

# การสกัดและการศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็ง เต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของใบแมงลัก

The Studies on Anti-Herpes Simplex Virus Type I, Anti-Breast Cancer and  
Cytotoxic Activities of *Ocimum americanum* Linn. Leafs Extract

สุวรรณภา จันคนา<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

การวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารสำคัญจากใบแมงลัก และศึกษาการออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 (Herpes Simplex Virus Type I) ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดจากใบแมงลัก โดยนำใบแมงลักแห้งบดละเอียดสกัดร้อนด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล โดยใช้เครื่องสกัดซอกเล็ต (Soxhlet Extractor) ได้สารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล เปรอ์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง คือ 6.41 6.59 0.87 และ 2.71 ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ผลการทดสอบพบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตทเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 19.64  $\mu\text{g/ml}$  และสารสกัดหยาบทั้งหมดไม่ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม ในขณะที่สารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน และสารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 18.41 และ 26.05  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ จากผลการวิจัยแสดงว่าใบแมงลักมีฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 โดย เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 จากใบแมงลักได้ และสารนั้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

**คำสำคัญ :** แมงลัก ฤทธิ์ต้านไวรัสเอชเอสวี-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ การสกัด

<sup>1</sup> อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์



## Abstract

The aims of the research were to extract *Ocimum americanum* Linn. leaves and investigate on how it potential anti-herpes simplex virus type I (HSV-1), anti-breast cancer activities and also study on its cytotoxic activity. Air-dried leaves of *Ocimum americanum* Linn. collected in Buriram province. Soxhlet extraction gave the hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol extracts in 6.41, 6.59, 0.87 and 2.71 percent dry weight, respectively. All four type extracts were tested for anti-HSV-1, anti-breast cancer and cytotoxic activities. The results demonstrated that the ethyl acetate extract had anti-HSV-1 activity with  $IC_{50}$  value of 19.64  $\mu\text{g/ml}$ . However, those four extracts had no potential on anti-breast cancer activity. Furthermore, the hexane extract and the dichloromethane extract had cytotoxic activity with  $IC_{50}$  value of 18.41 and 26.05  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. This research indicated that *Ocimum americanum* Linn. leaves had potential on anti-HSV-1 activity and ethyl acetate was suitable as solvent of bioactive compounds with anti-HSV-1 activity from *Ocimum americanum* Linn. leaves extraction.

**Key Words :** *Ocimum americanum* Linn, Anti-HSV-1 Activity, Anti-breast Cancer Activity, Cytotoxic Activity Extraction

### บทนำ

แมงลักมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Ocimum americanum* Linn. ชื่อพ้อง คือ *Ocimum cannum* Sims มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Hoary Basil อยู่ในวงศ์ Lamiaceae (สำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2550 : 1) ต้นแมงลักเป็นพืชล้มลุก ใบเป็นชนิดใบเดี่ยวมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ดอกเป็นชนิดดอกช่อ กลีบดอกมีสีขาว ผลมีลักษณะกลมขนาดเล็ก รูปทรงรีใสสีดำเรียกว่าเมล็ดแมงลัก พบได้ทั่วไปในทุกภาคของประเทศ แมงลักมี

สรรพคุณหลากหลาย ได้แก่ มีฤทธิ์เป็นยาละลาย ช่วยขับลม ช่วยสมานแผล ทำให้แผลหายเร็ว (มูลนิธิเพื่อผู้บริโภค. 2548 : 1) แก้โรคผิวหนัง ช่วยบำรุงน้ำมัน (สมุนไพรประฐาน. 2550 : 1) แก้ก้อนรัง (ห้องสมุดประชาชน “เฉลิมราชกุมารี”. 2541 : 1) โดยส่วนที่ใช้เป็นยา คือ ใบ ลำต้น และเมล็ด ได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแมงลักเป็นจำนวนมากซึ่งทำให้ทราบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของแมงลัก ดังนั้น ใบแมงลักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

