สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

การศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดต่อเซลล์ไลน์ L929

นายพีร์ ชุมแสง

นางสาวลัดดา สุบิน

ปพ
พ7911ก
2550

เลขทะเบียน 83996
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11975386
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on Cytotoxicity of some Insecticides to L929 Cell Line

Mr. Pee Chumsang

Miss Ladda Subin

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 การศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิด ต่อเซลล์ไลน์ L929

นักศึกษา นายพีร์ ชุมแสง รหัส 47050147

นางสาวลัดดา สุบิน รหัส 47050151

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชรราวัลย์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม	
กรรมการ	ผศ.ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์	
กรรมการ	ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิด
ต่อเซลล์ไลน์ L929

นักศึกษา นายพีร์ ชุมแสง รหัส 47050147
นางสาวลัดดา สุบิน รหัส 47050151

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา พ.ศ. 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชรวาลย์

บทคัดย่อ

การทดสอบความเป็นพิษของสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (ไซเพอร์เมทริน และแลมด้า-ไซฮาโลทริน) และสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 ผลความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารทั้งสามชนิด ตรวจหาได้จากการย้อมสีนิวทรัลเรด หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ความเป็นพิษที่ได้นี้นำมาหาค่า CC_{50} (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยวิเคราะห์จากกรีเกรซชั่นเส้นตรง

ค่า CC_{50} ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 913.13, 2,252.60 และ 4,238.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และหลังจากบ่มเซลล์นาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 914.12, 1,936.90 และ 3,795.97 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าไซเพอร์เมทริน มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 สูงกว่าแลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ทั้งนี้พิจารณาจากค่า CC_{50} ค่าความเป็นพิษนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นสูงของสารทั้งสามชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์จะเป็นดัชนีของความเข้มข้นที่ควรจะนำไปใช้ในสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title Study on cytotoxicity of some insecticides to L929 cell line

Student Mr. Pee Chumsang Student ID. 47050147

Miss Ladda Subin Student ID. 47050151

Program Biotechnology

Department Applied Biology

Academic Year 2007

Project Advisor Asst. Prof. Dr. Ounruan Petcharawan

ABSTRACT

The cytotoxicity of the synthetic pyrethroids (cypermethrin and lambda-cyhalothrin) and methanolic extract of chrysanthemum flowers was performed *in vitro* on L929 cell line. The cytotoxic effect of three samples obtained by neutral red (NR) assay, after 24 and 48 h of inoculum. The cytotoxic activity, represented as CC_{50} (μg/ml) values, were calculated by linear regression analysis.

The values of CC_{50} of cypermethrin, lambda-cyhalothrin and methanolic extrac of chrysanthemum flowers against L929 cell line after 24 h of exposure were 913.13, 2,252.60 and 4,238.06 μg/ml, respectively and after 48 h of exposure were 914.12, 1,936.90 and 3,795.97 μg/ml, respectively. The results showed that cypermethrin exhibited more cytotoxic effect than lambda-cyhalothrin and methanolic extract of chrysanthemum flowers on L929 cell line according to CC_{50}. The toxicity was indicated that at high concentration of three samples, which would be the index for further recommended concentration use in the environment.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสามารถลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร อุ่นเรือน เพชรวัลย์ เป็นอย่างสูงที่คอยให้ความรู้และความช่วยเหลือโครงงานพิเศษจนเสร็จสมบูรณ์ ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ ผศ. ผศ. ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ได้ความกรุณาและช่วยอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร และคุณอนิทัศน์ ทองจันทร์ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับใช้ในการทดลองโครงงานพิเศษครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ตลอดจนเพื่อนๆทุกคน ที่มีส่วนในการช่วยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จไปได้ด้วยดี

นายพีร์ ชุมแสง
นางสาวลัดดา สุบิน
มีนาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 สารกำจัดแมลง	4
2.1.1 ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง แบ่งตามโครงสร้างทางเคมี	4
2.1.2 ไพรีทรัม (pyrethrum)	4
2.1.3 ไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (synthetic pyrethroid)	5
2.2 ดอกเบญจมาศ (pyrethrum)	6
2.3 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity test) โดยวิธีนิวทรัลเรด	7
2.3.1 นิวทรัลเรด (neutral red)	7
2.3.2 การทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธีนิวทรัลเรด (Neutral Red Assay)	8
2.4 เซลล์ไลน์ L929 (L929 cell line)	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	10
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ	10
3.1.1 เซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)	10
3.1.2 อุปกรณ์	10
3.1.3 สารเคมี	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.2 การเตรียมสารที่ต้องการทดสอบความเป็นพิษ 11

3.2.1 สารเคมีฆ่าแมลง 11

3.2.2 สารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล 12

3.3 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) 13

3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ในขวดเพาะเลี้ยง 14

3.5 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ L929 โดยการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay) 14

3.5.1 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรดร้อยละ 0.4 14

3.5.2 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรดสำหรับย้อมเซลล์โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่อยู่ในอาหารเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 15

3.5.3 เตรียมสารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีด้วยนิวทรัลเรด (formal-calcium) 15

3.5.4 เตรียมสารละลายสำหรับละลายสีที่ติดอยู่ในเซลล์ 15

3.5.5 การย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรดเพื่อหาความเป็นพิษต่อเซลล์ 15

3.5.6 การคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษ 18

3.6 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS14.0 for window 18

3.6.1 แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomize Design, CRD) 18

3.6.2 เปรียบทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยวิธีดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test) 18

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 19

4.1 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity Test) ของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ L929 โดยการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral Red assay) 19

4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 19

4.1.2 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 21

4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.2 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล 25

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 29

เอกสารอ้างอิง 31

ภาคผนวก 34

ภาคผนวก ก ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทรินและสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทธานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 34

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 59

1. การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) 59

2. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์โดยวิธีของดันแคน 60

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

4.1 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 20

4.2 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 22

4.3 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง และผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window 24

4.4 ค่าความเป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 และผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดันแคน โปรแกรม SPSS 14.0 for window 26

ก-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 34

ก-2 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 34

ก-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 35

ก-4 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 36

ก-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 37

ก-6 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ก-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 38
ก-8 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 38
ก-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 39
ก-10 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 40
ก-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)41
ก-12 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 41
ก-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 42
ก-14 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 42
ก-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 43
ก-16 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 44
ก-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 45
ก-18 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 45
ก-19 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ก-20 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 46
ก-21 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 47
ก-22 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 48
ก-23 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 49
ก-24 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 49
ก-25 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 50
ก-26 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 50
ก-27 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 51
ก-28 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 52
ก-29 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 53
ก-30 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ก-31 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 54

ก-32 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 54

ก-33 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 55

ก-34 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 56

ก-35 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 57

ก-36 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 57

ก-37 ความเป็นพิษ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 5

ข-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) 59

ข-2 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 61

ข-3 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 62

ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข-5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 64

ข-6 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 65

ข-7 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 66

ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window 67

ข-9 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 68

ข-10 ร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ไลน์ L929 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศที่ระดับความเข้มข้นต่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เวลาบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง 69

ข-11 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 70

ข-12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window 71

ข-13 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข-14 ความเป็นพิษ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ50 73

ข-15 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยสารไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล บ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง 74

ข-16 ผลการค่าเฉลี่ยความเป็นพิษร้อยละ 50 ระหว่างชนิดของสารและระยะเวลาบ่มโดยวิธีของดันแคน และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window 75

ข-17 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่

2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไพรีทริน I และ II (Pyrethrins I, II), ซิเนอร์ริน I และ II (Cinerin I, II), จาสโมลิน I, II (Jasmolin I, II) 4
2.2 แสดง pyrethrin I เป็น ester ของ pyrethrolone และ chrysanthemic acid ส่วน pyrethrin II เป็น ester ของ pyrethrolone และ pyrethric acid 5
2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไพรีทรอยด์ที่มี alpha cyano group และไม่มี alpha cyano Group 6
2.4 ดอกเบญจมาศ อยู่ในสกุล *Chrysanthemum* ชนิด *C. cinerariaefolium* 7
2.5 นิวทรัลเรด (neutraI red) (3-อะมิโน-7-ไดเมททริลอะมิโน-2-เมทริลฟีนาซีน ไฮโดรคลอไรด์ (3-amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride)) 7
2.6 นิวทรัลเรด (neutral red) ในรูปเกลือคลอไรด์ (chloride salt) 8
2.7 เซลล์ไลน์ L929 หลังการเพาะเลี้ยง 4 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 9
3.1 แผนผังการเติมสารต่างๆในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม 17
4.1 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษไซเพอร์เมทริน 21
4.2 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษ แลมด้า-ไซฮาโลทริน 23
4.3 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล 25
ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 35
ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 36
ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 38
ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่

ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 40

ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 41

ก-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 43

ก-8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 44

ก-9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 45

ก-10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 47

ก-11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 48

ก-12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 49

ก-13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่

ก-14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 52

ก-15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 53

ก-16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1) 55

ก-17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2) 56

ก-18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3) 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันนี้สารเคมีต่างๆได้เข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของมนุษย์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยมนุษย์สังเคราะห์สารเคมีนั้นขึ้นมาเพื่อใช้ในกิจการต่าง ๆ ทั้งที่จำเป็นและไม่จำเป็นมากมายหลายชนิดและมีแนวโน้มที่จะผลิตสารเคมีชนิดใหม่ขึ้นมาเรื่อย ๆ โดยที่ในจำนวนสารเคมีที่ผลิตขึ้นมาใช้ทั้งหมดนี้ได้รวมวัตถุเคมีที่ใช้ในการเกษตรไว้ด้วย วัตถุเคมีที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการเกษตรส่วนใหญ่จัดเป็นวัตถุมีพิษที่มีสูตรต่าง ๆ เป็นสารที่ใช้ป้องกันและกำจัดศัตรูของมนุษย์ สัตว์ และพืช เนื่องจากในปัจจุบันมีศัตรูพืชและสัตว์มากมายที่คอยรบกวนทำลายพืชผลรวมทั้งปศุสัตว์ของเกษตรกรให้เกิดความเสียหาย ดังนั้นจึงทำให้วัตถุมีพิษที่ใช้ในการเกษตรเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อเกษตรกรในบ้านเรา ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมกำลังประสบกับปัญหาเกี่ยวกับอันตรายจากสารเคมีสำหรับฆ่าแมลง หรือการใช้สารปราบศัตรูพืช เนื่องจากยังไม่มี ความรู้ที่เพียงพอในการใช้สารเคมี การป้องกันตนเองและการป้องกันอันตรายแก่ผู้บริโภค เช่น การบริโภค ผลผลิต ที่ยังมีสารเคมี ตกค้างอยู่ การทำความสะอาดไม่ดีเพียงพอ เกิดการสะสมของสารพิษในร่างกายก่อให้ เกิดอันตรายได้ เป็นต้น

ไพรีทรอยด์ (Pyrethroids) เป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์ มีคุณสมบัติเหมือนสารกลุ่มไพรีทริน (Pyrethrin) ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากดอกเบญจมาศ (pyrethrum) ที่กำลังบาน เป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Chrysanthemum* โดยพยายามปรับเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลเพื่อให้ได้สารที่มีคุณสมบัติบางอย่างที่ต้องการเพิ่มขึ้น เช่น มีความคงทนต่อแสงเพิ่มขึ้น ทำให้แมลงหยุดการเคลื่อนไหวเร็วขึ้น มีพิษในการฆ่าแมลงสูงขึ้น และมีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำลง กลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroids) มีผลต่อระบบประสาทโดยตรงต่อเยื่อหุ้มปลายประสาทแอกซอน (axonal membrane) ทำให้การไหลเข้าออกของประจุ (ion) ผิดปกติ การไหลเข้าของโปรตีนลดน้อยลงขณะเดียวกันโปแตสเซี่ยมไม่สามารถไหลออกได้ ทำให้ศักย์ทำงาน(action potential) ของเส้นประสาทลดลง เส้นประสาทจะถูกกระตุ้นตลอดเวลา ทำให้แมลงมีอาการกระวนกระวายและตกลงบนพื้น เป็นอัมพาตและตายในเวลาต่อมา (ลักขณา, 2544)

ไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) สามารถเข้าสู่ร่างกายคนและสัตว์ได้โดยการกินเข้าไปหรือหายใจเข้าไป แต่เข้าทางผิวหนังได้น้อยมาก โดยละลายได้ดีในไขมัน มีการดูดซึมได้ดี ไม่ว่าจะให้โดยการกิน ผ่านทางผิวหนัง หรือดูดซึมผ่านทางปอด โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบพิษของสารที่สกัดจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลเปรียบเทียบกับสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (synthetic pyrethroid) 2 ชนิด คือ ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin) และแลมด้า-ไซฮาโลทริน (lamda-cyhalothrin) ต่อเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ในหลอดทดลองซึ่งเป็นตัวแทนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมถึงมนุษย์ด้วยโดยวิธีการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red Assay) เพื่อต้องการทราบความเข้มข้นที่เป็นพิษของสารเคมีฆ่าแมลงทั้งสองชนิดดังกล่าว และสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่มีต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพื่อเป็นแนวทางในการใช้สารเคมีฆ่าแมลงได้อย่างปลอดภัยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล เปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ 2 ชนิด คือไซเพอร์เมทรินและแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่มีต่อเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929 cell linc)

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่มีต่อเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929 cell line)

1.3.2 เพื่อศึกษาความเป็นพิษของ ไซเพอร์เมททรินและแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่มีต่อเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929 cell line)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษของสารฆ่าแมลงที่สกัดได้จากธรรมชาติเปรียบเทียบผลของความเป็นพิษนั้นกับสารเคมีที่ใช้กำจัดแมลงในกลุ่มเดียวกัน ต่อเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929 cell line) ในหลอดทดลอง เพื่อเป็นแนวในการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญต่อเกษตรกรและผู้ใช้สารเคมี ได้อย่างปลอดภัย

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัย มีขั้นตอนดังนี้

1.5.1 เตรียมสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

1.5.2 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์L929 ในที่นี้ใช้อาหาร RPMI 1640 หรือ Dulbecco's Modification of Eagle's Medium (DMEM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5.3 เพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์L929 ในขวดทดลอง

