

b.924592

สัญญาเลขที่ 06/ 2550

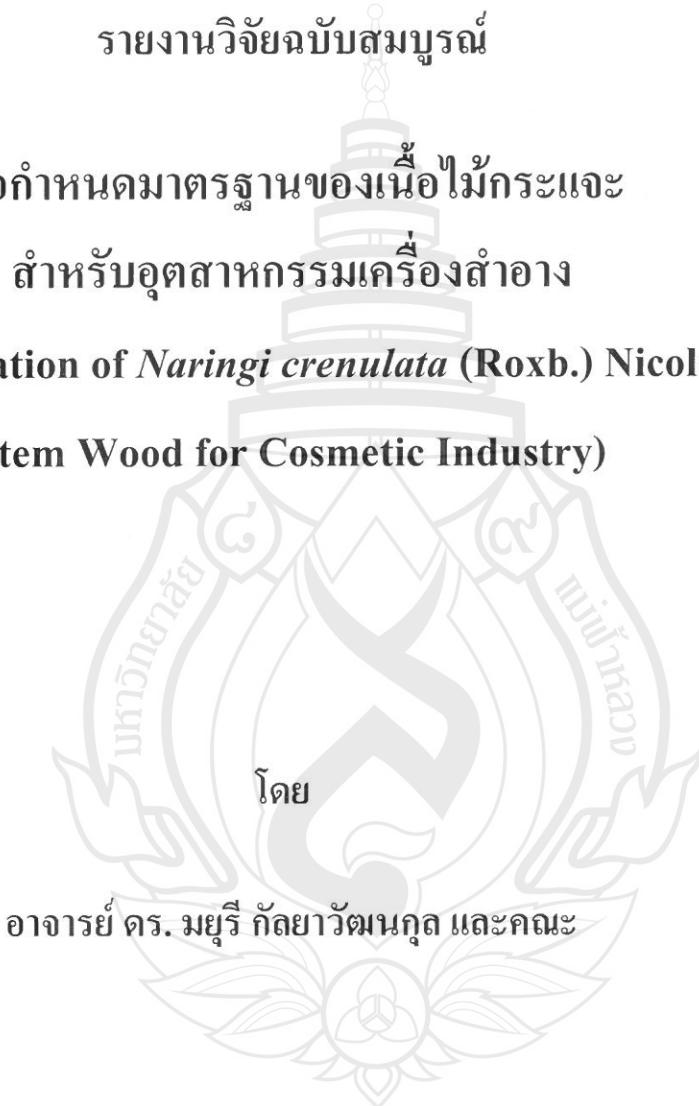
รหัสโครงการวิจัย 50208050006

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ข้อกำหนดมาตรฐานของเนื้อไม้กระเจา  
สำหรับอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

(Specification of *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson

Stem Wood for Cosmetic Industry)



งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงบประมาณ

ประจำปี พ.ศ. 2550

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และตรวจแก้ไขรายงานฉบับสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ เมธิน พุ่งกิจ อาจารย์ประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผู้ให้ข้อมูลแหล่งในการเก็บตัวอย่างกระจะในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ใช้ในการวิจัย ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ ประจำสวนรุกขชาติพระบาท จ. ลำปาง และ สวนสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี จ. ระยอง ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัย

ขอขอบคุณ คุณเสาวลักษณ์ ชัยสุข และคุณราตรี นามเมือง เจ้าหน้าที่ประจำสำนักวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ซึ่งได้ช่วยในการติดต่อประสานงาน และจัดทำเอกสารต่างๆ ตลอดช่วงเวลาการดำเนินการวิจัย

ท้ายที่สุดนี้ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในเชิงลึกและเป็นข้อกำหนดมาตรฐานเบื้องต้นในการคัดเลือกวัตถุคิน กือ เนื้อไม้กระจะ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้คุณภาพต่อไป

## บทคัดย่อ

“กระจะ” ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Naringi crenulata* ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องสำอางในประเทศไทย  
มาโดยตลอด แต่ทางตอนเหนือของประเทศไทยมานั้นอย่างยาวนาน แต่ยังไม่พบข้อกำหนดมาตรฐานในพืชชนิด  
นี้ รายงานการวิจัยนี้ได้จัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของเนื้อไม้กระจะเพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัตถุคุณภาพ  
เครื่องสำอาง โดยทำการเก็บตัวอย่างเนื้อไม้จากแหล่งต่างๆ 12 แหล่งในประเทศไทย เมื่อนำตัวอย่างเหล่านั้น  
ของเนื้อไม้มาทดสอบพบว่ามีกลิ่นหอมอ่อนๆ แต่ไม่มีรส จากลักษณะทางเคมีที่มีสารสำคัญคือ  
ในผนังเซลล์ มีการกระจายตัวของเม็ดแป้ง ผลึกแคลเซียมออกไซด์ และต่อมน้ำมันทั่วทั้งเซลล์พารา-

โน จากการตรวจสอบพุทธคณีเบื้องต้นพบว่ามีสารกลุ่มอัลคาลอยด์และคูมารินเป็นองค์ประกอบ  
นอกจากนี้ยังศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง High Liquid Performance Chromatography (HPLC)  
พบว่า ตัวอย่างทั้ง 12 แหล่งมีลักษณะองค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกันแต่มีปริมาณแตกต่างกัน การ  
วิเคราะห์ความชื้นและน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้งของตัวอย่างมีค่าเฉลี่ย ร้อยละ  $6.13 \pm 0.65$  และ  $7.56 \pm 1.159$  ตามลำดับ ส่วนปริมาณถ้ารวมและถ้าที่ไม่ละลายในกรด酇ีร์อยร้อยละ  $1.20 \pm 0.52$  และ  $0.04 \pm 0.08$  ตามลำดับ ค่าการสกัดด้วย 95% อัลกอฮอล์ เอทิลอะซิเตทและน้ำแข็งลีร์อยร้อยละ คือ  $0.17 \pm 0.06$ ,  $0.04 \pm 0.01$  และ  $0.53 \pm 0.12$  ตามลำดับ

## ABSTRACT

*Naringi crenulata* (Rutaceae) has long been served Myanmar and Northern part of Thailand as traditional cosmetics. This wood has never been specified for its standard of quality. Thus, this present report emphasizes the wood specification promises for further advanced application and utilization of this plant into various kind of appropriated cosmetic formulations based on standardized wood quality. Twelve wood samples from different sources distributed in Thailand were collected. The powdered stem wood had sweet natural fragrance but tasteless. Stem wood fibers were predominately found with large amount of longitudinal cells in addition to high lignin content in cell wall. Wood parenchyma contained starch granules and calcium oxalate crystals with oil globules thoroughly distributed. HPLC chromatograms of twelve wood samples were similar in patterns confirming the plant identity but diverse in quantity. Alkaloids and coumarin tests were positive. Average moisture content and loss on drying were  $6.13\% \pm 0.65$  and  $7.56\% \pm 1.15$ , respectively. Total and acid insoluble ash contents range were  $1.20\% \pm 0.52$  and  $0.04\% \pm 0.08$ , respectively. Extractive value using 95% EtOH, EtOAc and H<sub>2</sub>O were  $0.17\% \pm 0.06$ ,  $0.04\% \pm 0.01$  and  $0.53\% \pm 0.12$ , respectively. Thus, this wood specification of *N. crenulata* is available and appreciated for wood quality standardization.

## สารบัญ

หน้า

### บทที่ 1 บทนำ

1

- 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัจจุบันวิจัย 1
- 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 2
- 1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 2
- 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย 2
- 1.5 ระยะเวลาในการดำเนินงาน 3
- 1.6 คณะกรรมการวิจัย 3

### บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

4

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

6

### บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย

9

### บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

30

### บรรณานุกรม

32



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1-1 แผนการดำเนินโครงการวิจัย	3
ตารางที่ 4-1 แหล่ง ช่วงเวลาการเก็บหรือซื้อและหมายเลข Herbarium ของกระเจเจ	9
ตารางที่ 4-2 ค่า hRf ของสารสำคัญในสารสกัดจากคำต้นกระเจเจเมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร	22
ตารางที่ 4-3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง	25
ตารางที่ 4-4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณถ้ารวมและปริมาณถ้าที่ไม่ละลายในกรด	27
ตารางที่ 4-5 ผลการวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ	28
ตารางที่ 5-1 ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุดและสูงสุดของค่าต่างๆที่ทำการวิเคราะห์ของกระเจเจ	30



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 4-1 ลักษณะทางmorphologyของต้น ใบและผลของกระเจเจ	10
ภาพที่ 4-2 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 1	11
ภาพที่ 4-3 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 2	11
ภาพที่ 4-4 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 3	11
ภาพที่ 4-5 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 4	12
ภาพที่ 4-6 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 5	12
ภาพที่ 4-7 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 6	12
ภาพที่ 4-8 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 7	13
ภาพที่ 4-9 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 8	13
ภาพที่ 4-10 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 9	13
ภาพที่ 4-11 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 10	14
ภาพที่ 4-12 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 11	14
ภาพที่ 4-13 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นตัวอย่างที่ 12	14
ภาพที่ 4-14 ลักษณะทางmorphologyของลำต้นกระเจเจ	15
ภาพที่ 4-15 ลักษณะทางจุลกายวิภาคของผลลำต้นกระเจเจ	18
ภาพที่ 4-16 ลักษณะทางจุลกายวิภาคภาพตัดขวางของลำต้นกระเจเจ	19
ภาพที่ 4-17 ลักษณะทางโคมาราโต้แกรมชนิดผิวนางของสารสกัดจากลำต้นกระเจเจ	21
ภาพที่ 4-18 ลักษณะทางโคมาราโต้แกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	24

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาปัจุหานี้ทำวิจัย

การนำสมุนไพรหรือสารจากธรรมชาติมาใช้ในการเสริมความงามของมนุษย์มีมาแต่โบราณกาล ซึ่งบางอย่างอาจมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับพิธีกรรมทางศาสนา เช่น การใช้น้ำอบเงินหรือประพรในพิธีการต่างๆ โดยในการนำสมุนไพรหรือสารจากธรรมชาติมาใช้น้ำอ่างใช้โดยตรงหรือเตรียมขึ้นใช้เองด้วยวิธีการง่ายๆ ภายในครัวเรือน เช่น ชาวอินเดียใช้เครื่องเทศของหอมจากดอกไม้ ชาวจีนใช้根ของเมล็ดชาสะสม ชาวไทยโบราณใช้ผลมะคำดีกวายและเปลือกขี้หนอนในการสระผมและซักเสื้อผ้า ใช้ผลแก่ของบัวบูรและฝักสันป้อยสะสม ใช้ดินสอพองผัดหน้า ขมิ้นชาผิวให้เหลือง ใช้น้ำอบไทยชาผิว ส่วนชาวพม่าใช้ไม้กระจะซึ่งเรียกว่า ทะนาค นำมาฝนเพื่อทากหน้าและผิวกายให้ขาวนวล เป็นต้น ต่อมาเมื่อสังคมโลกเริ่มนีวิวัฒนาการขึ้นจากการเตรียมใช้เองภายในครอบครัวก็เริ่มมีการผลิตเพื่อการอุดสาหกรรมทั้งเครื่องสำอางและน้ำหอมอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในสังคมเทคโนโลยีอย่างปัจจุบันมนุษย์เราต้องเผชิญกับมลภาวะที่ส่งผลให้เกิดความเครียดทั้งด้านร่างกายและจิตใจอย่างมาก many ปัจจุบันยังให้ผู้คนดูแลสุขภาพที่จะพันตัวเองกลับคืนสู่ธรรมชาติเหมือนเข่นบรรพบุรุษ ดังจะเห็นได้จากการหันมาเจาใจใส่ในเรื่องสุขภาพและความงามจากธรรมชาติมากขึ้น โดยเฉพาะด้านความงาม ปัจจุบันมีสถานเสริมความงามตามธรรมชาติดังเช่น สปา เกิดขึ้นมากมาย ซึ่งสถานเสริมความงามเหล่านี้มีความต้องการพืชสมุนไพร และสารจากธรรมชาติอื่นๆ เพื่อบำรุงความงามให้กับผู้มารับบริการทั้งในการใช้โดยตรง หรือในรูปของผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอางที่มีสารสกัดจากธรรมชาติเป็นองค์ประกอบอยู่ ทั้งนี้การใช้สารสกัดจากธรรมชาติ โดยเฉพาะจากพืชในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หากนำมาผลิตในระดับอุดสาหกรรมโดยตรงมักพบปัจจุบันด้านความคงตัว การทำให้บริสุทธิ์ ความไม่แน่นอนในประสิทธิภาพ รวมถึงความไม่น่าใช้ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ ทำให้ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเป็นการใช้พืชแห้งแล้วนำมาสกัดเอาสารสำคัญมาผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางรูปแบบต่างๆ ทำให้ใช้สะดวก มีคุณภาพแน่นอนขึ้น