(Nanasombat & Teckchuen. 2009 : 443-449) น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักมีฤทธิ์ยับยั้ง *Aedes aegypti* L. ซึ่งเป็นสาเหตุของไข้หวัด (Eveline and others. 2004 : 1) น้ำมันหอมระเหยจากใบแมงลักมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Cimanga and others. 2002 : 213-220) แมงลักมีฤทธิ์ยับยั้ง *Shigella spp.* (เอวิกา งามอุส่าห์ และบัญญัติ สุขศรีงาม. 2548 : 1) น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักสามารถป้องกันยุงลายตัวเมียได้ (สมเกียรติ บุญณะบัญชา, กลิน ศุภปฐม และเอื้อมเดือน ศรีสุระพัตร. 2540 : 61-66) แมงลักมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์กลายพันธุ์ได้มากกว่าร้อยละ 70 (เกตุศินี ตระกูลทิวากร. 2547 : 1) เมล็ดแมงลักสามารถรักษาอาการท้องผูกหรือใช้เป็นยาระบายได้ โดยทำการทดลองในหนู (Taesotikul, Smitasiri & Pootakham. 1999) และทำการทดลองทางคลินิก (Sriratanaban and others. 1992 : 201-206) น้ำมันจากแมงลักมี Geraniol, Neral และ Methyl Chavicol เป็นองค์ประกอบร้อยละ 32.0 27.2 และ 0.8 ตามลำดับ และน้ำมันแมงลักไม่มีฤทธิ์ต้าน *Propionibacterium acnes* (Viyoch and others. 2006 : 125-133) น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักมี Citral เป็นองค์ประกอบ (อรนุช โชคชัยเจริญพร. 1999 : บทคัดย่อ) เมล็ดแมงลักไม่มีพิษเฉียบพลัน ไม่มีพิษกึ่งเรื้อรังและไม่มีพิษเรื้อรัง โดยทำการทดสอบในหนูขาว (Taesotikul, Smitasiri & Pootakham. 1999)

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ใบแมงลักมีสรรพคุณในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้หลากหลาย แต่จากการค้นหาข้อมูลของ

ผู้วิจัย พบว่ายังไม่มีรายงานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส HSV-1 (Herpes Simplex Virus Type I) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเริมและฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม ทั้งที่จากภูมิปัญญาไทยได้มีการนำใบแมงลักมาใช้ในการรักษาโรคผิวหนัง และมีผู้ศึกษาพบว่าแมงลักมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเนื้องอกได้ ดังนั้นงานวิจัยในการสกัดและศึกษาการออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 และฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมของใบแมงลักจึงมีความสำคัญและเป็นประโยชน์ อีกทั้งแมงลักยังเป็นพืชที่พบได้ง่ายในทั่วทุกภาคของประเทศ และคนไทยใช้รับประทาน ซึ่งจากผลการวิจัยจะทำให้คนไทยมีสมุนไพรที่ช่วยรักษาโรคเพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารสำคัญจากใบแมงลัก และศึกษาการออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดจากใบแมงลัก

## วิธีดำเนินการวิจัย

### วัสดุอุปกรณ์

#### 1. พืช (Plant Materials)

ใบแมงลักจากจังหวัดบุรีรัมย์ เก็บในช่วงมิถุนายน - กรกฎาคม

#### 2. สารเคมี (Chemicals)

##### 2.1 เฮกเซน (Hexane)

##### 2.2 ไดคลอโรมีเทน

(Dichloromethane)

##### 2.3 เอทิลอะซิเตท

(Ethyl Acetate)