1.5.4 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบหยาบดอกเบญจมาศต่อเซลล์ไลน์ L929 โดยใช้วิธีการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red (NR) assay)

1.5.5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สารกำจัดแมลง

2.1.1 ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง แบ่งตามโครงสร้างทางเคมี

2.1.1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine)

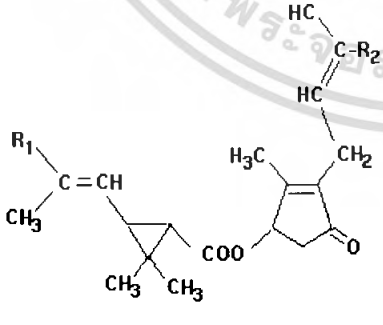
2.1.1.2 สารออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate)

2.1.1.3 กลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate)

2.1.1.4 กลุ่มไพรีทรัม และสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ (Pyrethrum and Pyerthroides)

2.1.2 ไพรีทรัม (pyrethrum)

ไพรีทรัม (pyrethrum) เป็นสารเคมีกำจัดแมลงจากธรรมชาติ (natural insecticide) สกัดได้จากดอกเบญจมาศ ซึ่งเป็นพืชชนิด *Chrysanthemum cinerariaefolium* โดยไพรีทรัมถูกใช้เป็นสารกำจัดแมลงอย่างกว้างขวาง สารออกฤทธิ์ในไพรีทรัมได้แก่ ไพรีทรินที่สกัดได้จากดอกไม้พวกดอกเบญจมาศ ซึ่งมีองค์ประกอบของสารเคมี 6 ชนิด คือ ซิเนอร์ริน I (cinerin I) ซิเนอร์ริน II (cinerin II) ไพรีทริน I (pyrithrin I) ไพรีทริน II (Pyrethrin II) จาสโมลิน I (jasmolin I) และ จาสโมลิน II (jasmolin II) ดังรูปที่ 2.1 ใช้เป็นสารฆ่าแมลงโดยให้สัมผัสกับตัวแมลง ใช้ในรูปที่เป็นผงหรือในรูปฉีดพ่น โดยละลายส่วนสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม เช่น อาซีโตน คลอโรฟอร์ม แอลกอฮอล์ น้ำมันก๊าด หรืออีเทอร์แล้วใช้ฉีดพ่น (www.free.de/WiLa/derik/Insektizide.Teil5.html; Mitchell *et al*., 1972; Kekko, 2004)



	R1	R2
Pyrethrin I	$-CH_3$	$-CH=CH_2$
Pyrethrin II	$-COOCH_3$	$-CH=CH_2$
Cinerin I	$-CH_3$	$-CH_3$
Cinerin II	$-COOCH_3$	$-CH_3$
Jasmolin I	$-CH_3$	$-CH_2-CH_3$
Jasmolin II	$-COOCH_3$	$-CH_2-CH_3$

รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไพรีทริน I และ II (Pyrethrins I, II), ซิเนอร์ริน I และ II (Cinerin I, II), จาสโมลิน I, II (Jasmolin I, II)

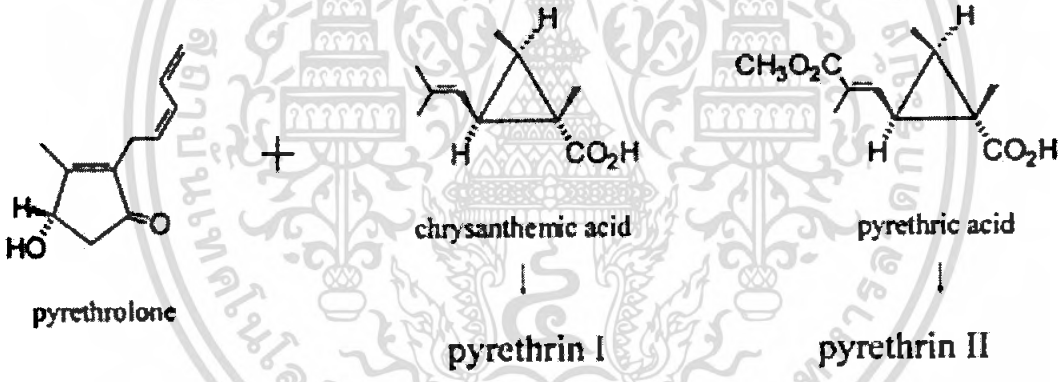
ที่มา: www.free.de/WiLa/derik/Insektizide.Teil5.html; http://extoxnet.orst.edu/pips/pyrethri.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพรีทริน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีศักยภาพในการฆ่าแมลง มี 2 ชนิด คือ Pyrethrin I และ Pyrethrin II มีพิษต่อประสาท (neurotoxin) มีพิษสูงต่อปลา แต่มีพิษต่ำกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก เมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ชนิดอื่น ไพรีทรินเป็นสารที่ไม่คงทนต่อสภาพแวดล้อม และสลายตัวง่ายเมื่อถูกแสง หรือออกซิเจน สำหรับมนุษย์ไพรีทรินอาจทำให้เกิดความระคายเคืองที่ตา ผิวหนัง ระบบทางเดินหายใจ (http://en.wikipedia.org/wiki/Pyrethrin) อย่างไรก็ตาม ไพรีทรินเป็นสารที่ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังชั้น dermis ได้ช้ามาก ดังนั้นจึงตกค้างอยู่ที่ epidermis เป็นส่วนใหญ่ (Ray and Forshow, 2000)

2.1.3 ไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (synthetic pyrethroid)

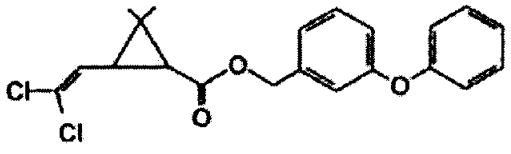
ไพรีทรอยด์ เป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์เลียนแบบโครงสร้างพื้นฐานของสารไพรีทริน ซึ่งสกัดจากดอกไพรีทรัม มีคุณสมบัติคล้ายกับสารกลุ่มไพรีทริน มีฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงเช่นเดียวกัน แต่สลายตัวได้ยากกว่ากลุ่มไพรีทริน สารกลุ่มไพรีทรอยด์มี 2 ชนิด คือ pyrethrin I และ pyrethrin II



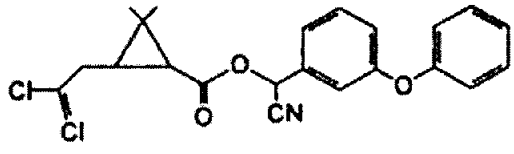
รูปที่ 2.2 แสดง pyrethrin I เป็น ester ของ pyrethrolone และ chrysanthemic acid ส่วน pyrethrin II เป็น ester ของ pyrethrolone และ pyrethric acid
ที่มา : Davies, 1985

การแบ่งกลุ่มไพรีทรอยด์ออกเป็น 2 ชนิด Pyrethroid Type 1 และ Pyrethroid Type II โดยแบ่งตามอาการที่ปรากฏในสัตว์ทดลอง ที่ได้รับสารในระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษเฉียบพลัน Pyrethroid Type I ได้แก่ pyrethrin และ permethrin เป็นกลุ่มที่ไม่มี alpha cyano group ขณะที่ Pyrethroid Type II เป็นกลุ่มที่มี alpha cyano group ได้แก่ cypermethrin และ fenvalerate (Kekko, 2004) และพบว่า Pyrethroid Type II มีศักยภาพในการฆ่าแมลงได้ดีกว่า Pyrethroid Type I เพราะว่ามี alpha cyano group ในสูตรโครงสร้าง (Vijverberg et al., 1982; Glickman and Casida, 1982; Holloway et al., 1989; Tabarean and Narahashi, 1998)

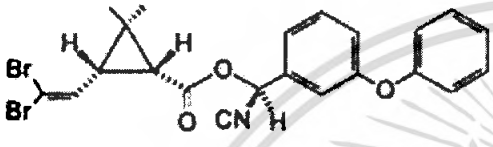
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



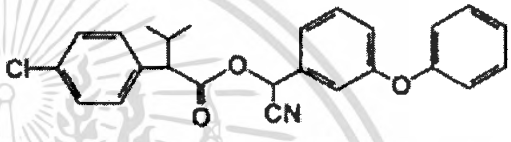
permethrin



cypermethrin



deltamethrin



fenvalerate

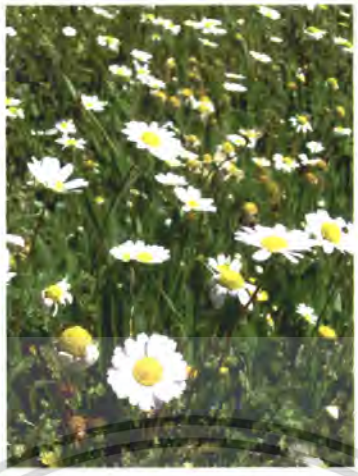
รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไพรีทรอยด์ที่มี alpha cyano group และไม่มี alpha cyano group ที่มา : Kekko (2004)

2.2 ดอกเบญจมาศ (pyrethrum)

เบญจมาศ (pyrethrum) เป็นไม้ดอกทรงพุ่มเตี้ย ดอกสีเหลืองหรือขาว อยู่ในสกุล *Chrysanthemum* ชนิด *C. cinerariaefolium* (รูปที่ 2.4) จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นพืชล้มลุกที่ชอบอากาศหนาวเย็น สารที่ออกฤทธิ์จะในการฆ่าแมลงอยู่ในดอก ซึ่งที่ดอกจะให้ปริมาณสารมากที่สุด จะอยู่ในช่วงที่ดอกบานได้ 2 ใน 3 หรือ ระยะใน 3 สัปดาห์ แล้วนำไปทำให้แห้งเมื่อนำดอกไพรีทรัมตากแห้งมาสกัด จะได้สารไพรีทริน ที่มีคุณสมบัติ เป็นสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพสูง เป็นสารกำจัดแมลงประเภทที่ทำให้แมลงตายเมื่อ เนื่องจากสารชนิดนี้เป็นลิโปฟิลิค เอสเทอร์ จึงถูกดูดซึมเข้าสู่ตัวแมลงอย่างรวดเร็ว และส่งผลต่อระบบประสาทของแมลงโดยตรง

Ukiya *et al.* (2002) รายงานการสกัดดอกเบญจมาศชนิดที่รับประทานได้ (edible *Chrysanthemum* flower) ได้สาร amidiol ซึ่งเป็น triterpene มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง นอกจากนี้เมื่อสกัดดอกและใบเบญจมาศชนิด *Chrysanthemum trifurcatum* ด้วยเมทานอล สารที่พบคือ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ จากนั้นนำไปทดสอบการต้านไวรัส โดยฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งไวรัสได้ (Kaul *et al.*, 1985; Amoros *et al.*, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



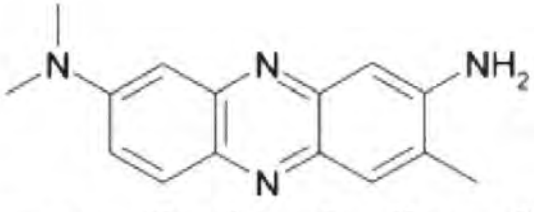
รูปที่ 2.4 ดอกเบญจมาศ อยู่ในสกุล *Chrysanthemum* ชนิด *C. cinerariaefolium*

ที่มา: http://www.ekoses.com/ekolojikyasamportali/ekogaleri/upload/nature/camomile.jpg

2.3 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity test) โดยวิธีนิวทรัลเรด

2.3.1 นิวทรัลเรด (neutral red)

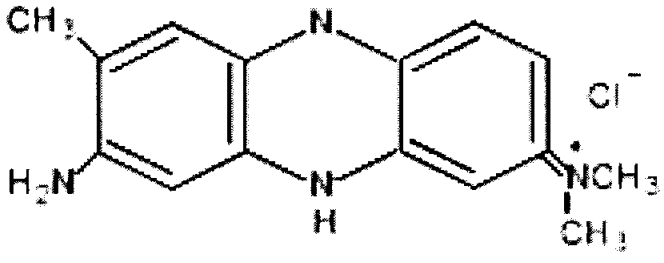
นิวทรัลเรด (neutral red) (3-อะมิโน-7-ไดเมททริลอะมิโน-2-เมทริลฟีนาซีน ไฮโดรคลอไรด์ (3-amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride)) หรือ toluylene red (systematic name) หรือ Basic Red 5 สูตรเคมี $C_{15}H_{17}ClN_4$ แสดงโครงสร้างดังรูป 2.4 คือ สามารถย้อมติดสีของเซลล์ที่มีชีวิตได้ ซึ่งนำมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์รวมไปถึง การนำมาหาค่า plaque titration ของไวรัส นิวทรัลเรดที่ถูกเติมลงในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือแบคที่เรียจะอยู่ในรูปเกลือคลอไรด์(chloride salt) (รูปที่ 2.5)นิวทรัลเรดทำหน้าที่เป็นตัวชี้วัดความเป็นกรดด่างได้ (pH indicator) โดยสามารถเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลืองที่ช่วงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 6.8-8.0



รูป 2.5 นิวทรัลเรด (neutral red) (3-อะมิโน-7-ไดเมททริลอะมิโน-2-เมทริลฟีนาซีน ไฮโดรคลอไรด์ (3-amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride))

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป 2.6 นิวทรัลเรด (neutral red) ในรูปเกลือคลอไรด์ (chloride salt)
ที่มา: http://www.ib.amwaw.edu.pl/invittox/prot/64.htm

2.3.2 การทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธีนิวทรัลเรด (Neutral Red Assay)