อย่างไรก็ตามการที่พืชสมุนไพรเพื่อความงามได้รับความสนใจ และมีความสำคัญในแง่เศรษฐกิจมากขึ้น ทำให้เกิดปัจจุหานี้ร่องการปนปลอมมากขึ้น ส่งผลให้คุณภาพของวัตถุคุณภาพจากธรรมชาติเหล่านี้ไม่แน่นอน ดังนั้นเพื่อเป็นการประเมินคุณภาพของพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นวัตถุคุณภาพในการผลิตยาและเครื่องสำอางจึงต้องมีการจัดทำมาตรฐานสมุนไพรแต่ละชนิดเป็นเกณฑ์ที่จะสามารถใช้เพื่อตรวจสอบคุณภาพสมุนไพรได้ทั้งก่อนนำไปผลิตและภายหลังการผลิตออกมามาเป็นผลิตภัณฑ์ รวมถึง “กระจะ” เป็น

พืชสมุนไพรที่ปัจจุบันมีความสำคัญต่อธุรกิจด้านความงามไม่แพ้สมุนไพรอื่นๆ เช่น ขมิ้นชัน บัวบก หรือ ว่านหางจระเข้ “กระเจด หรือ พญาฯ หรือ ตะนาว” หรือที่รู้จักกันดีในชื่อที่ชาวพม่าเรียกว่า ทะนาค เป็นพืชที่มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson ชื่อพ้อง *Hesperethusa crenulata* (Roxb.) Roem. หรือ *Limonia crenulata* Roxb. ในวงศ์ Rutaceae เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้นหรือไม้ต้นขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ ลำต้นตรง แตกกิ่งต่ำ ผิวเรียบ มักมีหนามแข็ง แหลมและยาว ส่วนเนื้อไม้มีสีขาว เมื่อตัดทิ้งไว้นานอาจจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ทั้งเนื้อและเปลือกบดเป็นผงละเอียดใช้ทาผิวนัง ทำให้ผิวนียนสวาย ชั่วโมงในมาใช้ในทางเครื่องสำอางอย่างแพร่หลายในเขตจังหวัดเชียงราย รวมทั้งมีผลิตภัณฑ์ทางเครื่องสำอางในรูปแบบ สนู๊ฟ หรือ ผงขัดผิว เป็นต้น แต่ในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรชนิดนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกวัตถุดินที่ดีในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางด้านเครื่องสำอาง จึงมีความจำเป็นต้องมีการกำหนดมาตรฐานที่ชัดเจน เพื่อเป็นข้อมูลที่เกิดประโยชน์แก่ผู้ที่จะนำไปใช้ได้อย่างถูกต้อง อีกทั้งมีพืชสมุนไพรในประเทศไทยที่มีชื่อว่า “กระเจด” คือ *Ochna integerrima* Merr. วงศ์ Ochnaceae เช่นเดียวกับกระเจดที่นำมาใช้ในเครื่องสำอาง ดังนั้น เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความสับสนแก่ผู้บริโภค รวมถึง เป็นประโยชน์และมาตรฐานที่ดีแก่ผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอาง กลุ่มผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรชนิดนี้ขึ้น เพื่อให้เป็นมาตรฐานและป้องกันไม่ให้เกิดคลาดเคลื่อนในการเลือกใช้กระเจดเพื่อการพัฒนาเป็นเครื่องสำอางต่อไป

## 1.2 สรุปวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของเนื้อไม้กระเจดสำหรับอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

## 1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถกำหนดมาตรฐานการประเมินคุณภาพของกระเจดได้

1.3.2 ใช้ข้อกำหนดมาตรฐานที่ได้คัดเลือกนี้ ไม้กระเจดเพื่อใช้เป็นวัตถุดินในการผลิตเครื่องสำอาง

1.3.3 เพื่อยกระดับมาตรฐานสมุนไพรไทยสู่สากล

## 1.4 ขอบเขตงานของโครงการวิจัย

การวิจัยนี้จัดทำมาตรฐานของสมุนไพรกระเจดเฉพาะส่วนที่นำมาใช้ในทางเครื่องสำอาง คือ เนื้อไม้ซึ่งเก็บได้จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย และร้านขายสมุนไพรหลายแห่ง รวมทั้งสิ้น 12 แหล่ง

## 1.5 ระยะเวลาการดำเนินงาน

ตารางที่ 1-1 แผนการดำเนินโครงการวิจัย

กิจกรรม	เดือนที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร												
2. การตรวจเอกสารทั้งหมดของเกษตรกร												
3. การตรวจเอกสารทั้งหมดของเคมี												
4. การตรวจหาสิ่งแปลกปลอม												
5. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น												
6. การวิเคราะห์หน้าหนักที่ขายไปเมื่อทำให้แห้ง												
7. การวิเคราะห์ปริมาณเต้า												
8. การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย												
9. สรุปและเขียนรายงาน												

## 1.6 คณะกรรมการ

หัวหน้าโครงการ

อาจารย์ ดร. มยุรี กัญญาวนกุล

สำนักวิทยาศาสตร์ เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. อาจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

สำนักวิทยาศาสตร์ เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2. อาจารย์ ดร. อำนาจ พฤติวรพงศ์กุล

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ที่ปรึกษาวิจัยโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์<sup>1</sup>

กระจะ เป็นพืชสมุนไพรที่ปัจจุบันมีความสำคัญต่อธุรกิจด้านความงามไม่แพ้สมุนไพรอื่นๆ เช่น ขมิ้นชัน บัวบก หรือว่านหางจระเข้ กระจะ หรือ พญาฯ หรือ ตะนาว หรือที่รู้จักกันดีในชื่อที่ชาวพม่าเรียก คือ ทะนาคา เป็นพืชที่มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson ชื่อพ้อง *Hesperethusa crenulata* (Roxb.) Roem. หรือ *Limonia crenulata* Roxb. ในวงศ์ Rutaceae

ลักษณะ เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้นหรือไม้ต้นขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ สูง 8-15 เมตร ลำต้นตรง แตกกิ่งตามลำดับ ผิวเรียบ มักมีหนามแข็ง แห้งแลดูอยู่ทั่วไป กิ่งอ่อนและยอดอ่อนเกลี้ยง

ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับกันมีใบย่อย 4-13 ใบ แกนใบประกอบมีครีบออกสองข้าง เป็นช่วงๆ ระหว่างคู่ใบย่อย ในย่อยรูปรีเกณรูปไข่กลับ กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ยาว 2-7 เซนติเมตร โคนและปลายใบส่วนแคน เนื้อใบบาง เนียนเกลี้ยง เมื่อส่องดูจะเห็นต่อมน้ำมันเป็นจุดใสๆกระจายอยู่ทั่วไป ขอบใบหยักเป็นชี้ฟันเลื่อยตื้นๆ

ดอก ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ แต่รวมกันเป็นกระฉุกตามกิ่งเล็กๆ สีขาวหรือสีขาวอมเหลือง กลีบดอกมี 4 กลีบ เมื่ออบนจะแผ่ออกหรือถูกไฟเผา ก้านดอกน้อย เกสรตัวผู้มี 5 อัน

ผล เป็นผลสด กลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1 เซนติเมตร เมื่ออ่อนมีสีเขียว แก่จัดเป็นสีม่วงคล้ำ เนื้อไม่มีสีขาว เมื่อตัดมาใหม่จะมีสีขาว และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ทิ้งไว้นานๆจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนเหลืองอ่อน เมื่ออบด ฝน หรือวางเนื้อไม้แล้วเปลือกไม้ให้เป็นผงละเอียด จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ใช้ทำผิวนัง ทำให้ผิวนีนสวาย หรือใช้เป็นส่วนผสมหลักในเครื่องประทินผิวแบบโบราณหลายชนิด ใช้ผสมในเครื่องหอมที่เรียกว่า “กระจะตะนาว” นิยมใช้กันมากในประเทศไทย

ตามตำราสรรพคุณยาโบราณของไทย เปลือกต้นมีรสมันใช้แก้ไข้ ขับลมผาย บำรุงดวงจิตให้แจ่มชื่น แก่นมีรสมัน คงเหล้ากินแก้กระษัย แก้โภหิตพิการ ดับพิษร้อน ในผสมกับสมุนไพรอื่นด้วยน้ำกินแก้ลมบ้าหมู ผลมีรสมันเป็นยาบำรุงกำลัง

## 2.2 งานวิจัยด้านพฤกษ์เคมี

การศึกษาวิจัยด้านพฤกษ์เคมีพบสารสำคัญจากส่วนต่างๆ ของกระเจดงนี้<sup>1</sup>

จำต้น พบสารสำคัญดังต่อไปนี้ Crenulatine, 4-Methoxy-6-hydroxy-1-methyl-2-quinolone, N-benzoyletryptamine methyl ether, Tembamid<sup>2</sup> นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มอินโดลขั้วคาดอยด์ คือ *N*<sub>(b)</sub>-acetyl-*N*<sub>(b)</sub>-methyltryptamine, (+)-Tanakine และ (+)-Tanakamine<sup>3</sup> เป็นต้น

เปลือกต้น พบสารสำคัญดังต่อไปนี้ 4-Methoxy-1-methyl-2-quinolone<sup>4</sup>,  $\beta$ -sitosterol, Marmesin, Lupeol<sup>5</sup>, Psoralen และ Bergapten<sup>6</sup> เป็นต้น

เปลือกราก พบสารสำคัญดังต่อไปนี้ Osthol, Aurapten, Stigmsterol, Isopimpinellin, Psoralen, Bergapten<sup>6</sup>, Sitosterol, 4-Methoxy-1-methyl-2-quinolone, Prenylated 7-methoxycoumarin, Suberosin, Marmesin, 7-Methoxy-6-(2,3-epoxy-6-methylbuthyl)coumarin<sup>7</sup>, Dihydroxysuberenol<sup>8</sup>, 6-Formyl-7-methoxycoumarin และ 7-Methoxycoumarin<sup>9</sup> เป็นต้น

ผล พบสารสำคัญดังต่อไปนี้ Dihydroxy acidissiminol, Acidissiminol epoxide, *N*-benzoyl tyramine<sup>10</sup> และ Severine palmitate<sup>11</sup> เป็นต้น

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### วิธีการดำเนินการวิจัยมีดังต่อไปนี้

