					บ่มนาน 48 ชั่วโมง				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย
เฮกเซน	301.77	304.78	300.02	906.57	302.19[b]	266.62	276.46	263.04	806.12	268.71[a]
ไดคลอโรมีเทน	538.10	531.59	537.52	1,607.21	535.74[d]	455.08	457.56	471.49	1384.13	461.38[c]
เอทานอล	1,270.69	1,196.20	1,204.17	3,671.06	1,223.69[f]	1,019.24	993.25	1,009.18	3,021.67	1,007.22[e]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้