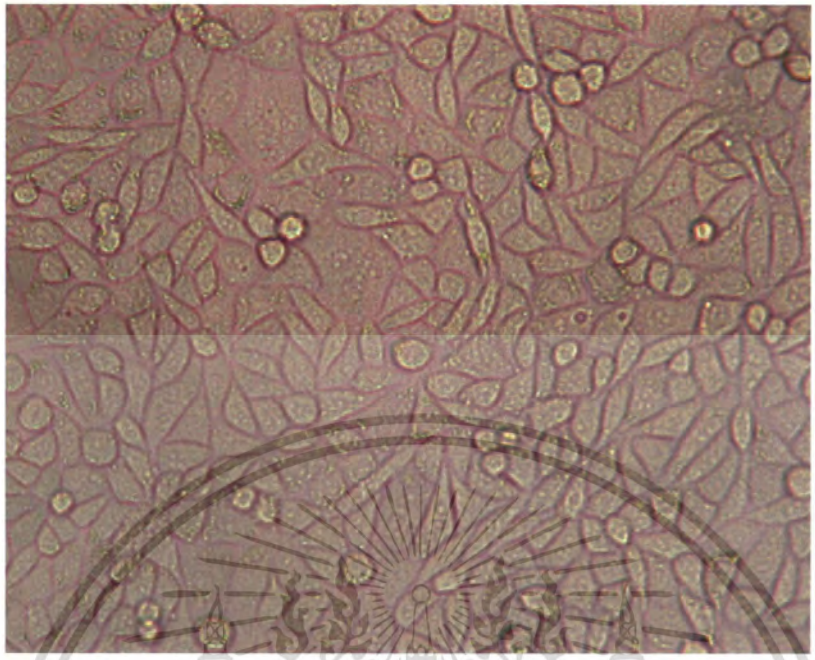
วิธีนิวทรัลเรด (Neutral Red Assay)ใช้เป็นวิธีทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารต่างๆต่อเซลล์ ซึ่งสามารถใช้ในการประเมินความเข้มข้นของสารพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลอง (in vitro) เซลล์ที่มีชีวิตจะสามารถจับกับนิวทรัลเรดได้ โดยนิวทรัลเรดที่มีประจุบวกอย่างอ่อนนั้นจะแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) และมีไปสะสมในไลโซโซม (lysosome) โดยการเข้าไปจับกับประจุลบของสารละลายที่มีอยู่ภายในไลโซโซม (lysosomc methrix) ซึ่งเซลล์ที่ตายแล้วหรือเซลล์ที่ถูกทำลายโดยสารพิษที่มีผลต่อผิวเซลล์และเยื่อหุ้มไลโซโซมมีผลให้นิวทรัลเรดไม่สามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์หรือผนังของไลโซโซมได้ แสดงให้เห็นความแตกต่างของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่กับเซลล์ที่ตายแล้ว เมื่อละลายนิวทรัลเรดที่อยู่ภายในเซลล์ด้วยสารละลายที่เหมาะสมหรือ NR desorb คือ สารละลายอะซิติกร้อยละ1 เอทานอลร้อยละ 50 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

2.4 เซลล์ไลน์ L929 (L929 cell line)

เซลล์ไลน์ L929 ของหนูเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างแบบไฟโบรบลาสต์เรียงตัวชั้นเดียว (monolayer) ลักษณะดังรูปที่ 2.6 เป็นเซลล์นำมาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของหนู โดยเซลล์ไลน์ชนิดนี้ถูกนำมาใช้ในงานต่างๆทางงานด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเซลล์สัตว์ อาทิ เช่น interferon assay, virus tration, tumor necrosis factor assay, virology

เซลล์ไลน์ L929 (L929 cell line) เลี้ยงในอาหาร RPMI 1640 หรือ DMEMวัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสความ เข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 เซลล์ไลน์ L929 หลังการเพาะเลี้ยง 4 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

3.1.1 เซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 กล้องจุลทรรศน์อินเวิร์ตเตต (inverted light microscope)

3.1.2.2 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

3.1.2.3 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (incubator)

3.1.2.4 ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (laminar air flow hood)

3.1.2.5 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.2.6 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -70 องศาเซลเซียส

3.1.2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

3.1.2.7 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.1.2.8 เครื่องดูดสารอัตโนมัติ (automatic pipettor)

3.1.2.9 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)

3.1.2.10 ปิเปตต์แก้ว ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร (pipette)

3.1.2.11 หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)

3.1.2.12 หลอดเก็บเซลล์ที่อุณหภูมิต่ำ (cryotube)

3.1.2.13 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave)

3.1.2.14 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3.1.2.15 ฮีโมไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)

3.1.2.16 ชุดกรองสารและแผ่นกรองขนาด 0.2 และ 0.45 ไมโครเมตร

3.1.2.17 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร (35 mm tissue culture dishes)

3.1.2.18 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

3.1.2.19 ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดพลาสติกพื้นที่ผิวขนาด 25 ตารางเซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 cm^2 tissue culture flask)

3.1.2.20 ขวดสำหรับบรรจุสาร ขนาด 50 100 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.2.21 ไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (microtiter plate reader) และตัวกรอง (filter) 540 นาโนเมตร

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640, DMEM

3.1.3.2 ซีรัม (fetal bovine serum, FBS)

3.1.3.3 เอนไซม์ทริปซิน (0.25 % trypsin / EDTA)

3.1.3.4 นิวทรัลเรด (neutral red)

3.1.3.5 เอทานอล 70% และ 95% (ethanol 70% and 95%)

3.1.3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH)

3.1.3.7 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl)

3.1.3.8 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide, DMSO)

3.1.3.9 สารละลายแฮงค์บาลานซ์ซอล (Hank's balanced salt solution, HBSS)

3.1.3.10 ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin)

3.1.3.11 แลมด้า-ไซฮาโลทริน (*lamda – cyhalothrin)*

3.1.3.12 สารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศ ในชั้นเมทานอล

3.2 การเตรียมสารที่ต้องการทดสอบความเป็นพิษ

3.2.1 สารเคมีฆ่าแมลง

3.2.1.1 ไซเพอร์เมทริน; โมลิคอล 10% w/v EC

3.2.1.1.1 เตรียมสารละลายไซเพอร์เมทรินความเข้มข้น $1x10^5$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Stock solution) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ไซเพอร์เมทริน	10 มิลลิลิตร
น้ำ	90 มิลลลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

3.2.1.1.2 เตรียมสารละลายไซเพอร์เมทรินความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมจากสารละลายไซเพอร์เมทรินความเข้มข้น $1x10^5$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในอาหารที่เติมซีรัมร้อยละ 5 กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

3.2.1.2 แลมด้า-ไซฮาโลทริน; คาราเต้ 2.5 % CS

3.2.1.2.1 เตรียมสารละลายแลมด้า-ไซฮาโลทรินความเข้มข้น $1x10^5$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

แลมด้า-ไซฮาโลทริน; คาราเต้ 2.5 % CS	2.5 มิลลิลิตร
น้ำ	97.5 มิลลลิตร

กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

3.2.1.1.2 เตรียมสารละลายแลมด้า-ไซฮาโลทริน ความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมจากสารละลายแลมด้า-ไซฮาโลทรินความเข้มข้น $1x10^5$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในอาหารที่เติมซีรัมร้อยละ 5 กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

3.2.2 สารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2546)

3.2.2.1 การเตรียมดอกเบญจมาศ

นำดอกเบญจมาศนำมาล้างและผึ่งให้แห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันเมื่อครบกำหนดนำไปชั่งน้ำหนักครั้งที่ 1 และนำไปอบต่อประมาณ 1-2 วันทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ นำดอกเบญจมาศที่อบแห้งมาบดให้เป็นผงละเอียด นำไปชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก

3.2.2.2 การสกัดหยาบด้วยเมทานอลโดยการหมัก (maceration)

นำผงละเอียดของดอกเบญจมาศที่ทราบน้ำหนักแน่นอนห่อด้วยผ้าขาวบางที่ทำการปลอดเชื้อนำไปแช่ในสารละลายเมทานอลในอัตราส่วนผงของดอกเบญจมาศ 1 ส่วนต่อเมทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอล 15 ส่วน ปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์ แล้วเก็บในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน (ระหว่างนั้นให้ทำการเขย่าขวดวันละ 1 ครั้งเพื่อให้สารสกัดละลายในเมทานอล) เมื่อครบระยะเวลาให้นำสารละลายที่ได้ไปทำการระเหยเมทานอล ออกต่อไป

3.2.2.3 การระเหยเมทานอล ออกจากสารสกัดหยาบด้วยเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ (evaporator)

นำสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ได้จากข้อ 3.2.2.2 กรองตะกอนออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้บรรจุในขวดก้นกลม (evaporator flask) ขนาดทำการระเหย เมทานอล ออกโดยเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ เมื่อทำการระเหยเมทานอล ออกหมดแล้วให้ใช้เมทานอล ปริมาณน้อยที่สุดชะสารสกัดที่ติดอยู่ แล้วเก็บสารที่ได้ไว้ในขวดสำหรับเก็บสาร ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ให้ปิดขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์ที่เจาะรูเพียงเล็กน้อยเพื่อให้เมทานอล ที่มีอยู่ระเหยออกให้หมดชั่งน้ำหนักที่ได้จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ของดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

3.2.2.4 เตรียมสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ความเข้มข้น 375, 750, 1,500, 3,000 และ 6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารสกัดหยาบของดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล จากข้อ 3.2.2.3 เติม DMSO 1 มิลลิลิตรทิ้งไว้จนกระทั่งสารสกัดหยาบละลายทั้งหมด หลังจากนั้นนำมาละลายในอาหารที่เติมซีรัมร้อยละ 5 ให้มีความเข้มข้นของ DMSO ไม่เกินร้อยละ 1 กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

3.3 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)

อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 Medium (RPMI 1640) หรือ Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) เติมซีรัม (fetal bovine serum, FBS) ที่กรองแล้วร้อยละ 10 และร้อยละ 5 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (อัจจิมา และ อาทิตยา, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ในขวดเพาะเลี้ยง

นำเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)ที่ทำการเพาะเลี้ยงในขวดพลาสติกพื้นที่ผิวขนาด 25 ตารางเซนติเมตร โดยพิจารณาปริมาณเซลล์ที่กำลังเจริญบนผิวของขวดประมาณร้อยละ 80-90 ของพื้นผิวทั้งหมด สามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ต เซลล์ที่สมบูรณ์มีลักษณะเป็นรูปกระสวยเห็นนิวเคลียสชัดเจน นอกจากนี้ต้องไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ หลังจากนั้นใช้ปิเปตต์ดูดอาหารเก่าอาหารจากขวดเพาะเลี้ยงออก ล้างเซลล์ด้วยสารละลายแฮงค์ (Hank's balanced salt solution, HBSS) ปริมาตร 10 มิลลิลิตรแล้วดูดออก เติมเอนไซม์ทริปซินปริมาตร 1 มิลลิตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-10 นาที สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ตว่าเซลล์หลุดจากพื้นผิวของขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมด ใช้ปิเปตดูดอาหารที่เติมซีรัมร้อยละ 10 ของอาหารเติมลงในขวดเพาะเลี้ยงดูดเซลล์แขวนลอยใส่หลอดปั่นแยกสารทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนออกแล้วเติมอาหารใหม่ซีรัมร้อยละ 10 ทำการดูดสารละลายขึ้น-ลงจนกระทั่งเซลล์ทั้งหมดแขวนลอยแล้วทำการถ่ายเซลล์ลงไปในขวดเพาะเลี้ยงขวดใหม่ นำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 4 วัน สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวอร์ตเซลล์จะเจริญเต็มพื้นผิวของขวดเพาะเลี้ยงถ้าเซลล์เจริญไม่เต็มพื้นผิวให้เปลี่ยนอาหารใหม่แล้วทำการเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 4 วัน จึงทำการถ่ายเซลล์(subculture) สู่ภาชนะใหม่ต่อไป

3.5 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ L929 โดยการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral red assay)

(NPT, 2003; ANIAVA CORPORATION, 2006; ICCVAM, 2006)

3.5.1 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรดร้อยละ 0.4

NR Red (NR) Stock solution

NR dye	0.4 กรัม
น้ำ	100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควรกรองตะกอนก่อนนำมาใช้

3.5.2 เตรียมสารละลายนิวทรัลเรดสำหรับย้อมเซลล์โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่อยู่ในอาหารเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

NR Red (NR) Medium

NR Stock solution	1 มิลลิลิตร
Medium+ 5%FBS	79 มิลลิลิตร

ถ้ามีผลึกต้องปั่นแยกผลึกออกก่อนที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เวลา 10 นาที

3.5.3 เตรียมสารละลายสำหรับล้างและตรึงเซลล์ที่ย้อมสีด้วยนิวทรัลเรด (formal-calcium)

ฟอร์มาลดิไฮด์ (formaldehyde)	ร้อยละ 0.5
แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride)	ร้อยละ 1.0
น้ำ	ร้อยละ 98.5

3.5.4 เตรียมสารละลายสำหรับละลายสีที่ติดอยู่ในเซลล์

Ethanol/Acetic Acid Solution (NR Desorb)

กรดอะซิติก	ร้อยละ 1
เอทานอล (Ethanol)	ร้อยละ 50
น้ำ	ร้อยละ 49

กรณีที่มี Absolute Ethanol เตรียมโดย Absolute Ethanol 50 มิลลิลิตร + กรดอะซิติก 1 มิลลิลิตร + น้ำ 49 มิลลิลิตร และไม่ควรเตรียมไว้นานเกิน 1 ชั่วโมง

3.5.5 การย้อมเซลล์ด้วยสีนิวทรัลเรดเพื่อหาความเป็นพิษต่อเซลล์

3.5.5.1 เตรียมสารที่ต้องการหาความเป็นพิษต่อเซลล์ (ข้อ 3.2)

3.5.5.2 ปลูกเซลล์ L929 จำนวน 2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม (96-well plate) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม (รูปที่ 3.1) บ่มเซลล์ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลล์เซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.5.3 คว่ำจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุมบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ จากนั้นเติมสารที่ต้องการทดสอบความเป็นพิษตามความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม แต่ละความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นทำซ้ำ 4 หลุม บ่มเซลล์ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลล์เซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

3.5.5.4 เมื่อบ่มครบระยะเวลาที่กำหนด เทสารที่ทำการทดสอบทิ้ง โดยคว่ำจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุมลงบนกระดาษซับที่ปลอดเชื้อ จากนั้นเติมสารละลายนิวทรัลเรดความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเซลล์ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.5.5.5 เมื่อบ่มครบระยะเวลาที่กำหนด คว่ำจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุมลงบนกระดาษซับปลอดเชื้อ ทำการล้างและตรึงเซลล์สารละลายนิวทรัลเรด ด้วยสารละลายฟอร์มอล แคลเซียม (formal-calcium) ปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม และคว่ำจานเพาะเลี้ยงบนกระดาษซับปลอดเชื้อ