##### 3.1 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจะดำเนินการเก็บจาก野外แหล่งซึ่งอาจเป็นแหล่งชื้อขาย หรือเป็นแหล่งปลูกในประเทศไทย รวมทั้งสิ้น 12 แหล่ง โดยมีการบันทึกถึงแหล่งที่ได้มา และกรณีเก็บจากแหล่งปลูกบางแหล่ง ได้จัดทำ Herbarium specimen และบันทึกช่วงเวลาที่เก็บ

##### 3.2 การตรวจสอบเอกสารลักษณะทางเภสัชเวท

###### 3.2.1 ลักษณะ宏观ทัศน์ (*Macroscopic characters*)

เป็นการตรวจสอบลักษณะสมุนไพรโดยใช้ประสานสัมผัสทั้งห้าเพื่อให้ทราบถึง รูปร่างและขนาด (shape and size) สีและลักษณะน่าสังเกตภายนอก (colour and external markship) รอยหักและสีภายใน (fracture and internal colour) และกลิ่น (odor)

###### 3.2.2 ลักษณะทางจุลทรรศน์ (*Microscopic characters*)

เป็นวิธีการประเมินคุณภาพและตรวจสอบความถูกต้องของสมุนไพรโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจลักษณะเซลล์และเนื้อเยื่อ การวัดขนาดเนื้อเยื่อและการตรวจวิเคราะห์สารเคมีและผลึก

##### 3.3 การตรวจสอบเอกสารลักษณะทางเคมี

###### 3.3.1 การตรวจสอบพฤกษาเคมีเบื้องต้น

เพื่อการตรวจหากลุ่มของสารสำคัญ โดยการทำให้เกิดสี การตกตะกอน หรือปฏิกิริยาอื่นๆที่สามารถใช้เป็นแนวทางในการตรวจสอบคุณภาพทางเคมีโดยละเอียดต่อไป

###### 3.3.2 การตรวจสอบกระบวนการโภคราฟี

ใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และ/หรืออาจใช้ HPLC เพื่อทำ finger print ไว้เป็นเอกสารลักษณะ

### 3.4 การตรวจหาปริมาณสิ่งแปลกปลอม

สุ่มตัวอย่างตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำราของประเทศไทยจำนวน 100 กรัม นำมาเกลี่ยในภาชนะแบบราน กัดแยกสิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่าหรือด้วยแวนน์บาย ซึ่งน้ำหนักสิ่งแปลกปลอมคำนวณหา น้ำหนักร้อยละของสิ่งแปลกปลอมในตัวอย่าง

### 3.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

โดยใช้วิธี Azeotropic distillation method โดยใส่โทลูอิน 200 มิลลิลิตรและน้ำ 2 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลม กลั่น 2 ชั่วโมง ทำให้เย็น อ่านปริมาณที่กลั่นได้

ซึ่งผงสมุนไพรที่คาดว่าจะมีน้ำประมาน 2-3 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม เติม glass bead ต้มเบาๆ ประมาณ 15 นาที จนโทลูอินเริ่มเดือด สังเกตให้มีการหยดประมาน 2 หยดต่อวินาที จันกระทั้งคาดว่ามีน้ำ หมดแล้ว เพิ่มอัตราเป็น 4 หยดต่อวินาที ต่อไปอีกระยะหนึ่ง ล้าง condenser ด้วยโทลูอิน ต้มต่อไปอีก 5 นาที ทำให้เย็น ชั้นน้ำและโทลูอินจะแยกกัน อ่านปริมาณน้ำและคำนวณหาปริมาณน้ำเป็นร้อยละ

### 3.6 การวิเคราะห์น้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง

นำผงสมุนไพรที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 5 กรัม (น้ำหนักที่ซึ่งอย่างละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บรรจุ ในขวดชั่ง (weighing bottle) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เกลี่ยผงสมุนไพรให้เรียบ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปจากผงสมุนไพรที่ใช้ (น้ำหนักที่หายไปคือปริมาณน้ำและสารระเหยได้ของสมุนไพร)

### 3.7 การวิเคราะห์ปริมาณถ้า

#### 3.7.1 ปริมาณถ้ารวม

เพาผงสมุนไพรที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 2-4 กรัมในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักแน่นอนในเตาเผา โดยค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิไม่เกิน 450 องศาเซลเซียส จนได้ถ้าสีขาวปราศจากคราบอน ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่ง น้ำหนัก หากถ้ายังมีสีดำ ทิ้งถ้วยกระเบื้องไว้ให้เย็น เติมน้ำ 2 มิลลิลิตร นำไปทำให้แห้งบนอ่างอิอน้า และเตาให้ความร้อน แล้วนำไปเผาจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งน้ำหนักคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณถ้ารวมจากผง สมุนไพรที่ใช้

### **3.7.2 ปริมาณถ้าที่ไม่ละลายในกรด**

เติมกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 2 โมลาร์ จำนวน 25 มิลลิลิตร ลงในถ้วยกระเบื้องที่มีถ้วยรวม ปิดถ้วยกระจากน้ำพิกา ต้มนาน 5 นาที กรองถ้วยกระดาษกรองชนิดที่ปราศจากถ้า ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน จนน้ำล้างตะกอนเป็นกลาง นำถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยกระเบื้องใบเดิม ทำให้แห้งบนเตาให้ความร้อน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณถ้าที่ไม่ละลายในกรดจากผงสมุนไพรที่ใช้

## **3.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย**

### **3.8.1 ปริมาณสารสกัดด้วย 95% เอทานอล**

หมักผงสมุนไพรที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 5 กรัม ด้วย 95% เอทานอล จำนวน 100 มิลลิลิตรในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทนาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรกให้เหลวขึบวนบ่อยๆ ตั้งทิ้งไว้อีก 18 ชั่วโมง กรองอย่างรวดเร็วและปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กรองได้จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ปล่อยให้ระเหยจนแห้ง นำไปป้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณเทียบกับไปยัง 100 มิลลิลิตรและคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารที่ได้จากการผงสมุนไพรที่ใช้

### **3.8.2 ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ**

ทำเช่นเดียวกับเมื่อใช้ 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลาย แต่เปลี่ยนเป็นใช้ตัวทำละลายอื่นๆ เช่น เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรเมเทน แทน

## บทที่ 4

### ผลการศึกษาวิจัย

#### 4.1 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

การเก็บตัวอย่างพืช กือส่วนลำต้นกระจะจากแหล่งต่างๆทั้งสิ้น 12 ตัวอย่างจาก 9 จังหวัดในประเทศไทยดังแสดงในตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 แหล่ง ช่วงเวลาการเก็บหรือซื้อและหมายเลข Herbarium ของกระจะ

ตัวอย่างที่	แหล่งตัวอย่าง	เดือนที่เก็บหรือซื้อ	หมายเลข Herbarium
1	อ. นาน้อย จ. น่าน	เมษายน	-
2	อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน	มิถุนายน	-
3	อ. เมือง จ. เชียงใหม่	เมษายน	NC001
4	อ. ชุมทาง จ. เชียงใหม่	เมษายน	NC002
5	อ. ขอนทอง จ. เชียงใหม่	พฤษภาคม	NC003
6	อ. เมือง จ. ลำปาง	พฤษภาคม	NC004
7	อ. เมือง จ. ร้อยเอ็ด	พฤษภาคม	-
8	อ. เมือง จ. นครราชสีมา	พฤษภาคม	-
9	อ. กันนิกต์พัฒนา จ. ระยอง	กรกฎาคม	NC005
10	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี	พฤษภาคม	NC006
11	อ. แม่สาย จ. เชียงราย	พฤษภาคม	-
12	อ. แม่สาย จ. เชียงราย	พฤษภาคม	-

จากตารางที่ 4-1 พบว่า ตัวอย่างกระจะที่ได้จากการเก็บจากแหล่งปลูกหรือซื้อจากร้านค้าทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง ในช่วงเวลาต่างๆกัน อยู่ในเขตภาคเหนือ 8 ตัวอย่าง กือ ตัวอย่างที่ 1, 3 และ 4-6 ซึ่งเก็บจากแหล่งปลูก ส่วนตัวอย่างที่ 2, 11 และ 12 ซื้อจากร้านค้า ในเขตภาคตะวันออก 1 ตัวอย่าง กือ ตัวอย่างที่ 9 และใน

เขตภาคตะวันตก 1 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 10 ซึ่งหั้งสองตัวอย่างเก็บจากแหล่งปลูก และในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 7 และ 8 ซึ่งหั้งสองตัวอย่างซื้อจากร้านค้า

## 4.2 การตรวจสอบลักษณะทางเกษตรฯ

### 4.2.1 ลักษณะทางน้ำทึบ (Macroscopic characters)



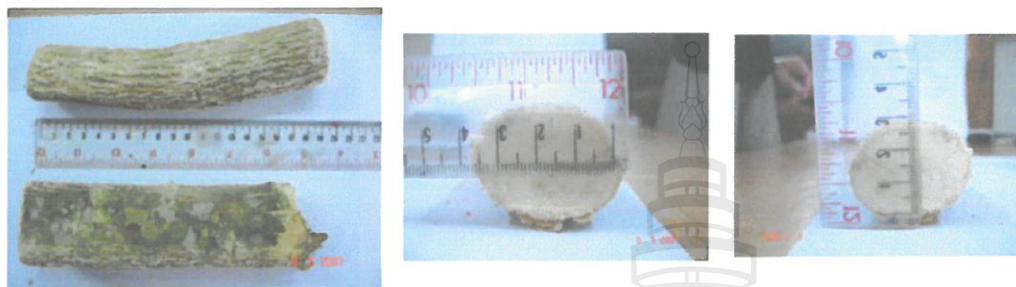
ภาพที่ 4-1 ลักษณะทางน้ำทึบของต้น ใบ และผลของกระแตะ

จากภาพที่ 4-1 แสดงลักษณะทางน้ำทึบของกระแตะ จะแจะ (ภาคเหนือ) พญาฯ (ภาคกลาง ราชบุรี) ตุมตัง (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) หรือที่ชาวพม่าเรียกว่า ทะนะคา (Thanaka) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson หรือ *Hesperethusa crenulata* (Roxb.) Roem. หรือ *Limonia crenulata* Roxb. เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้นหรือ ไม้ต้นขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ สูง 3-8 เมตร ลำต้นตรง แตกกิ่งต่ำ ผิวเรียบ มักมี หนามแข็ง แหลมและยาว กิ่งอ่อนและยอดอ่อนเกลี้ยง

ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับกันมีใบย่อย 4-13 ใบ แกนใบประกอบมีคริบของสองข้าง เป็นช่วงๆ ระหว่างคู่ใบย่อย ในย่อยชูปีกแกมนูนไปกลับ โคนและปลายใบสอบแคบ เนื้อใบบาง เนียนเกลี้ยง เมื่อส่องดูจะเห็นต่อมน้ำมันเป็นจุดใสๆ กระจายอยู่ทั่วไป ขอบใบหยักเป็นซี่ฟันเลื่อยตื้นๆ

ดอก ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ แต่รวมกันเป็นกระชุกตามกิ่งเล็กๆ สีขาวหรือสีขาวอมเหลือง กลีบดอกมี 4 กลีบ เมื่อ蔫จะแห้งแล้งหรือสูญเสียไปทางก้านเล็กน้อย เกสรตัวผู้มี 5 อัน