3.5.5.6 เติมสำหรับละลายสีที่ติดอยู่ในเซลล์ NR Desorb (Ethanol/Acetic Acid Solution) เพื่อสกัดสีออกจากเซลล์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม ทำการเขย่าเป็นเวลา 10 นาทีใส่ในเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

3.5.5.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microtiter plate reader) บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

	b	c	b	c1	c2	c3	c4	c5	b	c	b	p
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

รูปที่ 3.1 แผนผังการเติมสารต่างๆในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม

<u>อธิบาย</u>

b : ไม่เติมสารใดๆ c : เซลล์+ อาหาร

p : เซลล์ + 100% DMSO

c1 - c5 : เซลล์ + สารที่ต้องการทดสอบความเป็นพิษความเข้มข้นต่างๆ (c1 มีความเข้มข้นมากที่สุด, c5 มีความเข้มข้นน้อยที่สุด)

แถว A – D : ทดสอบความเป็นพิษของสารชนิดที่ 1

แถว E – F : ทดสอบความเป็นพิษของสารชนิดที่ 2

83996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.6 การคำนวนหาร้อยละความเป็นพิษ

3.5.6.1 คำนวนค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ค่าของแบลงค์ (blank) เป็นค่าอ้างอิง

คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ – ค่าดูดกลืนแสงของแบลงค์

3.5.6.2 สูตรการคำนวนหาค่าร้อยละความเป็นพิษ

$$\text{ร้อยละความเป็นพิษ} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A = ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มควบคุม

B = ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในสิ่งทดลอง

3.6 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 14.0 for window (ธานินทร์, 2548)

3.6.1 แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomize Design, CRD) (ภาคผนวก ข)

3.6.2 เปรียบทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยวิธีดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test) (สุรพล, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity Test) ของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ L929 โดยการย้อมสีนิวทรัลเรด (Neutral Red assay)

4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 (รูปที่ 4.1)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ 4.1) พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ L929 ในสารไซเพอร์เมทริน ที่ความเข้มข้น 0, 125, 250, 500, 1,000, 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 500-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 36.21-67.47) เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมงและในช่วง 500-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ20.541-73.93) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ภาคผนวก ก) ต่อไป

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ หลังจากบ่มเซลล์ในไซเพอร์เมทรินนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 125 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ-7.39 และ 13.71) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 67.47 และ 75.95) ความเข้มข้น 2,000 และ 100%DMSO ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 75.95 และ 88.25) ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการบ่มเซลล์ในไซเพอร์เมทรินนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่มีความเข้มข้น 125 และ250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 1.00 และ 4.47) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 73.93 และ84.87) ความเข้มข้น 2,000 และ 100% DMSO ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 84.87 และ87.91) ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

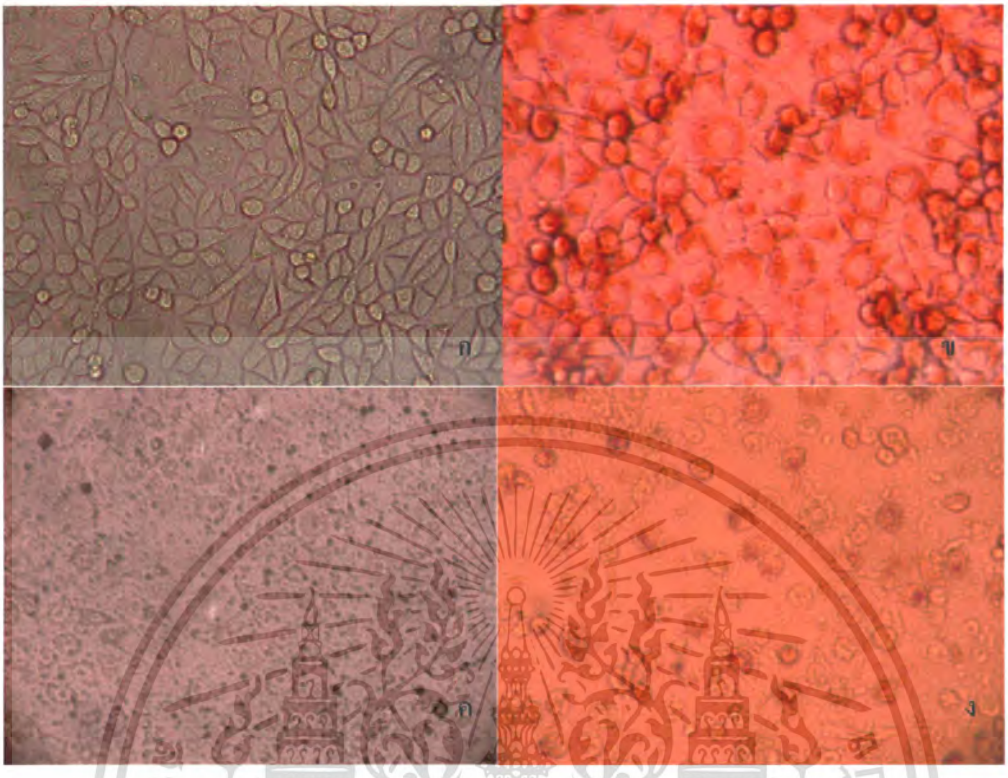
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษ*	
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ไซเพอร์เมทริน	0	0.00^{ab}	0.00^{ab}
	125	-7.39^{a}	1.00^{ab}
	250	13.71^{bc}	4.47^{ab}
	500	36.21^{d}	20.54^{c}
	1,000	67.47^{e}	73.93^{ef}
	2,000	75.95^{efg}	84.87^{fg}
	100% DMSO	88.25^{g}	87.91^{g}

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษไซเพอร์เมทริน
ก. กลุ่มควบคุม
ข. เซลล์กลุ่มควบคุมหลังย้อมสีนิวทรัลเรด
ค. เซลล์หลังจากบ่มในไซเพอร์เมทริน
ง. เซลล์ที่บ่มในไซเพอร์เมทรินหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

4.1.2 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 (รูปที่ 4.2)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ L929 ในสารแลมด้า-ไซฮาโลทริน ที่ความเข้มข้น 0, 250, 500, 1,000, 2,000, 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 2,000-4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 42.91-65.25) เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมงและ ในช่วง 1,000-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ -2.94-72.62) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ภาคผนวก ก) ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ หลังจากบ่มเซลล์ในแลมด้า-ไซฮาโลทรินนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 7.52 และ 15.53) ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 250 (ร้อยละ -12.55) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

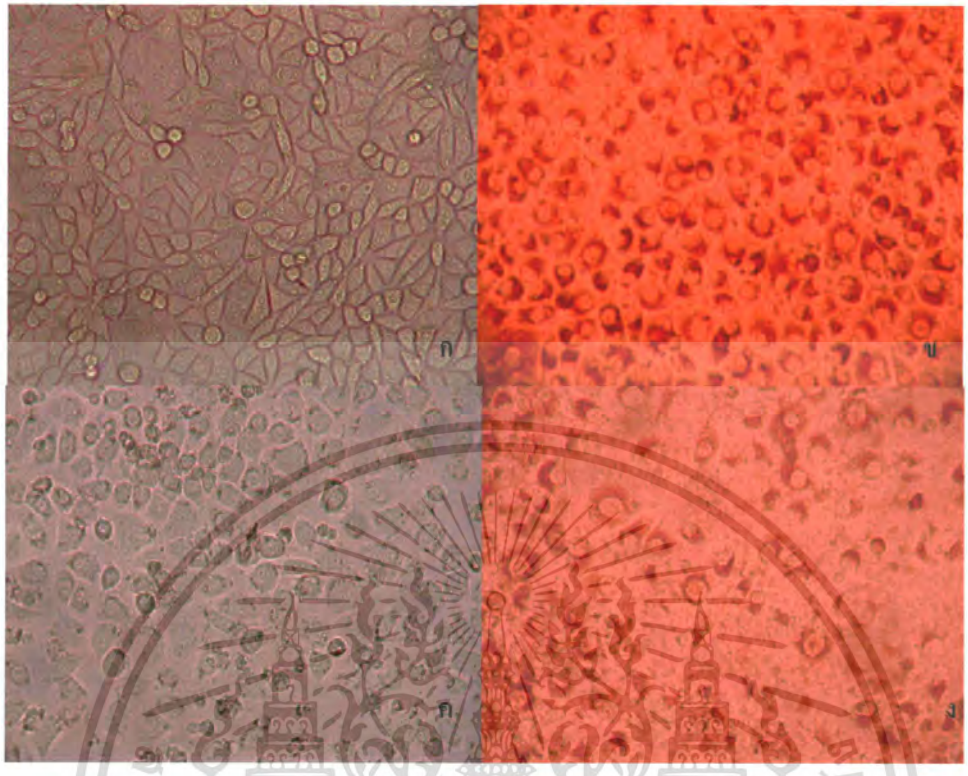
ส่วนการบ่มเซลล์ในแลมด้า-ไซฮาโลทรินนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ-15.58 และ -2.94) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 250 (ร้อยละ -18.89) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 2,000, 4,000 และ 100%DMSO ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 2.62, 82.64 และ 83.30) ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.2 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย*	
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	0	$0.00b^{cd}$	0.00^{bcd}
	250	-12.55^{ab}	-18.89^{a}
	500	7.52^{cd}	-15.58^{ab}
	1000	15.53^{d}	-2.94^{abc}
	2000	42.91^{e}	72.62^{fg}
	4000	65.25^{f}	82.64^{gh}
	100% DMSO	89.72^{h}	83.30^{gh}

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษแลมด้า-ไซฮาโลทริน
ก. กลุ่มควบคุม
ข. เซลล์กลุ่มควบคุมหลังย้อมสีนิวทรัลเรด
ค. เซลล์หลังจากบ่มในแลมด้า-ไซฮาโลทริน
ง. เซลล์ที่บ่มในแลมด้า-ไซฮาโลทรินหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

4.1.3 การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity test) ของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 (รูปที่ 4.3)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในตารางที่ 4.3 พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ L929 ในสารสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ความเข้มข้น 375, 750, 1,500, 3,000 และ 6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นจะทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 อยู่ในช่วง 3,000-6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 20.41-84.62) เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมงและ ในช่วง 3,000-6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ 37.85-81.58) เมื่อบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งช่วงความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นใช้ในการคำนวณหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้น สรุปได้ดังนี้ หลังจากบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลนาน 24 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 375, 750, และ 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ -9.94, -7.93 และ 0.65) ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 100%DMSO (ร้อยละ 84.62 และ 90.67) ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

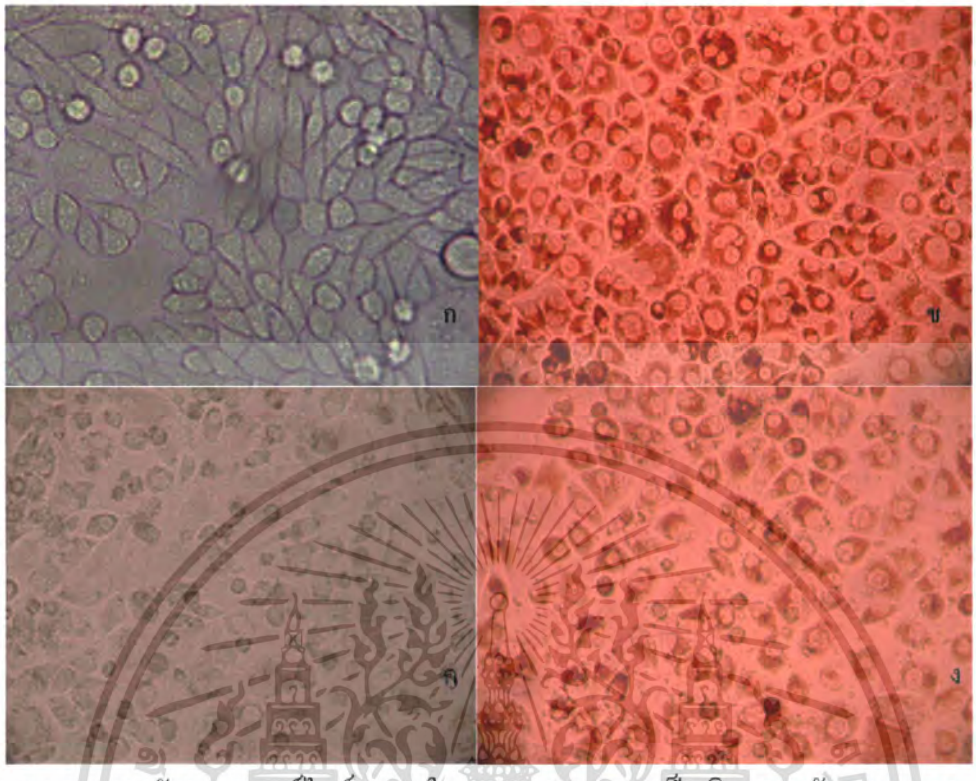
ส่วนการบ่มเซลล์ในสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลนาน 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 375, 750, และ 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ร้อยละ -10.45, -7.60 และ 5.07) ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 100%DMSO (ร้อยละ 81.58 และ 85.01) ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.3 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษโดยวิธีของดันแคน โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย*	
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล	0	0.00[a]	0.00[a]
	375	-9.94[a]	-10.45[a]
	750	-7.93[a]	-7.60[a]
	1,500	0.65[a]	5.07[ab]
	3,000	20.41[b]	37.85[c]
	6,000	84.62[d]	81.58[d]
	100% DMSO	90.67[d]	85.01[d]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ไลน์ L929 ในการทดสอบความเป็นพิษสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

ก. กลุ่มควบคุม

ข. เซลล์กลุ่มควบคุมหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

ค. เซลล์หลังจากบ่มสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

ง. เซลล์ที่บ่มในสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลหลังย้อมสีนิวทรัลเรด

4.2 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

การศึกษาผลของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ที่ความเข้มข้นต่างๆของสารแต่ละชนิด สามารถนำมาคำนวณค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล จากกราฟด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกซ์เซล (ภาคผนวก ก) ดังตาราง 4.4 พบว่าค่าความเป็นพิษร้อยละ 50 ของสารที่บ่มนาน 24 และ 48 ชั่งโมง มีค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษร้อยละ 50 ของ ไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้ถ้าเรียงลำดับจากมีพิษมากไปหาน้อยสุด ดังนี้ ไซเพอร์เมทริน > แลมด้า-ไซฮาโลทริน > สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล โดยสารทุกชนิดมีค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับร้อยละ 95 ไซเพอร์เมทรินมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 913.13 และ 914.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความเป็นพิษรองลงมาคือแลมด้า-ไซฮาโลทรินโดยมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 2,252.60 และ 1,936.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 น้อยที่สุด คือมีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ที่24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 4,238.06 และ 3,795.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ตาราง 4.4 ค่าความเป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 และผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีดันแคน โปรแกรม SPSS 14.0 for window

ชนิดของสาร	ความเข้มข้นที่เป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ไซเพอร์เมทริน	913.13[a]	914.12[a]
แลมด้าไซฮาโลทริน	2,252.60[b]	1,936.90[b]
สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศ	4,238.06[c]	3,795.97[c]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การวิเคราะห์ค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อภิปรายผล

1. ความเป็นพิษของไซเพอร์เมทริน

จากตารางที่ 4.1 ไซเพอร์เมทรินเริ่มมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ที่ความเข้ม 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (13.71% บ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 4.47% บ่มนาน 48 ชั่วโมง) และเป็นพิษมากที่สุดที่ความเข้มข้น 2,000ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (75.95%บ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 84.87%บ่มนาน 48 ชั่วโมง) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษแต่ละความเข้มข้นเมื่อบ่มนานต่างกัน คือ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแต่ละความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นต่ำ (125 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์ละลายน้ำค่อนข้างยาก มีแนวโน้มที่จะตกตะกอนขณะที่ทำการเจือจางในแต่ละความเข้มข้น นอกจากนี้ยังสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงและออกซิเจน ทั้งในอากาศและในน้ำ (Oros and Werner, 2005) จากการรายงานของ Kakko (2004) เกี่ยวกับผลของไซเพอร์เมทรินที่ความเข้มข้นต่ำๆจะมีผลต่อการทำงานของ Na^+ K^+ และ ATPase ให้การทำงานลดลงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ยังละลายในไขมันได้น้อยเหตุผลนี้สัมพันธ์กับการปรากฏของ alpha cyano group ซึ่งเป็นข้อจำกัดการผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ อีกประการหนึ่งที่น่าสนใจคือ จากการศึกษาของ Service (1998) พบว่าสารในกลุ่มไพรีทรอยด์ (ไพรีทริน เพอร์เมทริน และ ไซเพอร์เมทริน) ที่ความเข้มข้นต่ำๆมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่ากลไกการทำงานของไพรีทรอยด์มีผลคล้ายคลึงกับการทำงานของฮอร์โมน oestrogen และที่ความเข้มสูงๆ ไพรีทรอยด์ทุกชนิดเป็นพิษต่อเซลล์

2. ความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทริน

จากตารางที่ 4.2 ศึกษาร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มสารในเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ความเป็นพิษปรากฏให้เห็นที่ความเข้มข้น 2,000 (42.91% เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 72.62% เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง) และ 4,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (62.25% เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 82.64% เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง) และความเป็นพิษเพิ่มมากขึ้นเมื่อบ่มนานขึ้น ความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่ทำการทดลองนี้มีค่าต่ำ อาจเนื่องมาจากวิธีการเจือจางในแต่ละความเข้มข้นเพราะสารดังกล่าวอยู่ในรูปแขวนลอย การสลายตัวง่ายเช่นเดียวกับไซเพอร์เมทริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

จากตารางที่ 4.3 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่ความเข้มข้น 375, 750 และ 1,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนความเป็นพิษเริ่มปรากฏที่ความเข้มข้น 3,000ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (20.41% เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 37.85% เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง) และความเป็นพิษสูงสุดที่ความเข้มข้น 6,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (84.62% เมื่อบ่มนาน 24 ชั่วโมง และ 81.58% เมื่อบ่มนาน 48 ชั่วโมง) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล เมื่อบ่มนานต่างกัน ส่วนใหญ่แต่ละความเข้มข้นมีความเป็นพิษไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารไพรีทรัมจากดอกเบญจมาศเป็นสารฆ่าแมลงธรรมชาติประกอบด้วยไพรีทริน ซึ่งสารนี้สลายตัวได้ง่ายในสภาพที่มีแสงและออกซิเจน ในบรรยากาศและในน้ำ นอกจากนี้การดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังค่อนข้างช้า จึงอาจจะเป็นสาเหตุของการเป็นพิษต่ำกว่าสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (Ray and Forshow, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดต่อเซลล์ไลน์ L929 ในสารไซเพอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 125, 250, 500, 1,000, 2,000 และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 คือ 913.13 และ 914.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ในสารแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่ความเข้มข้น 250, 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 คือ 2,252.60 และ 1,936.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่ความเข้มข้น 375, 750, 1,500, 3,000, 6,000 และ 100% DMSO โดยบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 คือ 4,238.06 และ 3,795.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

ความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมงสรุปได้ดังนี้ ไซเพอร์เมทรินมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 มากที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่เป็นพิษร้อยละ 50 เท่ากับ 913.12 และ 914.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับรองลงมาคือแลมด้า-ไซฮาโลทรินโดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่เป็นพิษร้อยละ 50 เท่ากับ 2,252.60 และ 1936.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศชั้นเมทานอลมีค่าเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 น้อยที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่เป็นพิษร้อยละ 50 เท่ากับ 4,238.06 และ 3,795.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

ค่าความเป็นพิษร้อยละ 50 ต่อเซลล์ไลน์ L929 ของสารเคมีกำจัดแมลงทั้งสามชนิดนี้แสดงให้เห็นความเข้มข้นสูงสุดของสารแต่ละชนิดที่สามารถนำไปใช้อย่างปลอดภัย และไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดอุ่นในสิ่งแวดล้อมได้

การเตรียมสารเคมีและสารสกัดหยาบเพื่อทดสอบความเป็นพิษควรเตรียมทันทีที่ใช้ทดสอบ ไม่ควรเตรียมไว้นานเนื่องจากสารไพรีทรินสลายตัวได้ง่ายในสภาวะแวดล้อมที่มีแสงและออกซิเจน และควรใช้ %Stock solution เดียวกันตลอดทั้งการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธานินทร์ ศิลป์จารุ. 2548. การวิจัยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย SPSS . กรุงเทพ, วี.อินเตอร์พริ้นต์.

สมชาย ผลดีนานา. 2544. การประยุกต์ใช้สมุนไพรในการป้องกันและกำจัดแมลง. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย http://www.vet.chula.ac.th/~nuclear/symposium44/Somchai.htm

สุรพล อุปดิสสกุล. 2528. สถิติ การวางแผนการทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัจจิมา ไพรอนันต์ และอาทิตยา ปัตเมต. 2549. การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากต้นจักรนารายณ์ที่มีผลต่อเซลล์ในหลอดทดลอง. โครงงานพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร, ลาดกระบัง.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. 2546. สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.

Amoros, M., Suavager, F., Gire, L. And Cormier, M. 1992. In vitro antiviral activity of propolis. Apidologie, 23, 231-240.

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

Davies, J.H. 1985. The pyrethroids: an historical introduction. *In* The Pyrethroid Insecticides, pp 1-31, ed. J.P. Leachey, Taylor & Francis, London.

Glickman, A.H. and Casida, J.E. 1982. Species and structural variation affecting pyrethroid neurotoxicity. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.*, *4*, 793-799.

Holloway, S.F., Salgado, V.L., Wu, C.H. and Narahashi, T. 1989. Kinetic properties of single sodium channels modified by fenvalerate in mouse neuroblastoma cells. *Pflugers. Arch.*, *414*, 613-621.

ICCVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods. 2006. ICCVAM Test Method Evaluation Report. In Vitro Cytotoxicity Test Method for Estimating Starting Doses for Acute Oral Systemic Toxicity Testing. NIH Publication No. 07-4519. http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/invitro.htm.

Kakko, I. 2004. Toxic Mechanisms of Pyrethroids Studied in Vitro. Academic Dissertation, University of Tampere, Finland.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kaul, T.N.E., Middletown, J.R. and Orga, P.L. 1985. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *J. Med. Virol.*, *15*, 71-79.

Mitchell, J.C., Dupuis, G., Tower, G.H.N. 1972. Allergic contact dermatitis from pyrethrum (*Chrysanthemum* spp.). The roles of pyrethrosin, a sesquiterpene lactone, and of pyrethrin II. *British J. Dermatol.*, *86*(6), 568-573.

Oros, D.R. and Werner, T. 2005. Pyrethroid Insecticides: An analysis of use patterns, distributions, potential toxicity and fate in the Sacramento-San Joaquin Delta and Central Valley. White Paper for the Interagency Ecological Program. SFEI Contribution 415. San Francisco Estuary Institute, Oakland.

NTP, The National Toxicology Program, 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).

Ray, D.E. and Forshaw, P.J. 2000. Pyrethroid insecticides: poisoning syndromes synergies, and therapy. *J. Toxical. Clin. Toxical.*, *284*, 958-965.

Service, R.F. 1998. New role for oestrogen in cancer. *Science*, *279*, 1631-1633.

Tabarean, I.V. and Narahashi, T. 1998. Potent modulation of tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channel by the type II pyrethroid deltamethrin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *284*, 958-965.

Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Suzuki, H., Mukainaka, T., Ichiishi, E. 2002. Constituents of Compositae plants III. Antitumor promoting effects and cytotoxic activity against human cell lines of triterpene diols and triols from edible Chrysanthemum flowers. *Cancer Lett.*, *177*, 7-12.

Vijverberg, H.P. and van der Zalm, J.M. and van den Bercken. 1982. Similar mode of action of pyrethroids and DDT on sodium channel gating in myelinated nerves. *Nature*, *295*, 601-603.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://dpc3.ddc.moph.go.th/in_tranet/insect/Local%20Officer%20Trianing/Chemical,%20course.htm)

http://www.dsmz.de/

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

http://www.ekoses.com/ekolojikyasamportali/ekogaleri/upload/nature/camomile.jpg

http:// www.free.de/WiLa/derik/Insektizide.Teil5.html

http://www.ib.amwaw.edu.pl/invittox/prot/64.htm

http://en.wikipedia.org/wiki/Pyrethrin

http://extoxnet.orst.edu/pips/pyrethri.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบจากดอกเบญจมาศในชั้นเมทธานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929

ตารางที่ ก-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

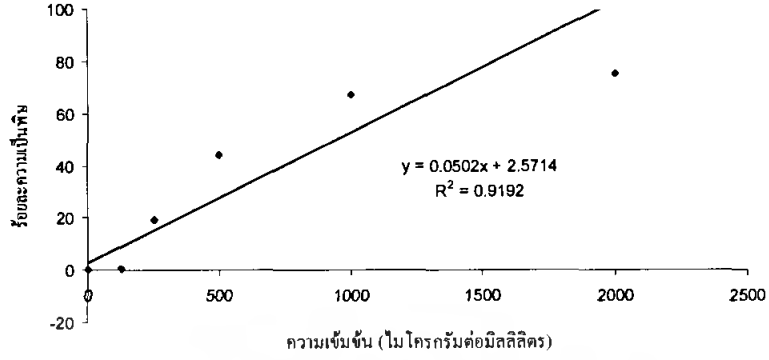
blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.048	0.359	0.048	0.419	0.303	0.24	0.19	0.133	0.05	0.459	0.045	0.095
0.048	0.422	0.049	0.440	0.329	0.277	0.159	0.128	0.048	0.451	0.045	0.090
0.045	0.311	0.045	0.415	0.318	0.245	0.169	0.137	0.047	0.476	0.043	0.098
0.045	0.424	0.045	0.398	0.444	0.256	0.156	0.153	0.047	0.457	0.048	0.087

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.047 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-2 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย-blank	0.373	0.371	0.302	0.208	0.122	0.091
SD	0.06	0.02	0.06	0.02	0.02	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	0.50	19.12	44.31	67.35	75.59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0502x + 2.5714$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50-2.5714)/0.0502$

$x = 944.79$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

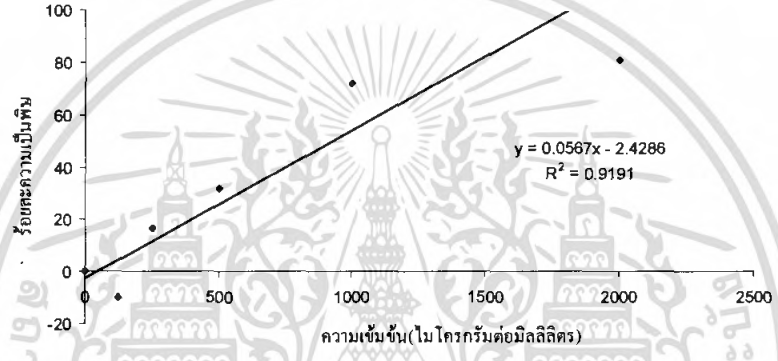
blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.048	0.489	0.049	0.496	0.348	0.241	0.184	0.109	0.048	0.441	0.053	0.087
0.046	0.478	0.048	0.515	0.451	0.345	0.155	0.135	0.049	0.458	0.045	0.083
0.049	0.523	0.048	0.544	0.399	0.368	0.169	0.136	0.049	0.454	0.046	0.085
0.047	0.510	0.048	0.534	0.426	0.413	0.168	0.137	0.052	0.475	0.047	0.084

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-4 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.430	0.474	0.358	0.294	0.121	0.081
SD	0.03	0.02	0.04	0.07	0.01	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-10.17	16.85	31.78	71.93	81.17



รูปที่ ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0567x - 2.4286$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50-2.4286)/0.0567$