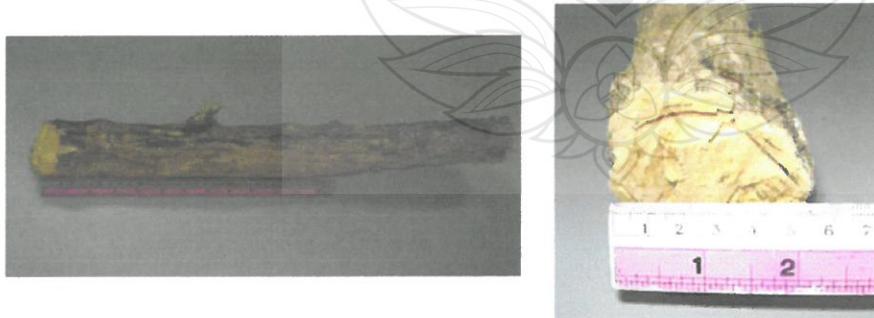
ผลกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 เซนติเมตร เมื่ออ่อนนี้เป็นเยาว์ แก่จัดเป็นสีน้ำเงินคล้ำ ส่วนเนื้อไม้มีสีขาว เมื่อตัดทิ้งไวนานจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมีกลิ่นหอมอ่อนๆ เมื่อบดหรือฝนเนื้อไม้และเปลือกไม้ให้เป็นผงละเอียด จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆ



ภาพที่ 4-2 ลักษณะทางmorphology ของลำต้นตัวอย่างที่ 1



ภาพที่ 4-3 ลักษณะทางmorphology ของลำต้นตัวอย่างที่ 2



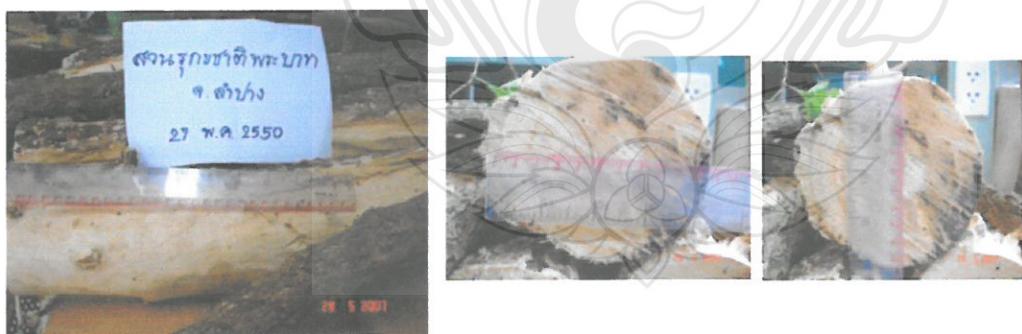
ภาพที่ 4-4 ลักษณะทางmorphology ของลำต้นตัวอย่างที่ 3



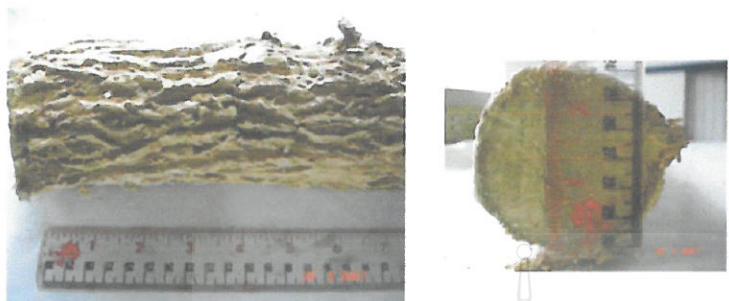
ภาพที่ 4-5 ลักษณะทางมหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 4



ภาพที่ 4-6 ลักษณะทางมหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 5



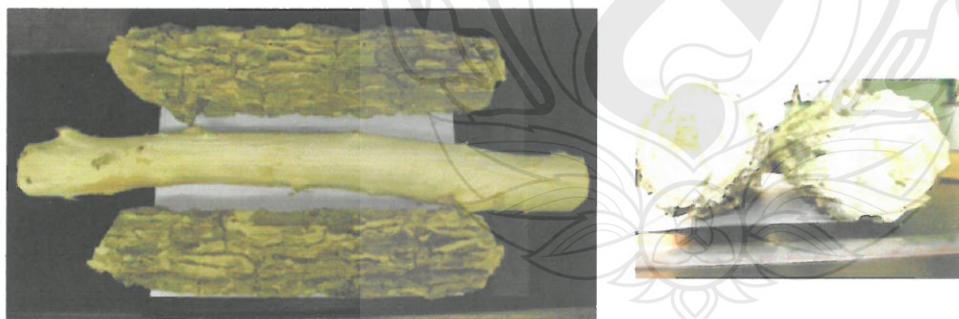
ภาพที่ 4-7 ลักษณะทางมหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 6



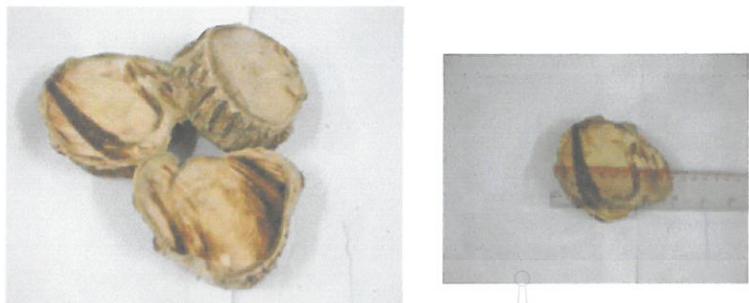
ภาพที่ 4-8 ลักษณะทางนหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 7



ภาพที่ 4-9 ลักษณะทางนหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 8



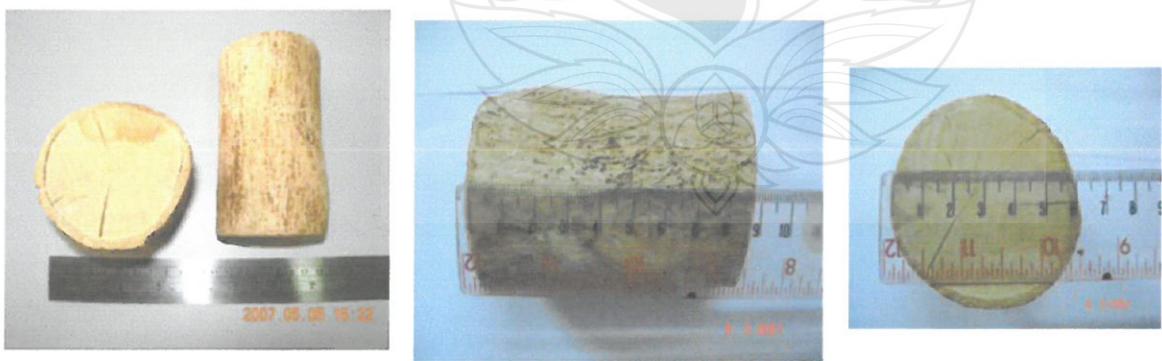
ภาพที่ 4-10 ลักษณะทางนหัศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 9



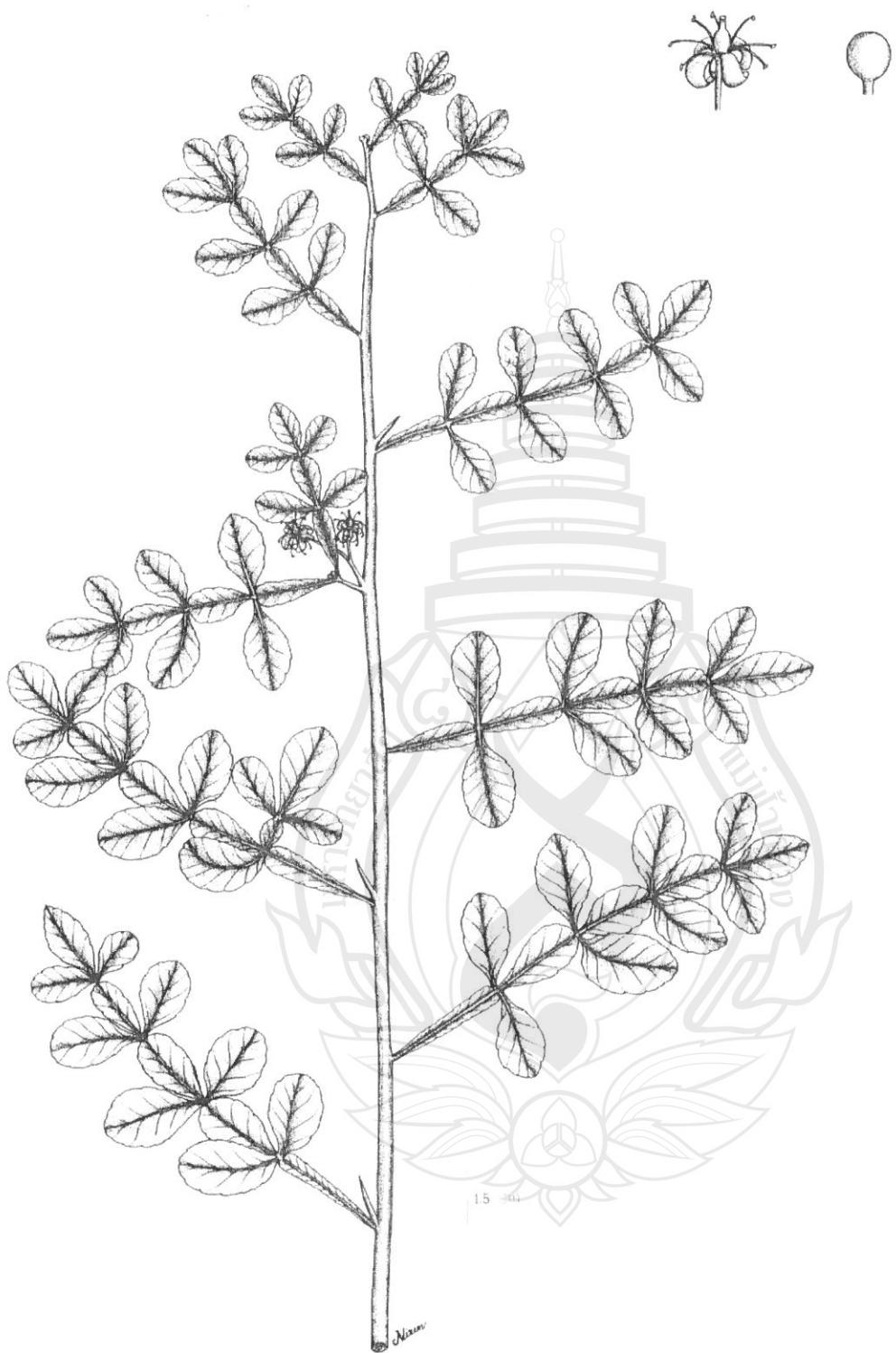
ภาพที่ 4-11 ลักษณะทางนหทศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 10



ภาพที่ 4-12 ลักษณะทางนหทศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 11



ภาพที่ 4-13 ลักษณะทางนหทศน์ของลำต้นตัวอย่างที่ 12



ภาพที่ 4-14 ลักษณะทางmorphology ของลำต้นกระเจา

#### 4.2.2 ลักษณะทางจุลทรรศน์ (Microscopic characters)

การประเมินคุณภาพและตรวจสอบความถูกต้องของสมุนไพรโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจลักษณะเซลล์และเนื้อเยื่อ การวัดขนาดเนื้อเยื่อและการตรวจวิเคราะห์สารเคมี ผลึก

4.2.2.1 ลักษณะทางจุลทรรศน์ของผงส่วนลำต้นกระเจา (Powdered *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson) ผงเป็นสีเหลืองอ่อนๆและมีกลิ่นหอม ไม่มีรส ลักษณะภายในกล้องจุลทรรศน์พบเซลล์และเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ มากน้อยตามลำดับ ดังแสดงในภาพ 4-14 ดังนี้

1. ชิ้นส่วนของเซลล์เส้นใยของเนื้อไม้
2. ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อแนวรัศมีของไชเดิม (2a เซลล์เส้นใยของเนื้อไม้, 2b เซลล์รัศมีของเนื้อไม้ (medullary ray))

3. ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อแนวพื้นผิวสัมผัสของไชเดิม (3a เซลล์เส้นใยของเนื้อไม้, 3b เซลล์รัศมีของเนื้อไม้ (medullary ray))

4. ชิ้นส่วนของเซลล์ท่อน้ำแบบรอยเว้ามีขอบ (bordered pitted vessel)

5. ชิ้นส่วนของเซลล์พาราเรนคิมาของเนื้อไม้ตามแนวยาว

6. เม็ดแป้ง

7. ผลึกแคลเซียมօอกชาเลตруปปริซึม

ลักษณะของสมุนไพรเป็นผงสีออกเหลืองนวล มีกลิ่นหอมเย็นอ่อนๆ ลักษณะภายในกล้องจุลทรรศน์ของเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ มีดังนี้คือ

1. ชิ้นส่วนของเซลล์เส้นใยของเนื้อไม้พบในปริมาณมาก จำนวนที่พบของเซลล์ตามยาวเป็นส่วนใหญ่ หัวและท้ายเซลล์แหลมหรือเป็นรอยหัก ผนังเซลล์หนาและมีสารลิกนินมาสีส้มมาก

2. ชิ้นส่วนของเซลล์เนื้อเยื่อของไชเดิม พบร่องค้านรัศมีและค้านพื้นผิวสัมผัส โดยเรียงตัวตั้งฉากกับเซลล์เส้นใย ผนังเซลล์ค่อนข้างหนาและมีสารลิกนินมาสีส้ม

3. ชิ้นส่วนของเซลล์ท่อน้ำ พบเซลล์ท่อน้ำแบบรอยเว้ามีขอบ (bordered pitted vessel) จำนวนน้อย โดยมักพบอยู่เดียวๆ และเป็นเศษหักของเซลล์

4. ชิ้นส่วนเซลล์พาราเรนคิมาของเนื้อไม้ เป็นเซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า ผนังเซลล์ค่อนข้างหนา พบรูรูป canal บนผนังเซลล์ อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มหรืออยู่เดียวๆ ภายในเซลล์อาจมีเม็ดแป้ง

5. เม็ดแป้ง พบระยะหัวใจไป ลักษณะเป็นเม็ดกลมขนาดเล็ก อยู่เดียวๆ หรือติดกัน 2-3 เม็ด

6. ผลึกแคลเซียมօอกชาเลตруปปริซึม

4.2.2.2 สักษณะทางจุลกายวิภาคของลำต้นภาคตัดขวาง (Transverse section of *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson stem wood)

ลักษณะกายวิภาคของลำต้นกระเจษประกอบด้วยเนื้อเยื่อหรือเซลล์ชั้นต่างๆ เรียงตามลำดับ ดังแสดงในภาพ 4-15 ดังนี้

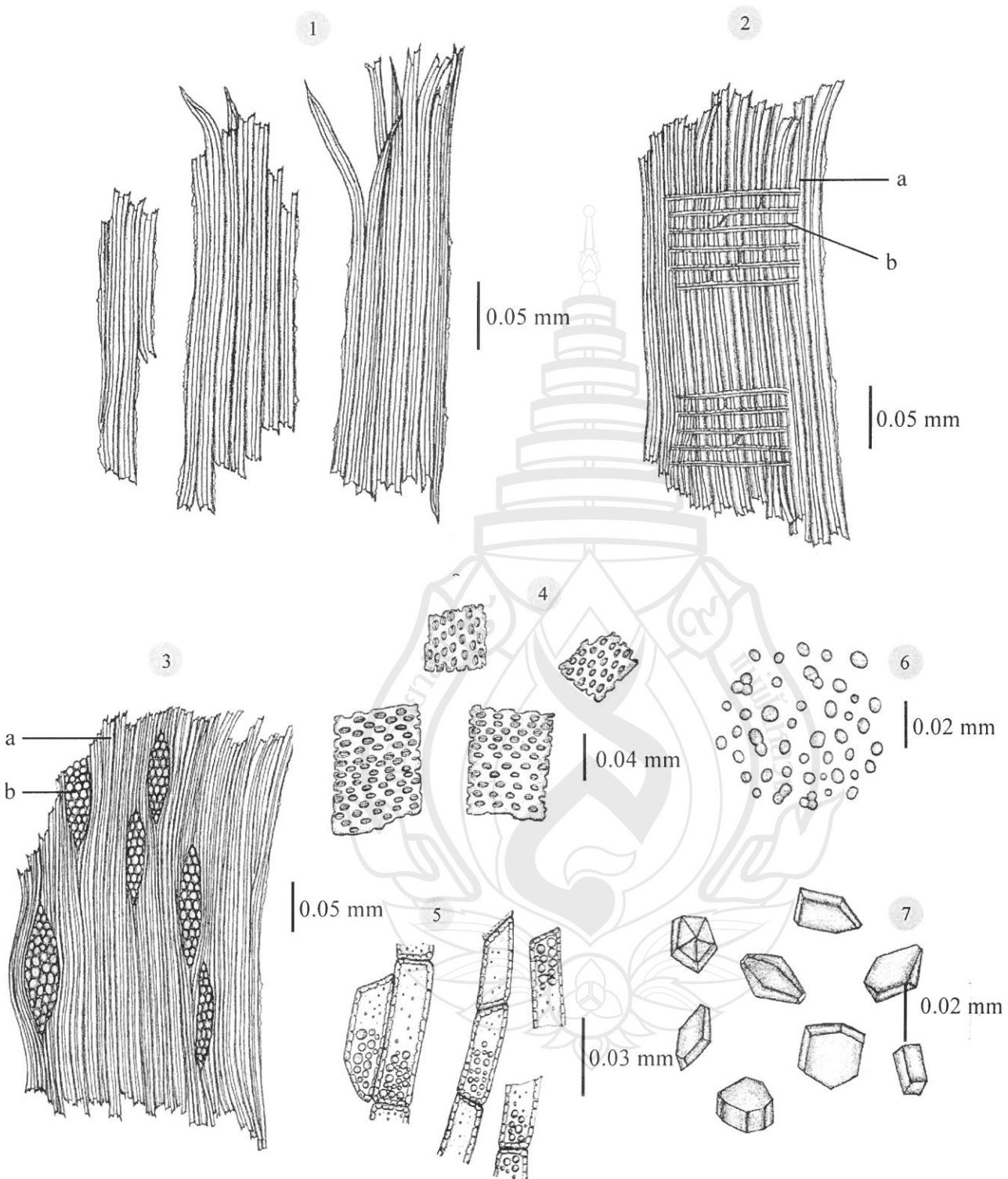
1. ชั้นเซลล์ผิว (epidermis) ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัว 2-3 ชั้นเซลล์ ไม่พbnhnหรือต่อม

2. ชั้นคอร์เทกซ์ อยู่ถัดจากชั้นเซลล์ผิว ประกอบด้วยเซลล์พานรคิมาที่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ บางเซลล์ภายในมีเม็ดเปลี่ยนรูปเป็นกลุ่ม เซลล์สเกลอริด มักพบอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม 2-3 เซลล์ หรืออยู่เป็นเซลล์เดียวๆ ผนังเซลล์หนา มีสารลิกนินมาก หนึ่งช่องในเซลล์ (lumen) และรอยแยกชัดเจน ใกล้กับตอนในพนเซลล์เส้นใย (fiber) อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม กระჯัดกระจาย

3. ชั้นไฟลเอ็ม ประกอบด้วยเซลล์ผนังบาง เรียงกันจำนวน 6-8 แฉ

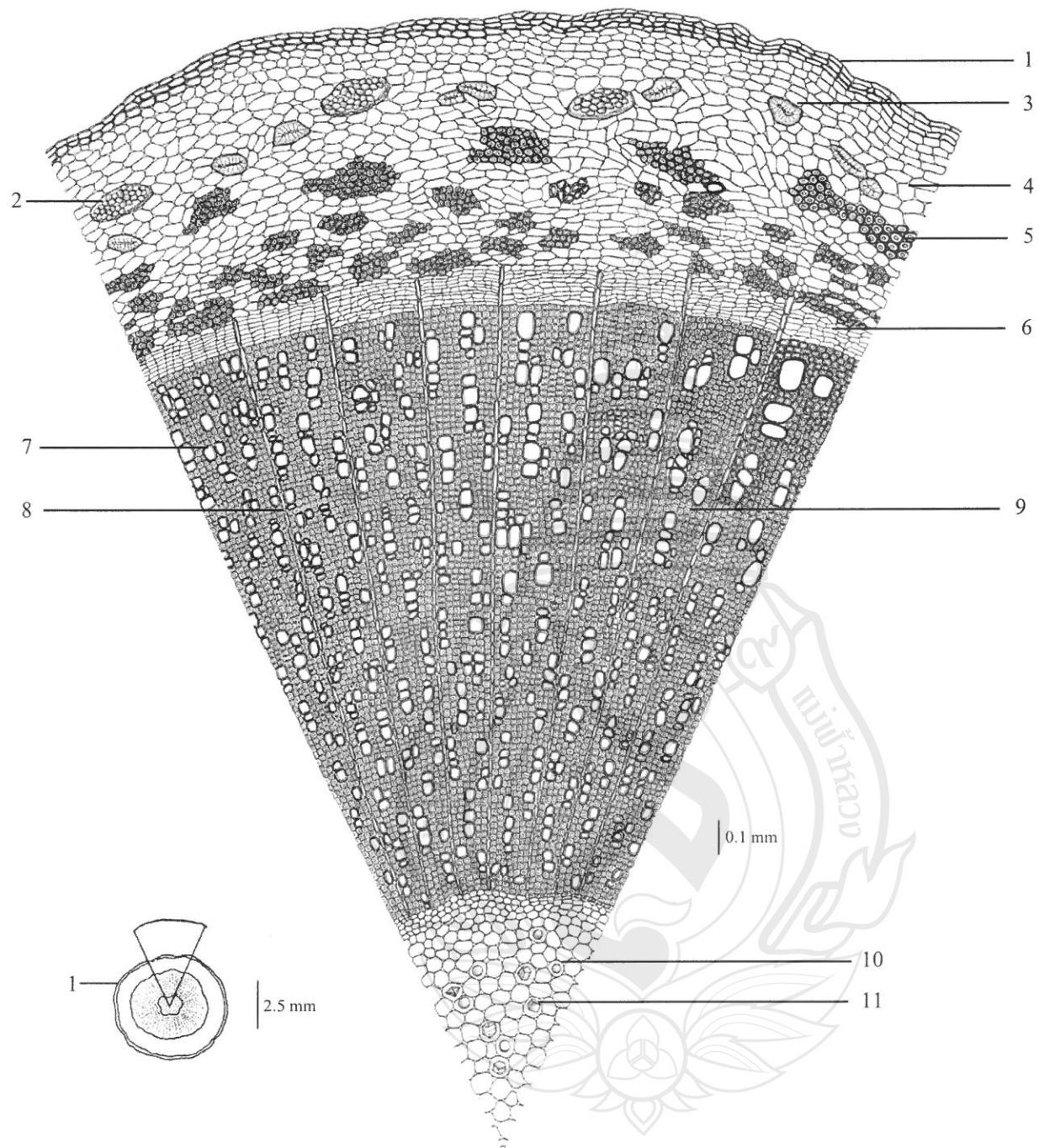
4. ชั้นไชเล้ม ประกอบด้วยเซลล์ท่อน้ำมีขนาดใหญ่และเล็กเรียงกันเป็นแนววรรค มีอกจากชุดสูนย์กลาง สลับกับเนื้อเยื่อแนววรรค มีของไชเล้ม (xylem ray) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์เรียงตัวเพียงชั้นเดียว เนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นเซลล์เส้นใยอัดกันแน่น