$x = 839.00$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

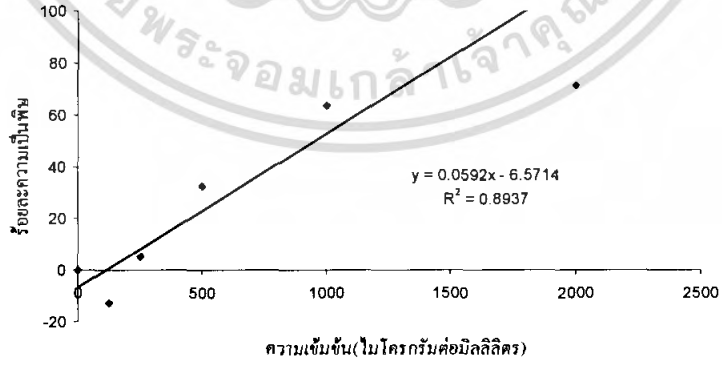
ตารางที่ ก-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.048	0.348	0.048	0.378	0.334	0.244	0.159	0.124	0.05	0.335	0.045	0.095
0.048	0.341	0.049	0.423	0.315	0.289	0.176	0.144	0.048	0.435	0.045	0.09
0.045	0.315	0.045	0.415	0.332	0.243	0.164	0.132	0.047	0.415	0.043	0.098
0.045	0.298	0.045	0.397	0.408	0.266	0.155	0.153	0.047	0.422	0.048	0.087

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.047 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-6 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.317	0.357	0.301	0.214	0.117	0.092
SD	0.05	0.02	0.04	0.02	0.01	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-12.50	5.17	32.53	63.13	71.10



รูปที่ ก-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0592x - 6.5714$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+6.5714)/0.0592$

$x = 955.60$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

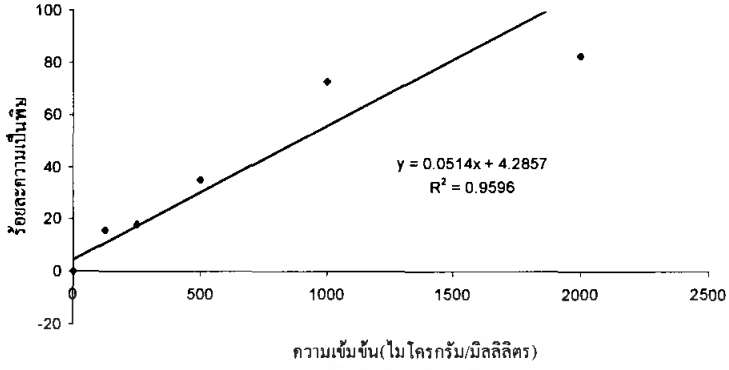
blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.047	0.261	0.047	0.282	0.301	0.215	0.126	0.097	0.043	0.216	0.055	0.079
0.047	0.359	0.047	0.290	0.224	0.222	0.116	0.102	0.044	0.274	0.048	0.078
0.049	0.404	0.048	0.289	0.317	0.258	0.132	0.096	0.047	0.378	0.049	0.081
0.048	0.405	0.050	0.298	0.295	0.244	0.131	0.09	0.049	0.387	0.049	0.085

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-8 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.288	0.242	0.236	0.187	0.078	0.048
SD	0.07	0.01	0.04	0.02	0.01	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	15.91	17.82	35.04	72.77	83.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0514x + 4.2857$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50-4.2857)/0.0514$

$x = 889.38$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

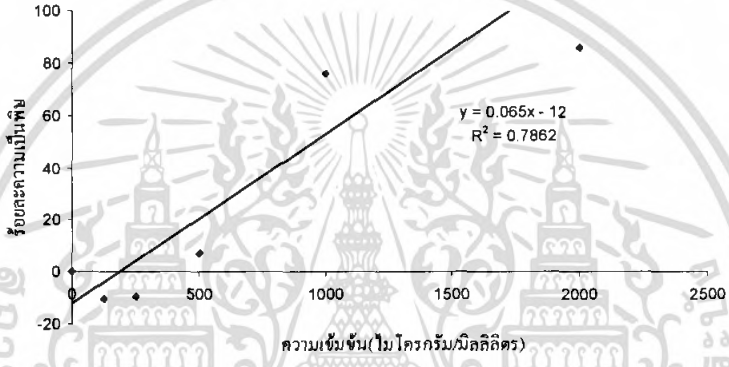
blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.048	0.318	0.049	0.401	0.370	0.341	0.145	0.11	0.048	0.364	0.049	0.101
0.049	0.382	0.048	0.412	0.406	0.336	0.133	0.087	0.049	0.324	0.049	0.088
0.046	0.433	0.048	0.401	0.387	0.352	0.126	0.087	0.048	0.287	0.046	0.085
0.046	0.414	0.047	0.371	0.413	0.333	0.088	0.083	0.046	0.384	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-10 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.316	0.349	0.346	0.293	0.075	0.044
SD	0.05	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0	-10.46	-9.74	7.21	76.12	86.02



รูปที่ ก-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรม ไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.065x - 12$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+12)/0.065$

$x = 953.85$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

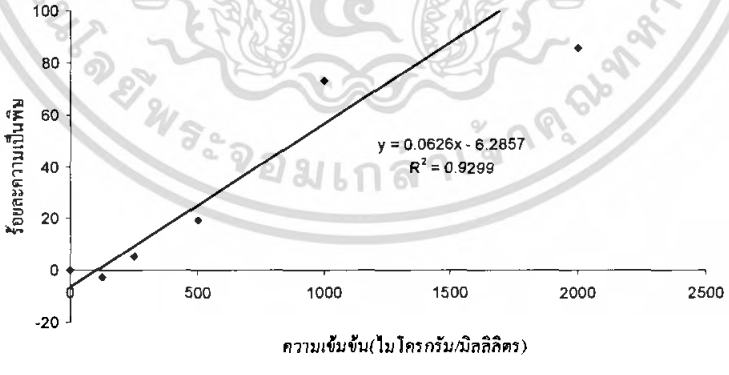
ตารางที่ ก-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของไซเพอร์เมทริน ต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	125	250	500	1,000	2,000	blank	0	blank	100%DMSO
0.048	0.318	0.049	0.401	0.370	0.341	0.145	0.110	0.048	0.364	0.049	0.101
0.049	0.382	0.048	0.412	0.406	0.336	0.133	0.087	0.049	0.324	0.049	0.088
0.046	0.433	0.048	0.401	0.387	0.352	0.126	0.087	0.048	0.287	0.046	0.085
0.046	0.414	0.047	0.371	0.413	0.333	0.088	0.083	0.046	0.384	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-12 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	125	250	500	1,000	2,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.356	0.365	0.337	0.287	0.097	0.052
SD	0.05	0.03	0.04	0.01	0.01	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-2.46	5.34	19.38	72.89	85.39



รูปที่ ก-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0626x - 6.2857$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$$x = (50+6.2857)/ 0.0626$$

$$x = 899.13$$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

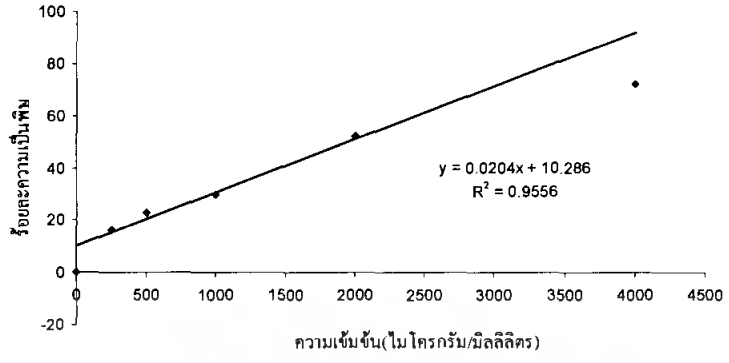
blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.048	0.275	0.047	0.334	0.305	0.279	0.177	0.111	0.050	0.381	0.050	0.087
0.048	0.404	0.047	0.305	0.317	0.283	0.209	0.140	0.047	0.404	0.049	0.086
0.049	0.287	0.047	0.311	0.319	0.300	0.221	0.169	0.050	0.482	0.045	0.093
0.048	0.449	0.048	0.391	0.312	0.296	0.239	0.152	0.051	0.445	0.044	0.090

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-14 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.343	0.287	0.265	0.242	0.164	0.095
SD	0.07	0.04	0.01	0.01	0.03	0.02
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	16.22	22.64	29.57	52.31	72.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0204x + 10.286$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50-10.286)/ 0.0204$

$x = 1,946.76$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

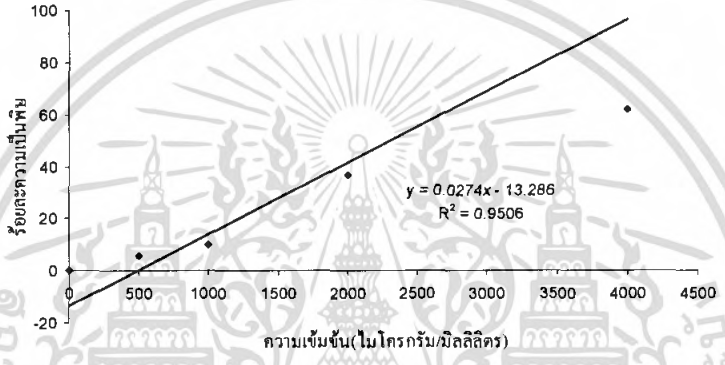
blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.048	0.440	0.049	0.581	0.482	0.405	0.284	0.250	0.049	0.525	0.051	0.085
0.051	0.446	0.048	0.668	0.410	0.483	0.313	0.222	0.049	0.518	0.048	0.099
0.045	0.463	0.046	0.624	0.502	0.455	0.354	0.189	0.047	0.522	0.048	0.092
0.045	0.443	0.045	0.467	0.443	0.415	0.344	0.191	0.046	0.514	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-16 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ *L929* หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.436	0.537	0.412	0.392	0.276	0.165
SD	0.04	0.09	0.04	0.04	0.03	0.03
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-23.18	5.64	10.17	36.70	62.08



รูปที่ ก-8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0274x - 13.286$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ *L929* ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+13.286)/ 0.0274$

$x = 2,309.71$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

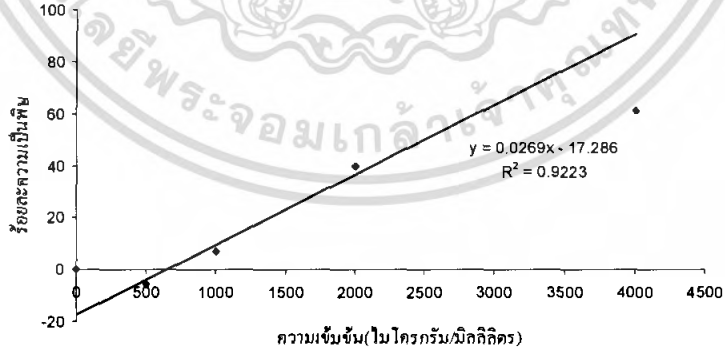
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.044	0.445	0.049	0.581	0.514	0.456	0.289	0.221	0.048	0.525	0.051	0.085
0.049	0.485	0.048	0.653	0.498	0.453	0.297	0.198	0.049	0.518	0.048	0.087
0.049	0.457	0.049	0.662	0.532	0.468	0.341	0.231	0.048	0.522	0.048	0.099
0.048	0.439	0.045	0.597	0.509	0.455	0.326	0.222	0.048	0.514	0.046	0.083

ตารางที่ ก-18 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.440	0.575	0.465	0.410	0.265	0.170
SD	0.04	0.04	0.01	0.01	0.02	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-30.70	-5.71	6.84	39.73	61.37



รูปที่ ก-9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0269x - 17.286$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนด $y = 50$

$x = (50+17.286)/0.0269$

$x = 2,501.34$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-19 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

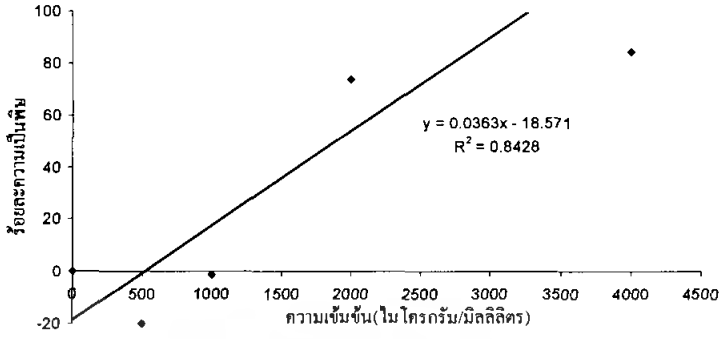
blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.048	0.318	0.049	0.401	0.370	0.341	0.145	0.110	0.048	0.364	0.049	0.101
0.049	0.382	0.048	0.412	0.406	0.336	0.133	0.087	0.049	0.324	0.049	0.088
0.046	0.433	0.048	0.401	0.387	0.352	0.126	0.087	0.048	0.287	0.046	0.085
0.046	0.414	0.047	0.371	0.413	0.333	0.088	0.083	0.046	0.170	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-20 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.289	0.349	0.346	0.293	0.075	0.044
SD	0.08	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-20.68	-19.90	-1.38	73.91	84.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรม ไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0363x - 18.571$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+18.571)/0.0363$

$x = 1,889.01$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-21 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

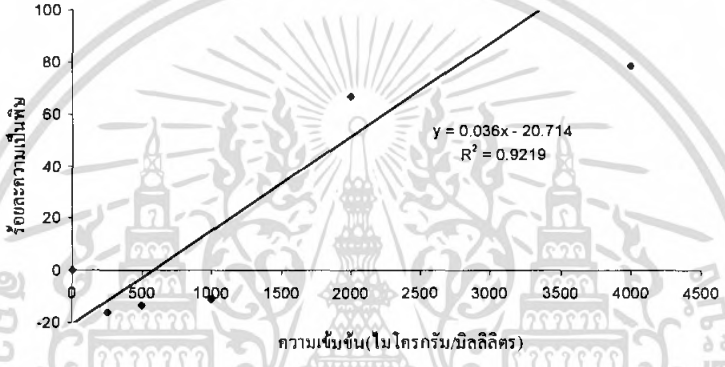
blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.049	0.282	0.051	0.284	0.291	0.275	0.150	0.100	0.054	0.186	0.042	0.095
0.047	0.359	0.049	0.303	0.318	0.286	0.143	0.103	0.047	0.272	0.046	0.100
0.048	0.325	0.049	0.327	0.315	0.360	0.098	0.101	0.049	0.293	0.041	0.097
0.048	0.340	0.048	0.429	0.394	0.375	0.128	0.098	0.049	0.309	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-22 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.248	0.288	0.282	0.276	0.082	0.053
SD	0.05	0.06	0.04	0.05	0.02	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-16.12	-13.61	-11.39	66.92	78.71



รูปที่ ก-11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.036x - 20.714$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+20.714)/0.036$

$x = 1,964.28$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

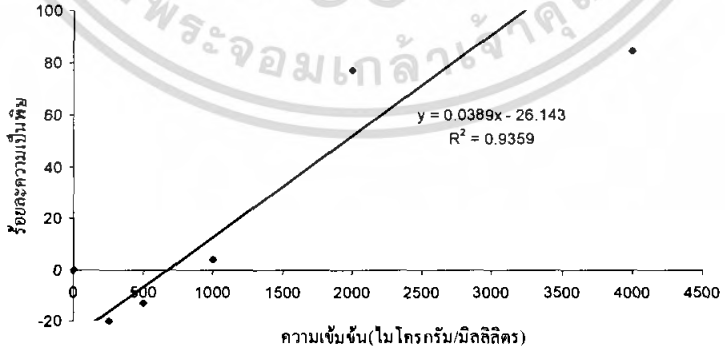
ตารางที่ ก-23 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	0	250	500	1,000	2,000	4,000	0	blank	100% DMSO
0.048	0.331	0.048	0.411	0.399	0.334	0.145	0.124	0.047	0.367	0.049	0.098
0.048	0.367	0.044	0.413	0.387	0.345	0.099	0.087	0.049	0.354	0.049	0.100
0.049	0.397	0.046	0.441	0.398	0.344	0.121	0.086	0.047	0.341	0.046	0.112
0.046	0.413	0.047	0.423	0.421	0.367	0.111	0.086	0.046	0.309	0.046	0.093

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-24 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	250	500	1,000	2,000	4,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.313	0.375	0.354	0.300	0.072	0.049
SD	0.03	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-19.87	-13.23	3.96	77.03	84.47



รูปที่ ก-12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของแลมด้า-ไซฮาโลทรินและร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0389x - 26.143$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$$x = (50+26.143)/0.0389$$

$$x = 1,957.40$$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-25 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (*OD*) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

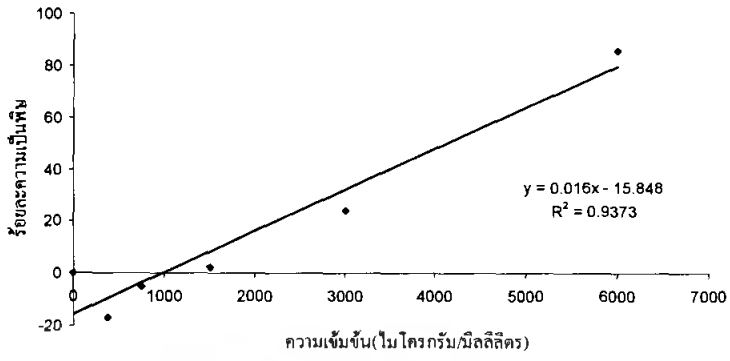
blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.047	0.447	0.048	0.452	0.482	0.467	0.385	0.109	0.055	0.458	0.051	0.080
0.047	0.465	0.046	0.468	0.516	0.479	0.404	0.108	0.050	0.497	0.048	0.083
0.048	0.505	0.049	0.685	0.549	0.480	0.398	0.113	0.048	0.521	0.049	0.097
0.048	0.445	0.048	0.636	0.487	0.480	0.337	0.113	0.049	0.554	0.050	0.087

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.049 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-26 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.438	0.511	0.460	0.428	0.332	0.062
SD	0.04	0.12	0.03	0.01	0.03	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-16.85	-5.03	2.28	24.10	85.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.016x - 15.848$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$$x = (50+15.848)/ 0.016$$

$x = 4,115.50$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-27 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

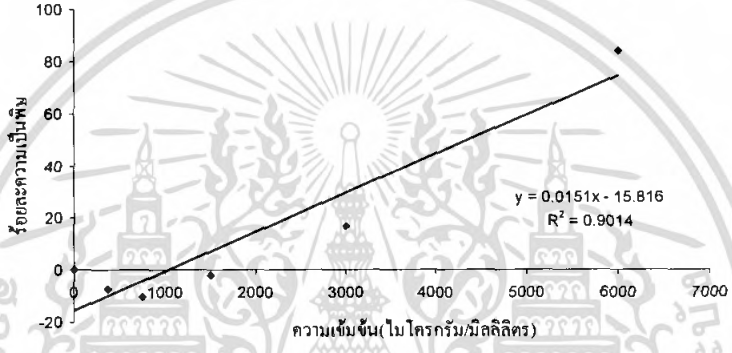
blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.047	0.436	0.048	0.507	0.549	0.507	0.427	0.112	0.049	0.520	0.048	0.086
0.048	0.529	0.047	0.530	0.534	0.513	0.405	0.111	0.046	0.535	0.043	0.085
0.046	0.500	0.047	0.519	0.529	0.497	0.406	0.127	0.044	0.452	0.044	0.097
0.044	0.475	0.046	0.515	0.516	0.467	0.416	0.113	0.049	0.441	0.041	0.086

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.046 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-28 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.440	0.472	0.486	0.450	0.367	0.070
SD	0.04	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-7.22	-10.46	-2.27	16.48	84.16



รูปที่ ก-14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0151x - 15.816$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50 + 15.816)/ 0.0151$

$x = 4{,}358.68$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

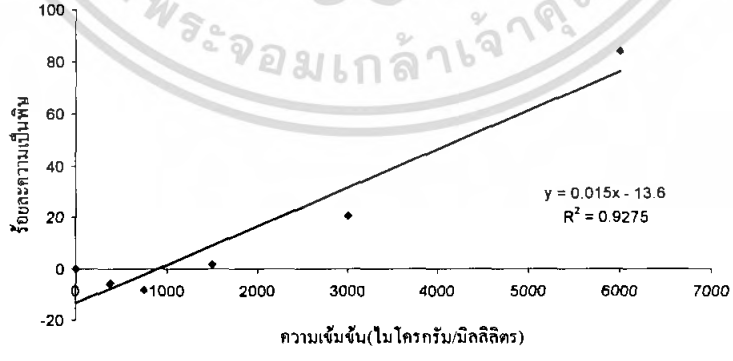
ตารางที่ ก-29 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.047	0.436	0.048	0.488	0.549	0.424	0.377	0.124	0.049	0.514	0.048	0.086
0.048	0.541	0.047	0.535	0.544	0.486	0.405	0.111	0.046	0.496	0.043	0.085
0.046	0.488	0.047	0.522	0.488	0.497	0.399	0.111	0.044	0.522	0.044	0.097
0.044	0.446	0.046	0.498	0.507	0.501	0.398	0.122	0.049	0.441	0.041	0.086

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.046 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-30 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.439	0.465	0.476	0.431	0.349	0.071
SD	0.04	0.02	0.03	0.04	0.01	0.01
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-5.75	-8.31	1.93	20.65	83.86



รูปที่ ก-15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.015x - 13.6$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$$x = (50+13.6)/ 0.015$$

$$x = 4,240.00$$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-31 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

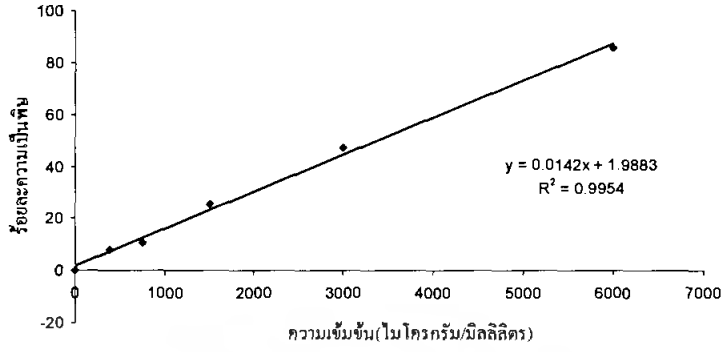
blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.050	0.312	0.048	0.343	0.319	0.275	0.215	0.100	0.045	0.378	0.048	0.081
0.052	0.440	0.050	0.368	0.356	0.299	0.202	0.099	0.045	0.394	0.043	0.080
0.049	0.509	0.047	0.377	0.376	0.323	0.258	0.091	0.042	0.397	0.047	0.091
0.045	0.402	0.045	0.389	0.390	0.335	0.252	0.102	0.044	0.348	0.050	0.095

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.047 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-32 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.351	0.322	0.313	0.261	0.185	0.051
SD	0.06	0.02	0.03	0.03	0.03	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	8.06	10.62	25.53	47.27	85.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 1)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรม ไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0142x + 1.9883$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50-1.9883)/ 0.0142$

$x = 3,381.11$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-33 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

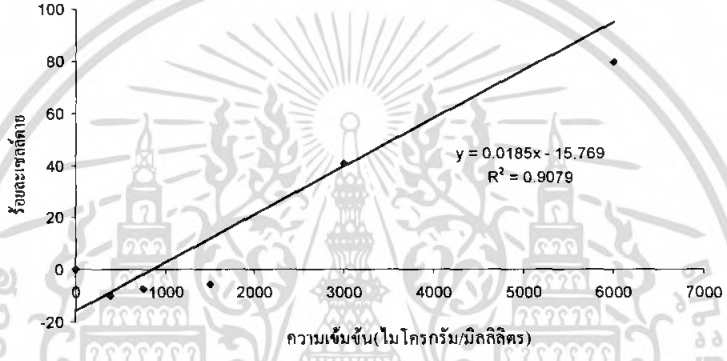
blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.049	0.282	0.051	0.284	0.291	0.275	0.183	0.100	0.054	0.299	0.042	0.095
0.047	0.359	0.049	0.303	0.318	0.286	0.210	0.103	0.047	0.272	0.046	0.100
0.048	0.325	0.049	0.327	0.315	0.360	0.208	0.101	0.049	0.293	0.041	0.097
0.048	0.340	0.048	0.429	0.394	0.375	0.213	0.098	0.049	0.309	0.046	0.083

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.048 (16 หลุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-34 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.262	0.288	0.282	0.276	0.156	0.053
SD	0.03	0.06	0.04	0.05	0.01	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-9.87	-7.49	-5.39	40.57	79.86



รูปที่ ก-17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 2)

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรม ไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0185x - 15.769$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+15.769)/0.0185$

$x = 3,555.08$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

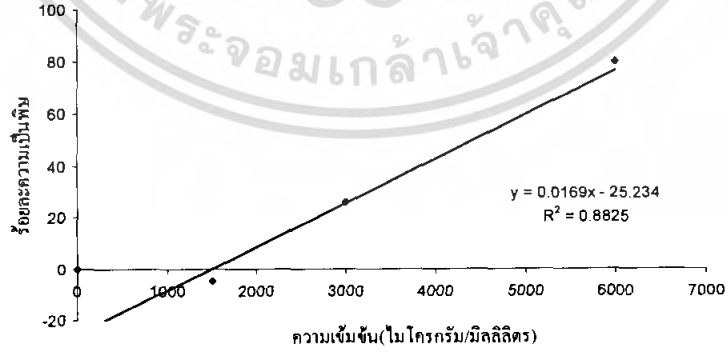
ตารางที่ ก-35 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

blank	0	blank	375	750	1,500	3,000	6,000	blank	0	blank	100% DMSO
0.050	0.282	0.048	0.343	0.319	0.275	0.215	0.100	0.045	0.186	0.048	0.081
0.052	0.359	0.050	0.368	0.356	0.299	0.202	0.099	0.045	0.272	0.043	0.080
0.049	0.325	0.047	0.377	0.376	0.323	0.258	0.091	0.042	0.293	0.047	0.091
0.045	0.340	0.045	0.389	0.390	0.335	0.252	0.102	0.044	0.309	0.050	0.095

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย blank = 0.047 (16 หลุม)

ตารางที่ ก-36 ร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มในเซลล์นาน 48ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้น	0	375	750	1,500	3,000	6,000
ค่าเฉลี่ย - blank	0.249	0.322	0.313	0.261	0.185	0.051
SD	0.05	0.02	0.03	0.03	0.03	0.00
ร้อยละเซลล์ตาย	0.00	-29.53	-25.92	-4.92	25.72	79.46



รูปที่ ก-18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลและร้อยละความเป็น พิษต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มกับเซลล์นาน 48 ชั่วโมง (ซ้ำที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ได้จากกราฟโดยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอกเซล

$$y = 0.0169x - 25.234$$

<u>คำนวณ</u> ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50

กำหนดให้ $y = 50$

$x = (50+25.234)/ 0.0169$

$x = 4,451.72$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-37 ความเป็นพิษ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตาย ร้อยละ 50

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นที่เป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			รวม	เฉลี่ย
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไซเพอร์เมทริน	24	944.79	839.00	955.60	2,739.39	913.13
	48	889.38	953.85	899.13	2,742.36	914.12
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	24	1,946.76	2,309.71	2,501.34	5,481.75	2,252.60
	48	1,889.01	1,964.28	1,957.40	5,810.69	1,936.90
สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล	24	4,115.50	4,358.68	4,240.00	12,714.18	4,238.06
	48	3,381.11	3,555.08	4,451.72	1,8524.87	3,795.97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แผนการทดลองที่ใช้ในการวิจัย คือแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely Randomized design, CRD) และเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) ระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน (Duncan's new multiple range test , DMRT) โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS14.0 for window ดังรายละเอียด ต่อไปนี้

1. การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD)

เป็นแผนการทดลองที่ง่ายที่สุด โดยที่สิ่งทดลองถูกสุ่มจัดลงในหน่วยการทดลอง การวิเคราะห์ความแปรปรวนจะเป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว โดยที่ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจะเกิดจากสิ่งทดลองเท่านั้น

ตารางที่ ข-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

Source Of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	t-1	$(T_1^2+T_2^2+\ldots+T_t^2)/r-CF$	MST = SST/ (t-1)	MST/MSE
Error	t(r-1)	Total SS- SST	MSE = SSE/ t(r-1)	
Total	tr-1	$= \sum(Y_{ij}^2) - CF$		
$CF = (\sum Y_{ij})^2/tr$				