5. ชั้นไส้ไม้ (pith) เป็นชั้นในสุดของลำต้น เซลล์มีผนังบางและมีรูปร่างค่อนข้างกลม โดยด้านนอกเป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก ตัดเข้าไปด้านในจะมีขนาดใหญ่ขึ้น บางเซลล์ภายในพนหยดน้ำมัน และผลึกแคลเซียมออกชาเดครูปป์รีซึม



ภาพที่ 4-15 ลักษณะทางจุลทรรศน์ของผงดำนังกระเจา

- fragment of wood fibers
- fragment of xylem ray in radial longitudinal view (2a. wood fiber, 2b. medullar ray)
- fragment of xylem ray in tangential longitudinal view (3a. wood fiber, 3b. wood parenchyma)
- fragment of bordered pitted vessel
- fragment of wood parenchyma containing starch grain in longitudinal view
- starch grain
- prism crystals of calcium oxalate



ภาพที่ 4-16 ลักษณะทางจุลทรรศน์ของลำต้นกระเจา

1. epidermis layer
2. starch granules
3. sclereid
4. parenchyma of cortex
5. cortical fiber
6. phloem tissue
7. xylem vessel
8. xylem ray
9. xylem fiber
10. parenchyma of pith containing oil globule
11. parenchyma containing prism crystal

## 4.3 การตรวจเอกสารยันต์ทางเคมี

### 4.3.1 การตรวจส่วนประกอบเคมีเบื้องต้น

#### การตรวจส่วนประกอบอัลคาลอยด์

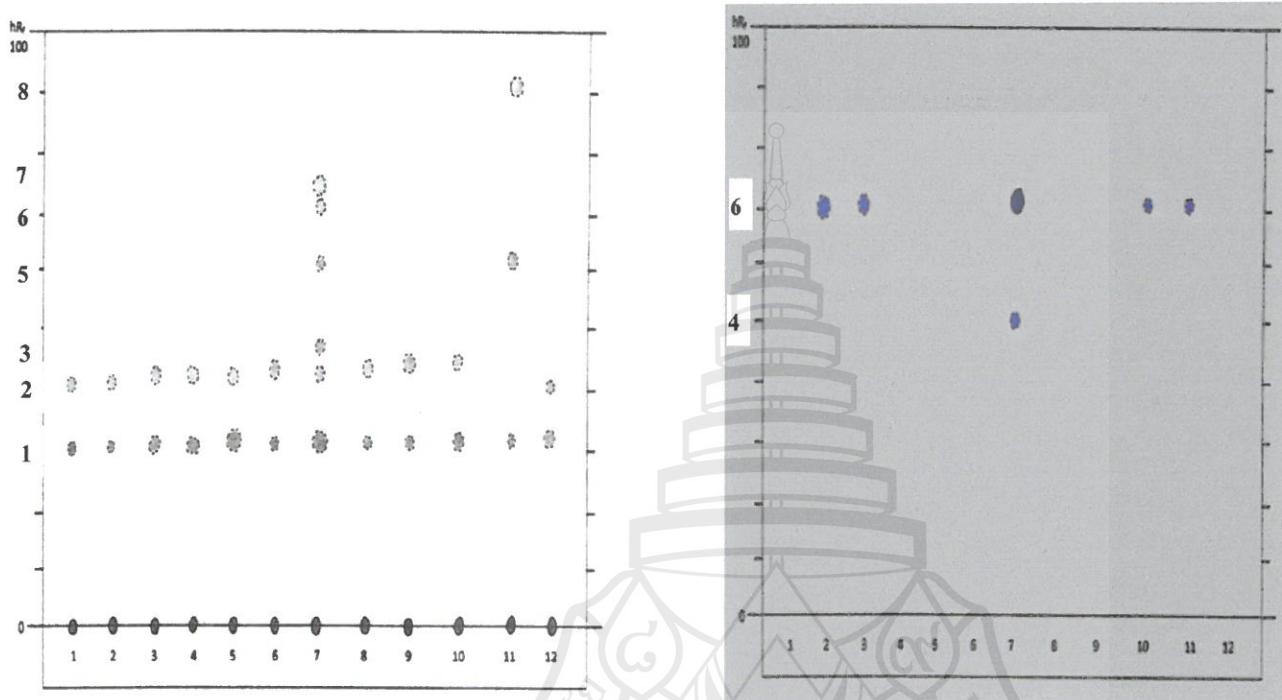
นำสารสกัดกระจะส่วน 95% Ethanol extract ปริมาณ 0.3 กรัม ละลายใน 2 M HCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตรและรอง นำไปทดสอบด้วย Dragendorff's reagent สังเกตพบตะกอนสีเข้ม แสดงว่ามีสารประกอบประเภทอัลคาloyd

#### การตรวจส่วนประกอบคุณาริน

นำสารสกัดกระจะส่วน 95% Ethanol extract ปริมาณ 0.3 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ใส่น้ำพอกับปิดหลอดทดลองด้วยจุกคอร์กที่มีกระดาษกรองชุบสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจากหมาดๆ แขวนอยู่อุ่นบนหม้ออง ไอน้ำที่กำลังเดือดนาน 3 – 5 นาที จากนั้นนำกระดาษกรองมาส่องดูภายใต้แสงหนึ่นเมื่อเวลา 365 นาโนเมตร 1 นาที สังเกตพบว่า กระดาษกรองเรืองแสงสีเขียวอมฟ้า แสดงว่ามีสารประกอบประเภทคุณาริน

#### 4.3.2 การตรวจสอบกระสวนโคมไฟ tropon

##### 4.3.2.1 การตรวจสอบกระสวนโคอมไฟ tropon ด้วย TLC

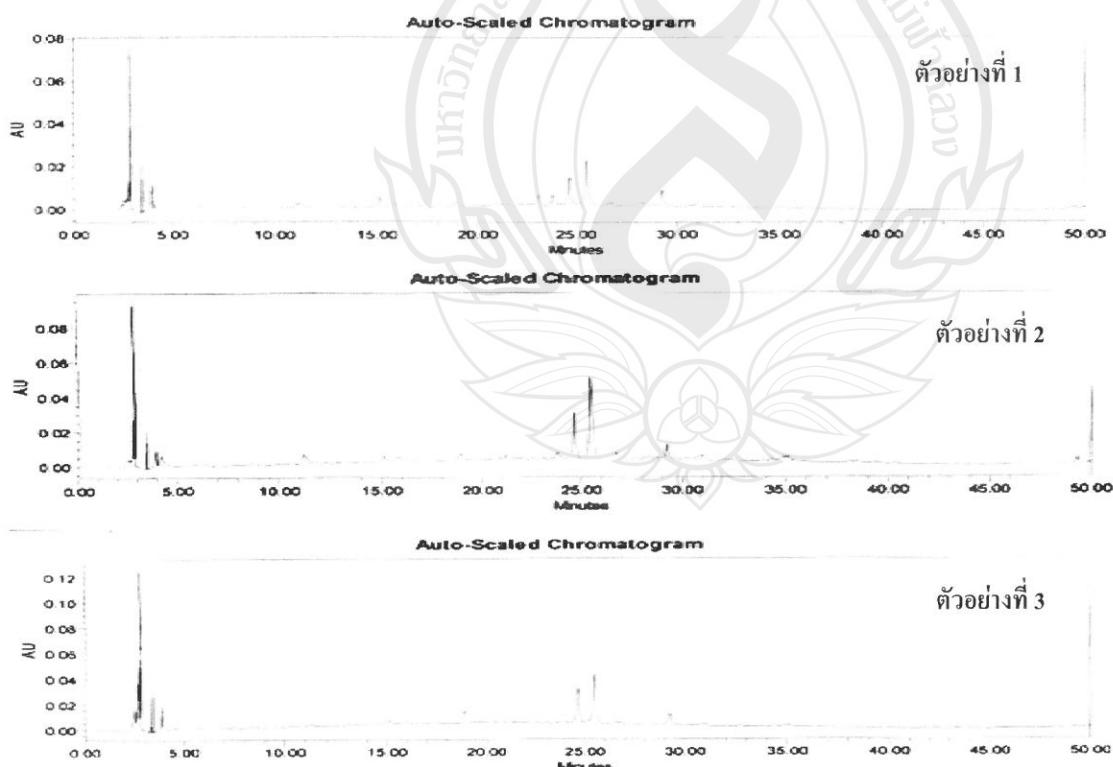


ภาพที่ 4-17 ลักษณะทางโคมไฟแกรมชนิดผิวบางของสารสกัดจากลำต้นกระเจ��  
จากภาพที่ 4-17 แสดงลักษณะโคมไฟแกรมชนิดผิวบางของสารสำคัญในเนื้อไม้กระเจມของตัวอย่าง  
กระเจມ 12 แหล่ง เมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 (ด้านซ้าย) และ 365 นาโนเมตร  
(ด้านขวา) โดยใช้น้ำยาแยก (Developing solvent) เอทิลอะซิเตท: เมทานอล 9:1 พบร่วงค์ประกอบทางเคมี  
นี้มีความคล้ายคลึงกัน เรียงลำดับจากตัวอย่างที่ 1-12

ตารางที่ 4-2 ค่า hRf ของสารสำคัญในสารสกัดจากลำต้นกระเจรษเมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร

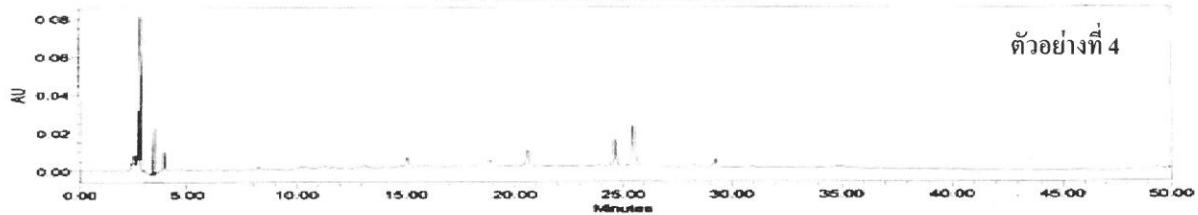
ขุดศี	ค่า hRf	การตรวจสอบ	
		UV 254 nm	UV 365 nm
1	30	สีดำ	-
2	42	สีดำ	-
3	47	สีดำ	-
4	50	-	สีเขียวอมฟ้า
5	61	สีดำ	-
6	71	สีดำ	สีเขียวอมฟ้า
7	75	สีดำ	-
8	92	สีดำ	-

#### 4.3.2.2 การตรวจสอบกระสวนโครมาໂගรกรາຟด້ວຍ HPLC



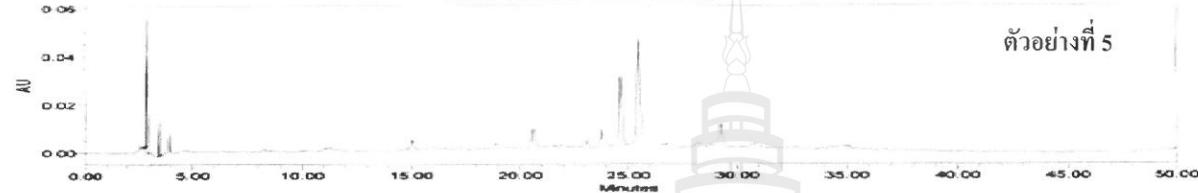
Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 4



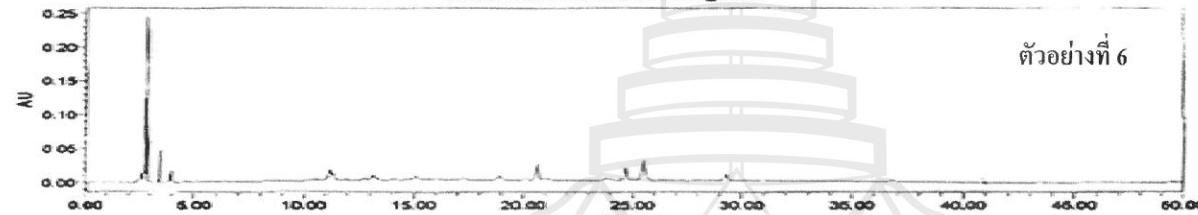
Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 5



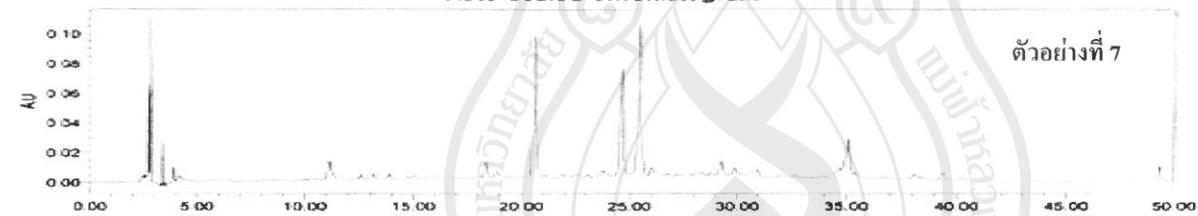
Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 6



Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 7



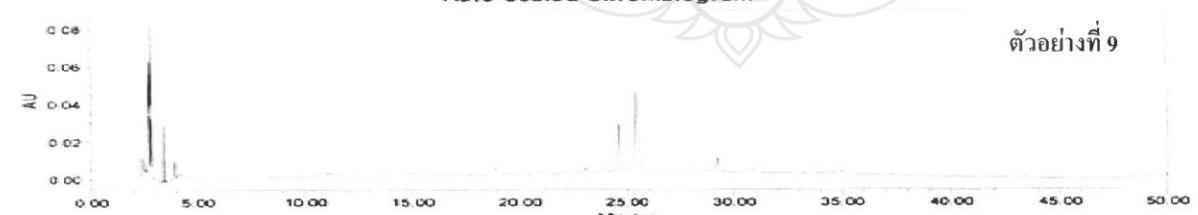
Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 8



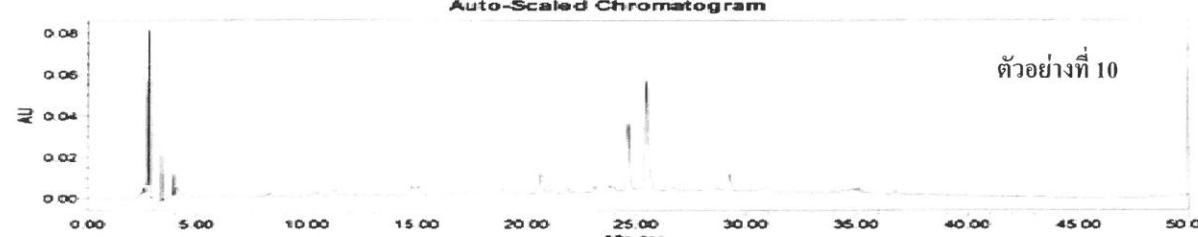
Auto-Scaled Chromatogram

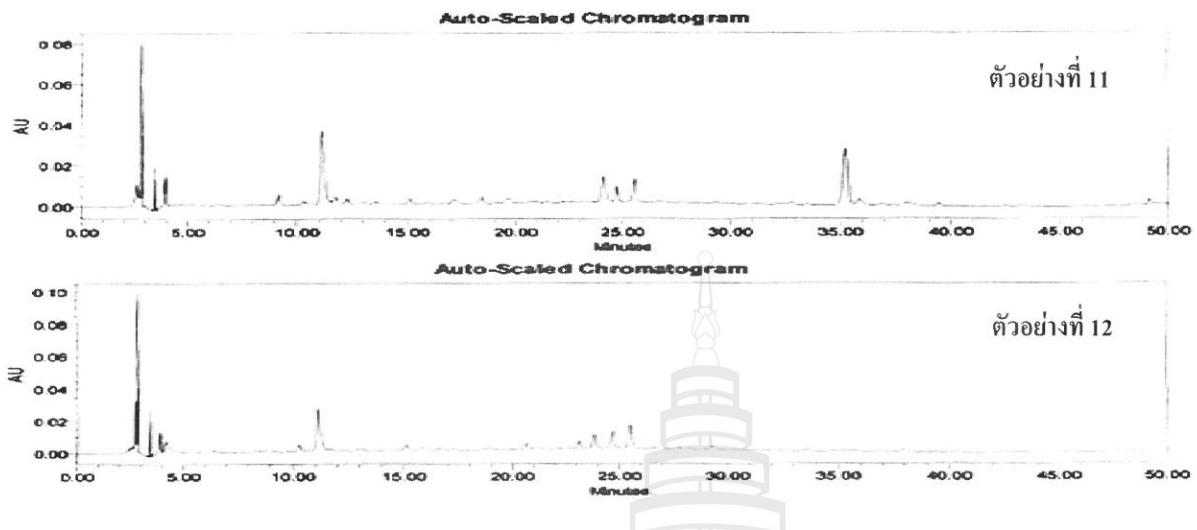
ตัวอย่างที่ 9



Auto-Scaled Chromatogram

ตัวอย่างที่ 10





ภาพที่ 4-18 ลักษณะทางโคมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

จากภาพที่ 4-18 แสดงลักษณะทางโคมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Alliance รุ่น Waters 2996 photodiode array detector, 280 nm) โดยมีสภาวะการวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้ reversed phase column (Alltech, Prevail C18 5 $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm, stainless steel with Alltech, Prevail all-guard cartridge C18 5 $\mu$ m, 7.5  $\times$  4.6 mm) โดยมีเฟสเคลื่อนที่ ทีอิอี acetonitrile (AcCN)/3% acetic acid (AcOH) in H<sub>2</sub>O (v/v); at 0 min, 10:90; at 45 min, 55:45, held at 55:45 และมีอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 ml/min พน้ำ ตัวอย่างทั้ง 12 แหล่ง พน้ำมีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกัน แต่ปริมาณอาจมากน้อยแตกต่างกันไป รวมถึงบางแหล่งอาจพบองค์ประกอบทางเคมีที่แหล่งอื่นไม่สามารถตรวจพบดังแสดงในภาพ

#### 4.4 การตรวจหาปริมาณสิ่งแผลปลอม

ไม่พบสิ่งแผลปลอม

#### 4.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น การวิเคราะห์หน้าหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้งและการวิเคราะห์ปริมาณถ้า

##### 4.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและน้ำหนักที่หายไป

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น หมายถึง การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำ โดยจะทำการทดลองตัวอย่าง กระยะทุกแหล่ง จำนวน 3 ชั้น และคำนวณปริมาณน้ำเป็นร้อยละ

การวิเคราะห์拿出ที่หายไป หมายถึง การวิเคราะห์拿出ปริมาณน้ำและปริมาณสารระเหยอื่นๆ ที่เป็นองค์ประกอบ โดยทำการทดลองตัวอย่างกระแทกเหล็ก จำนวน 3 ชั้น และคำนวณค่าร้อยละของ拿出ที่หายไป

ตารางที่ 4-3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและ拿出ที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณความชื้น (%)	拿出ที่หายไป (%)
	(n=3)	(n=3)
1	$6.167 \pm 0.144$	$9.377 \pm 0.006$
2	$6.667 \pm 0.144$	$8.973 \pm 0.006$
3	$6.250 \pm 0.000$	$6.480 \pm 0.344$
4	$6.147 \pm 0.144$	$8.903 \pm 0.006$
5	$6.000 \pm 0.250$	$6.540 \pm 0.010$
6	$5.667 \pm 0.144$	$7.097 \pm 0.006$
7	$5.583 \pm 0.288$	$8.543 \pm 0.006$
8	$5.750 \pm 0.000$	$5.973 \pm 0.031$
9	$4.833 \pm 0.144$	$7.760 \pm 0.000$
10	$6.083 \pm 0.289$	$6.533 \pm 0.060$
11	$6.833 \pm 0.381$	$6.967 \pm 0.064$
12	$7.333 \pm 0.144$	$7.627 \pm 0.015$
ค่าเฉลี่ย	$6.125 \pm 0.653$	$7.564 \pm 1.146$

จากตารางที่ 4-3 พบว่าเหล่งที่มีความชื้นสูงสุด คือ ตัวอย่างที่ 12 (อ. แม่สาย จ. เชียงราย) และเหล่งที่มีความชื้นต่ำสุด คือ ตัวอย่างที่ 9 (อ. กิ่งนกพัฒนา จ. ยะลา) ส่วนค่าร้อยละของปริมาณความชื้นเฉลี่ย คือ  $6.125 \pm 0.653$  และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างกระแทกเหล็กแสดงถึงความสามารถในการดูดความชื้นของตัวอย่างแต่ละเหล่ง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับสภาพลักษณะทางภูมิศาสตร์ของเหล่งที่พื้นที่เจริญเติบโต เช่น ตัวอย่างกระแทกเหล็กในเขตภาคเหนือ คือ ตัวอย่างที่ 1-6 และ 11-12 พบว่า ตัวอย่างที่ 6 (อ. เมือง จ. ลำปาง) มีปริมาณความชื้นต่ำที่สุด อาจเนื่องจากพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง มีลักษณะเป็นหนองแฉ่ง

กระทรวงของภาคเหนือ และมีความชั้นสัมพัทธ์น้อยกว่าจังหวัดอื่นๆ ในภาคเดียวกัน จึงส่งผลให้มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด และมีปริมาณความชื้นในเนื้อไม้กระจะไกด์เคียงกับ ตัวอย่างที่ 7 และ 8 (อ. เมือง จ. ร้อยเอ็ด และ อ. เมือง จ. นครราชสีมา) เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิศาสตร์เป็นแอ่งกระทะเช่นเดียวกัน ส่วนตัวอย่างที่ 11-12 (อ. แม่สาย จ. เชียงราย) พบว่ามีปริมาณความชื้นสูงกว่าแหล่งอื่นมาก อาจเป็นผลมาจากการที่เก็บชิ้นไม้ กระจะไไวในร้านค้าเป็นเวลานาน จึงทำให้ไม้กระจะแห้งนั้น ก่อการดูดและสะสมความชื้นจากอากาศ

และจากตารางที่ 4-3 พบว่า แหล่งที่น้ำหนักหายไปสูงสุด คือ ตัวอย่างที่ 1 (อ. นาน้อย จ. น่าน) และแหล่งที่น้ำหนักหายไปต่ำสุด คือ ตัวอย่างที่ 8 (อ. เมือง จ. นครราชสีมา) ส่วนค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย คือ  $7.564 \pm 1.146$  ซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่อนข้างสูง เนื่องจากความแตกต่างของอายุพืชตัวอย่างช่วงเวลาการเก็บตัวอย่าง เป็นต้น

#### 4.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณของถ้ารวมและถ้าที่ไม่ละลายในกรด

การวิเคราะห์ปริมาณถ้ารวม หมายถึง การวิเคราะห์หาสารประกอบอนทรีย์ (Organic compounds) และอนินทรีย์ (Inorganic compounds) ที่เป็นองค์ประกอบในส่วนเนื้อไม้ของตัวอย่างพืช โดยจะทำการทดลองกับตัวอย่างกระจะทุกแหล่ง จำนวน 3 ช้ำ และคำนวณปริมาณถ้ารวมเป็นร้อยละ