Source of variation = แหล่งความแปรปรวน

df (Degree of freedom) = องศาของความเป็นอิสระ

SS (Sum of squares) = ผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ย

MS (Mean squares) = ผลเฉลี่ยของผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย

t (Number of treatment) = จำนวนสิ่งทดลอง

r (Number of replication) = จำนวนซ้ำ

CF (Correction factors) = ตัวปรับค่าสำหรับผลรวมกำลังสองของข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์โดยวิธีของดันแคน

การทดลองที่ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ในการทดสอบสมมติฐานจะเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์จำนวน t ทรีตเมนต์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งเป็นการทดสอบแบบเอฟ เมื่อผลการทดสอบสมมติฐานได้ว่าปฏิเสธ H_0 แสดงว่าทรีตเมนต์ที่ต่างกันมีอย่างน้อย 2 ทรีตเมนต์ให้ค่าเฉลี่ยต่างกัน จำเป็นต้องมีการทดสอบสมมติฐานเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ต่อไปว่า ทรีตเมนต์ใดบ้างที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกัน ซึ่งกระทำหลังจากพบว่าผลการทดสอบแบบเอฟมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

วิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple's Range Test, DMRT)

วิธีนี้นิยมใช้ในกรณีที่มีหลายๆสิ่งทดลอง และต้องการเปรียบเทียบสิ่งทดลองทั้งหมดในคราวเดียวกัน

$$LSR_{a,p} = [SSR_{a,p}].S_y$$

LSR = least significant range (ต้องคำนวณ)

SSR = ค่าจากตาราง significant studentized ranges ที่ df ของ error

α = ระดับความเชื่อมั่น

p = จำนวนค่าเฉลี่ยในช่วงเปรียบเทียบ

n = จำนวนข้อมูลที่ใช้หาค่าเฉลี่ย

S_y = ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย $\sqrt{\frac{MSE}{n}}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ของร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ตารางที่ ข-2 ร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไซเพอร์เมทริน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		125	0.50	-10.17	-12.50	-22.17	-7.39
		250	19.12	16.85	5.17	41.14	13.71
		500	44.31	31.78	32.53	108.62	36.21
		1,000	67.35	71.93	63.13	202.41	67.47
		2,000	75.59	81.17	71.10	227.86	75.95
		100% DMSO	87.71	91.52	85.53	264.76	88.25
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		125	15.91	-10.46	-2.46	2.99	1.00
		250	17.82	-9.74	5.34	13.42	4.47
		500	35.04	7.21	19.38	61.63	20.54
		1,000	72.77	76.12	72.89	221.78	73.93
		2,000	83.20	86.02	85.39	254.61	84.87
		100% DMSO	88.59	86.81	88.34	263.74	87.91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0: ค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองไม่แตกต่างกัน

H_1: มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-3 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินที่มีต่อเซลล์ไลน์ *L929* หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA: Cytotoxicity

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	57,409.815	13	4,416.140	79.050	.000
Error	1,564.216	28	55.865		
Total	58,974.030	41			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 79.050 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า $\alpha = 0.05$ (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ที่เพาะเลี้ยงในสารไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.) การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

ตารางที่ ข-4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan

สิ่งทดลอง	จำนวนข้อมูล	Subset (ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทริน)						
		1	2	3	4	5	6	7
24 h 125	3	-7.39						
24 h 0	3	0.00	0.00					
48 h 0	3	0.00	0.00					
48 h 125	3	1.00	1.00					
48 h 250	3	4.47	4.47					
24h 250	3		13.71	13.71				
48 h 500	3			20.54				
24h 500	3				36.21			
24h 1,000	3					67.47		
48 h 1,000	3					73.93	73.93	
24h 2,000	3					75.95	75.95	75.95
48h 2,000	3						84.87	84.87
48h 100% DMSO	3							87.91
24h 100% DMSO	3							88.25
Sig.		.091	.052	.273	1.000	.200	.100	.074

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของไซเพอร์เมทรินแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไซเพอร์เมทริน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00^{ab}
		125	0.50	-10.17	-12.50	-22.17	-7.39^{a}
		250	19.12	16.85	5.17	41.14	13.71^{bc}
		500	44.31	31.78	32.53	108.62	36.21^{d}
		1,000	67.35	71.93	63.13	202.41	67.47^{e}
		2,000	75.59	81.17	71.10	227.86	75.95^{efg}
		100% DMSO	87.71	91.52	85.53	264.76	88.25^{g}
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00^{ab}
		125	15.91	-10.46	-2.46	2.99	1.00^{ab}
		250	17.82	-9.74	5.34	13.42	4.47^{ab}
		500	35.04	7.21	19.38	61.63	20.54^{c}
		1,000	72.77	76.12	72.89	221.78	73.93^{ef}
		2,000	83.20	86.02	85.39	254.61	84.87^{fg}
		100% DMSO	88.59	86.81	88.34	263.74	87.91^{g}

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ของร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ตารางที่ ข-6 ร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้นที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		250	16.22	-23.18	-30.70	-37.66	-12.55
		500	22.64	5.64	-5.71	22.57	7.52
		1,000	29.57	10.17	6.84	46.58	15.53
		2,000	52.31	36.70	39.73	128.74	42.91
		4,000	72.29	62.08	61.37	195.74	65.25
		100% DMSO	88.04	90.33	90.79	269.16	89.72
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		250	-20.68	-16.12	-19.87	-56.67	-18.89
		500	-19.90	-13.61	-13.23	-46.74	-15.58
		1,000	-1.38	-11.39	3.96	-8.81	-2.94
		2,000	73.91	66.92	77.03	217.86	72.62
		4,000	84.73	78.71	84.47	247.91	82.64
		100% DMSO	85.59	81.43	82.87	249.89	83.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0: ค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองไม่แตกต่างกัน

H_1: มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-7 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทริน ที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA: Cytotoxicity

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	66,820.183	13	5,140.014	58.941	.000
Error	2,441.761	28	87.206		
Total	69,261.944	41			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 58.941และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ที่เพาะเลี้ยงในสารแลมด้า-ไซฮาโลทรินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.) การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

ตารางที่ ข-8 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan

สิ่งทดลอง	จำนวนข้อมูล	Subset(ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทริน)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
48h 250	3	-18.89							
48h 500	3	-15.58	-15.58						
24h 250	3	-12.55	-12.55						
48h 1,000	3	-2.94	-2.94	-2.94					
24h 0	3		0.00	0.00	0.00				
48h 0	3		0.00	0.00	0.00				
24h 500	3			7.52	7.52				
24h 1,000	3				15.53				
24h 2,000	3					42.91			
24h 4,000	3						65.25		
48h 2,000	3						72.62	72.62	
48h 4,000	3							82.64	82.64
48h 100%DMSO	3							83.30	83.30
24h 100%DMSO	3								89.72
Sig.		.064	.076	.221	.071	1.000	.342	.197	.389

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-9 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของแลมด้า-ไซฮาโลทรินแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00b^{cd}
		250	16.22	-23.18	-30.70	-37.66	-12.55^{ab}
		500	22.64	5.64	-5.71	22.57	7.52^{cd}
		1,000	29.57	10.17	6.84	46.58	15.53^{d}
		2,000	52.31	36.70	39.73	128.74	42.91^{e}
		4,000	72.29	62.08	61.37	195.74	65.25^{f}
		100% DMSO	88.04	90.33	90.79	269.16	89.72^{h}
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00^{bcd}
		250	-20.68	-16.12	-19.87	-56.67	-18.89^{a}
		500	-19.90	-13.61	-13.23	-46.74	-15.58^{ab}
		1,000	-1.38	-11.39	3.96	-8.81	-2.94^{abc}
		2,000	73.91	66.92	77.03	217.86	72.62^{fg}
		4,000	84.73	78.71	84.47	247.91	82.64^{gh}
		100% DMSO	85.59	81.43	82.87	249.89	83.30^{gh}

*ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ของร้อยละความเป็นพิษของสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลต่อเซลล์ไลน์ *L929* เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ตารางที่ ข-10 ร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ไลน์ L929 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศที่ระดับความเข้มข้นต่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เวลาบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
สารสกัดดอกเบญจมาศในชั้นเมทธานอล	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		375	-16.85	-7.22	-5.75	-29.82	-9.94
		750	-5.03	-10.46	-8.31	-23.80	-7.93
		1,500	2.28	-2.27	1.93	1.94	0.65
		3,000	24.10	16.48	20.65	61.23	20.41
		6,000	85.85	84.16	83.86	253.87	84.62
		100% DMSO	91.31	90.35	90.35	272.01	90.67
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		375	8.06	-9.87	-29.53	-31.34	-10.45
		750	10.62	-7.49	-25.92	-22.79	-7.60
		1,500	25.53	-5.39	-4.92	15.22	5.07
		3,000	47.27	40.57	25.72	113.56	37.85
		6,000	85.42	79.86	79.46	244.74	81.58
		100% DMSO	88.63	82.43	83.98	255.04	85.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0: ค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองไม่แตกต่างกัน

H_1: มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษของสิ่งทดลองอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ข-11 ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่มีต่อเซลล์ไลน์ L929 หลังจากบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA: Cytotoxicity

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	65,078.398	13	5,006.031	57.891	.000
Error	2,421.235	28	86.473		
Total	67,499.633	41			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 57.891และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ที่เพาะเลี้ยงในสารสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.) การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

ตารางที่ ข-12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคนและใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan

สิ่งทดลอง	จำนวนข้อมูล	Subset (ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล)			
		1	2	3	4
48 h 375	3	-10.45			
24 h 375	3	-9.94			
24h 750	3	-7.93			
48 h 750	3	-7.60			
24 h 0	3	0.00			
48 h 0	3	0.00			
24h 1,500	3	0.65			
48 h 1,500	3	5.07	5.07		
24h 3,000	3		20.41		
48 h 3,000	3			37.86	
48h 6,000	3				81.58
24h 6,000	3				84.62
48h 100% DMSO	3				85.01
24h 100% DMSO	3				90.67
Sig.		.087	.053	1.000	.284

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-13 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลแต่ละความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์ไลน์ L929 เมื่อบ่มเซลล์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละเซลล์ตาย			รวม	ค่าเฉลี่ย
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
สารสกัดดอกเบญจมาศในชั้นเมทธานอล	24	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		375	-16.85	-7.22	-5.75	-29.82	-9.94[a]
		750	-5.03	-10.46	-8.31	-23.80	-7.93[a]
		1,500	2.28	-2.27	1.93	1.94	0.65[a]
		3,000	24.10	16.48	20.65	61.23	20.41[b]
		6,000	85.85	84.16	83.86	253.87	84.62[d]
		100% DMSO	91.31	90.35	90.35	272.01	90.67[d]
	48	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00[a]
		375	8.06	-9.87	-29.53	-31.34	-10.45[a]
		750	10.62	-7.49	-25.92	-22.79	-7.60[a]
		1,500	25.53	-5.39	-4.92	15.22	5.07[ab]
		3,000	47.27	40.57	25.72	113.56	37.85[c]
		6,000	85.42	79.86	79.46	244.74	81.58[d]
		100% DMSO	88.63	82.43	83.98	255.04	85.01[d]

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ของความเป็นพิษ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for window

ตารางที่ ข-14 ความเป็นพิษ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ50

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นที่เป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			รวม	เฉลี่ย
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไซเพอร์เมทริน	24	944.79	839.00	955.60	2,739.39	913.13
	48	889.38	953.85	899.13	2,742.36	914.12
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	24	1,946.76	2,309.71	2,501.34	6757.81	2,252.60
	48	1,889.01	1,964.28	1,957.40	5,810.69	1,936.90
สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล	24	4,115.50	4,358.68	4,240.00	12,714.18	4,238.06
	48	3,381.11	3,555.08	4,451.72	18,524.87	3,795.97

(1) การวิเคราะห์ความแปรปรวน

<u>ตั้งสมมติฐาน</u>

H_0: ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตาย ร้อยละ50 ไม่แตกต่างกัน

H_1: มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-15 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยสารไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอลบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA: Concentration

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	29,885,049.847	5	5,977,009.969	83.152	.000
Error	862,569.942	12	71,880.828		
Total	30,747,619.789	17			

ผลการวิเคราะห์ ค่าสถิติ F = 83.152 และมีค่า Sig. = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า $\alpha = 0.05$ (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) จึงปฏิเสธ H_0 สรุปว่า มีค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ทำให้เซลล์ไลน์ L929 ตายร้อยละ 50 ที่เพาะเลี้ยงในไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล เมื่อบ่มนาน 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกัน

(2.) การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล ระหว่างสิ่งทดลอง โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-16 ผลการค่าเฉลี่ยความเป็นพิษร้อยละ 50 ระหว่างชนิดของสารและระยะเวลาบ่มโดยวิธีของดันแคน และใช้โปรแกรม SPSS 14.0 for window

Duncan

สิ่งทดลอง	จำนวนข้อมูล	Subset (ค่าเฉลี่ยความเป็นพิษร้อยละ 50)		
		1	2	3
24 cypermethrin	3	913.13		
48 cypermethrin	3	914.12		
48 lamda cyhalothrin	3		1,936.90	
24 lamda cyhalothrin	3		2,252.60	
48 Benjamas	3			3,795.97
24 Benjamas	3			4,238.06
Sig.		.996	.175	.066

ตาราง ข-17 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929 ร้อยละ 50 ของไซเพอร์เมทริน แลมด้า-ไซฮาโลทริน และสารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล

ชนิดของสาร	ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นที่เป็นพิษร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			รวม	เฉลี่ย
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3		
ไซเพอร์เมทริน	24	944.79	839.00	955.60	2,739.39	913.13
	48	889.38	953.85	899.13	2,742.36	914.12
แลมด้า-ไซฮาโลทริน	24	1,946.76	2,309.71	2,501.34	5,481.75	2,252.60
	48	1,889.01	1,964.28	1,957.40	5,810.69	1,936.90
สารสกัดหยาบดอกเบญจมาศในชั้นเมทานอล	24	4,115.50	4,358.68	4,240.00	12,714.18	4,238.06
	48	3,381.11	3,555.08	4,451.72	18,524.87	3,795.97

* ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้