การวิเคราะห์ปริมาณถ้าไม่ละลายในกรด หมายถึง การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compounds) ที่เป็นองค์ประกอบในส่วนเนื้อไม้ของตัวอย่างพืช โดยจะทำการทดลองกับตัวอย่างกระจะทุกแหล่ง จำนวน 3 ช้ำ และคำนวณปริมาณถ้าไม่ละลายในกรดเป็นร้อยละ

ตารางที่ 4-4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเด็การวมและปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรด

ตัวอย่าง	ปริมาณเด็การวม (%)	ปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรด (%)
	(n=3)	(n=3)
1	$1.193 \pm 0.006$	$0.012 \pm 0.002$
2	$0.716 \pm 0.002$	$0.018 \pm 0.002$
3	$2.378 \pm 0.010$	$0.007 \pm 0.003$
4	$0.977 \pm 0.003$	$0.003 \pm 0.000$
5	$0.658 \pm 0.005$	$0.022 \pm 0.002$
6	$1.189 \pm 0.004$	$0.279 \pm 0.018$
7	$0.824 \pm 0.002$	$0.010 \pm 0.000$
8	$0.828 \pm 0.002$	$0.017 \pm 0.006$
9	$1.601 \pm 0.002$	$0.003 \pm 0.000$
10	$1.136 \pm 0.004$	$0.041 \pm 0.002$
11	$1.884 \pm 0.004$	$0.006 \pm 0.002$
12	$0.997 \pm 0.006$	$0.003 \pm 0.000$
ค่าเฉลี่ย	$1.198 \pm 0.515$	$0.035 \pm 0.077$

จากตารางที่ 4-4 พบว่า แหล่งตัวอย่างที่มีปริมาณเด็การวมสูงที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 3 (อ. เมือง จ. เชียงใหม่) ปริมาณร้อยละ  $2.378 \pm 0.010$  และแหล่งตัวอย่างที่มีปริมาณเด็การวมต่ำที่สุด คือ ตัวอย่างที่ 5 (อ. จองทอง จ. เชียงใหม่) ปริมาณร้อยละ  $0.658 \pm 0.005$  ส่วนค่าร้อยละของปริมาณเด็การวมเฉลี่ย คือ  $1.198 \pm 0.515$

ส่วนแหล่งตัวอย่างที่มีปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรดสูงที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 6 (อ. เมือง จ. ลำปาง) ปริมาณ ร้อยละ  $0.279 \pm 0.018$  และแหล่งตัวอย่างที่มีปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรดต่ำที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 4 และ 12 (อ. ช่อง จ. เชียงใหม่ และ อ. แม่สาย จ. เชียงราย ตามลำดับ) ปริมาณร้อยละ  $0.003 \pm 0.000$  ส่วนค่าร้อยละของปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรดเฉลี่ย คือ  $0.035 \pm 0.077$  จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างที่ 6 (อ. เมือง จ. ลำปาง) มีปริมาณเด็ก้าที่ไม่คล้ายในกรดมากที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 10 (อ. เมือง จ. กาญจนบุรี)

นั้น แสดงให้ทราบว่า กระจะจากหั้ง 2 แหล่ง มีปริมาณของสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compounds) มากกว่า กระจะจากแหล่งอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับสภาพทางธรณีวิทยาของ จ. ลำปาง และ จ. กาญจนบุรี ที่มี ปริมาณของแร่ธาตุในดินเป็นจำนวนมาก และมีการทำเหมือง ลิกไนต์ และทองแดง ใน จ. ลำปาง และ กาญจนบุรี ตามลำดับ

#### 4.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย

##### 4.6.1 ปริมาณสารสกัดด้วย 95% เอทานอล เอทิลอะซิเตทและน้ำ

ตารางที่ 4-5 ผลการวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย (%w/w) $\pm$ SD ( $n=3$ )		
	95% เอทานอล	เอทิลอะซิเตท	น้ำ
1	0.124 $\pm$ 0.004	0.027 $\pm$ 0.003	0.539 $\pm$ 0.014
2	0.111 $\pm$ 0.012	0.039 $\pm$ 0.005	0.405 $\pm$ 0.008
3	0.234 $\pm$ 0.022	0.047 $\pm$ 0.002	0.732 $\pm$ 0.011
4	0.128 $\pm$ 0.002	0.040 $\pm$ 0.004	0.500 $\pm$ 0.015
5	0.137 $\pm$ 0.002	0.029 $\pm$ 0.001	0.381 $\pm$ 0.006
6	0.193 $\pm$ 0.005	0.046 $\pm$ 0.005	0.593 $\pm$ 0.023
7	0.266 $\pm$ 0.002	0.046 $\pm$ 0.007	0.641 $\pm$ 0.026
8	0.252 $\pm$ 0.002	0.027 $\pm$ 0.003	0.614 $\pm$ 0.017
9	0.177 $\pm$ 0.012	0.042 $\pm$ 0.002	0.521 $\pm$ 0.035
10	0.123 $\pm$ 0.002	0.033 $\pm$ 0.006	0.395 $\pm$ 0.008
11	0.123 $\pm$ 0.010	0.035 $\pm$ 0.007	0.659 $\pm$ 0.015
12	0.105 $\pm$ 0.005	0.025 $\pm$ 0.001	0.412 $\pm$ 0.013
ค่าเฉลี่ย	0.165 $\pm$ 0.058	0.036 $\pm$ 0.008	0.533 $\pm$ 0.117

จากตารางที่ 4-5 แสดงค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ของตัวอย่างกระจะหั้ง 12 แหล่ง พนว่าร้อยละของปริมาณสารสกัดใน 95% EtOH สูงสุด คือ ตัวอย่างที่ 7 (อ. เมือง จ. รัชโยธิน) และ

ร้อยละของปริมาณสารสกัดใน 95% EtOH ต่ำสุด คือ ตัวอย่างที่ 12 (อ. แม่สาย จ. เชียงราย) ส่วนร้อยละของปริมาณสารสกัดใน 95% EtOH เฉลี่ย คือ  $0.165 \pm 0.058$  ส่วนค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดในอุทิโลซิเตทและน้ำสูงสุด คือ ตัวอย่างที่ 3 (อ. เมือง จ. เชียงใหม่) ร้อยละของปริมาณสารสกัดในอุทิโลซิเตทต่ำสุด คือ ตัวอย่างที่ 12 (อ. แม่สาย จ. เชียงราย) ร้อยละของปริมาณสารสกัดในน้ำต่ำสุด คือ ตัวอย่างที่ 5 (อ. ขอนทอง จ. เชียงใหม่) ส่วนร้อยละของปริมาณสารสกัดในอุทิโลซิเตทและน้ำเฉลี่ย คือ  $0.036 \pm 0.008$  และ  $0.533 \pm 0.117$  ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่แตกต่างกันของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ แปรผันตามอายุพืชตัวอย่าง ซึ่งระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา เป็นต้น



## บทที่ 5

### สรุปและข้อเสนอแนะ

กระเจเจ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Naringi crenulata* เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้นหรือ ไม้ต้นขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ สูง 3-8 เมตร ลำต้นตรง แตกกิ่งตามตัว ผิวเรียบ มักมีหนามแข็ง แหลมและยาว ใน เป็นใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับกันมีใบย่อย 4-13 ใน แกนใบประกอบมีคริบออกสองข้าง เป็นช่วงๆ ระหว่างคู่ใบย่อย ในย่อยรูปรีแคนรูปไข่กลับ โคนและปลายใบสอบแคบ เนื้อใบบาง เนียนเกลี้ยง เมื่อส่องดูจะเห็นต่อมน้ำมันเป็นจุดใสๆ กระจายอยู่ทั่วไป ขอบใบหยักเป็นซี่ฟันเลื่อยตื้นๆ ดอก ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ แต่รวมกันเป็นกระจุกตามกิ่งเล็กๆ สีขาวหรือสีขาวอมเหลือง ก้านดอกมี 4 ก้าน เมื่อขานจะแผ่ออกรอสูตรีทางก้านเล็กน้อย เกสรตัวผู้มี 5 อัน ผลกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 เซนติเมตร เมื่ออ่อนมีสีเขียว แก่จัดเป็นสีม่วงคล้ำ ส่วนเนื้อไม่มีสีขาว เมื่อตัดทิ้งไวนานๆ จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมีกลิ่นหอมอ่อนๆ เมื่อบดหรือฝนเนื้อไม้จะเปลือกไม้ให้เป็นผงละเอียด จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปข้อกำหนดมาตรฐานของเนื้อไม้กระเจเจ ไว้ดังนี้

#### ตารางที่ 5-1 สรุปข้อกำหนดมาตรฐานของเนื้อไม้กระเจเจ

รายการ	ค่าเฉลี่ยร้อยละ ± เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าสูงสุด-ค่าต่ำสุด	จำนวนตัวอย่าง
1. ปริมาณความชื้น	6.125±0.653	7.333 – 4.833	12
2. น้ำหนักที่หายไป	7.564±1.146	9.973 – 5.973	12
3. ปริมาณถ้ารวม	1.198±0.515	2.378 – 0.658	12
4. ปริมาณถ้าที่ไม่ละลายในกรด	0.035±0.077	0.279 – 0.003	12
5. สารสกัดใน 95% เอทานอล	0.165±0.058	0.266 – 0.105	12
6. สารสกัดในเอทิลอะซิเตท	0.036±0.008	0.047 – 0.025	12
7. สารสกัดในน้ำ	0.533±0.117	0.733 – 0.381	12

## ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อกำหนดมาตรฐานเนื้อไม้กระเจาสำหรับอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาองค์ประกอบของเมมี่ที่สำคัญ เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการกำหนดคุณภาพของวัตถุคิบ ตลอดจนปริมาณโลหะหนัก และการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อไม้จากแหล่งต่างๆ ต่อไปเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกแหล่งของวัตถุคิบที่มีคุณภาพ



## บรรณานุกรม

1. ชยันต์ พิเชียรสุนทร, เม่นมาส ชาลิต และ วิเชียร จีรวงศ์. ตำราพะโอสกพะนารายณ์. อัมรินทร์ 2544
2. Niu XM, Li SH, Peng LY, Rao GX, Sun DH. A new indole alkaloid from *Limonia crenulata*. Chinese Chemical Letters. 2001; 12: 243-44.
3. Zarga MHA. Three new simple indole alkaloids from *Limonia acidissima*. Journal of Natural Products. 1986; 49: 901-04.
4. Nayar MNS, Sutar CV, Bhan MK. Alkaloids of the stem bark of *Hesperethusa crenulata*. Phytochemistry. 1971. 10: 2843-44.
5. Nayar MNS, Bhan MK, George V. Chemical investigation of the stem bark of *Hesperethusa crenulata* (Roxb.) M. Rome. Current Science. 1971. 21: 570-571.
6. Wijeratne EMK, Bandara BMR, Gunatilaka AAL. Chemical constituents of three rutaceae species from Sri Lanka. Journal of Natural Products. 1992; 55: 1261-69.
7. Nayar MNS, Bhan MK. Coumarins and other constituents of *Hesperethusa crenulata*. Phytochemistry. 1972; 11: 3331-33.
8. Ghosh P, Majumdar PSSG, Thakur S. A coumarin from *Limonia acidissima*. Phytochemistry. 1982; 21: 240-1.
9. Basa SC, Tripathy RN. Constituents of *Hesperethusa crenulata*. Journal of Natural Products. 1982; 45: 503.
10. Ghosh P, et. al. Dihydroxy acidissiminol and acidissiminol epoxide, two tyramine derivatives from *Limonia acidissima*. Phytochemistry. 1994; 37: 575-60.
11. Dreyer DL, Rigod JF, Basa SC, Mahanty P, Das DP. Chemotaxonomy of the rutaceae-XII. Tetrahedron. 1980; 36: 827-9.