##### 2.4 เอทานอล (Ethanol)



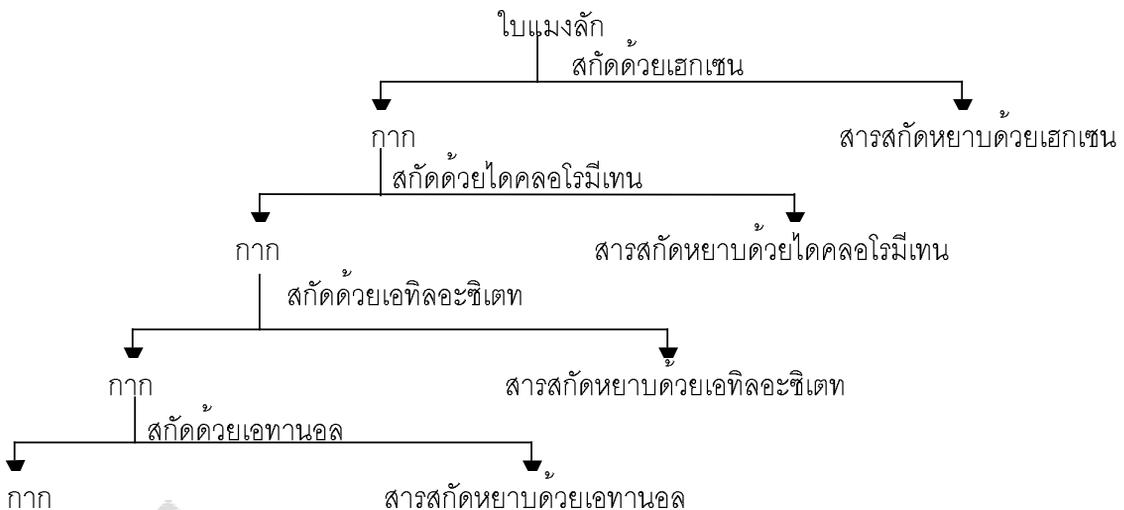


## เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกลั่น (Distillation Apparatus)
2. เครื่องสกัดชอกเลต (Soxhlet Extractor)
3. เครื่องระเหยแบบลดความดันหรือเครื่องลดปริมาตร (Rotary Evaporator)

## วิธีทดลอง

1. นำใบแมงลักตากในที่ร่มให้แห้ง บดให้ละเอียด
2. นำใบแมงลักที่เตรียมในข้อ 1 มาสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้ คือเฮกเซน
3. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน (Crude Hexane Extract)
4. นำกากใบแมงลักที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซนในข้อ 2 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้ คือ ไดคลอโรมีเทน ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทน (Crude Dichloromethane Extract)
5. นำกากใบแมงลักที่ผ่านการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนในข้อ 4 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทิลอะซิเตท ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตท (Crude Ethyl Acetate Extract)
6. นำกากใบแมงลักที่ผ่านการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทในข้อ 5 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้ คือ เอทานอล ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล (Crude Ethanol Extract)
7. นำสารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล ไปทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติใช้วิธี Sulforhodamine B (SRB) Assay ในขณะที่การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมใช้วิธี Resazurin Microplate Assay (REMA) ดังขั้นตอนในภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 การสกัดใบแมงลักด้วยเครื่องสกัดชอกเลต

## ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

ผลการสกัดใบแมงลักด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล โดยใช้เครื่องสกัดซอกเลต ดังตาราง 1

ตาราง 1 ผลการสกัดใบแมงลักด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	น้ำหนักพืชแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง
เฮกเซน	ของแข็งหนืด สีเขียวเข้ม	22.79	1.46	6.41
ไดคลอโรมีเทน	ของแข็งหนืด สีเขียวเข้ม	21.40	1.41	6.59
เอทิลอะซิเตท	ของแข็งหนืด สีน้ำตาลปนเขียว	29.19	0.25	0.87
เอทานอล	ของแข็งหนืด สีน้ำตาลเข้ม	22.84	0.62	2.71

จากผลการสกัดใบแมงลักพบว่า เมื่อใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายในการสกัดจะสามารถสกัดสารจากใบแมงลักได้มากที่สุด สังเกตได้จากเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งมีค่ามากที่สุด ในขณะที่เอทิลอะซิเตท เป็นตัวทำละลายที่สกัดสารจากใบแมงลักได้น้อยที่สุด ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดหยาบใบแมงลักด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ดังตาราง 2

ตาราง 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดหยาบใบแมงลัก

สารสกัดหยาบ	Anti-HSV-1 activity	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Cytotoxic activity	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Anti-breast cancer activity
เฮกเซน	Inactive	-	Cytotoxic	18.41	Inactive
ไดคลอโรมีเทน	Inactive	-	Cytotoxic	26.05	Inactive
เอทิลอะซิเตท	Active	19.64	Non-cytotoxic	-	Inactive
เอทานอล	Inactive	-	Non-cytotoxic	-	Inactive





ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดหยาบใบแมงลักด้วยตัวทำละลายพบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตทเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 19.64  $\mu\text{g/ml}$  และสารสกัดดังกล่าวไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม พบว่า สารสกัดหยาบทั้งหมดไม่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม ในขณะที่ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติพบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน และไดคลอโรมีเทนเท่านั้นที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 18.41 และ 26.05  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดหยาบด้วยเฮกเซนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติมากกว่าสารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทน

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การสกัดใบแมงลักด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และ

เอทานอล โดยใช้วิธีสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ได้สารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ พบว่าใบแมงลักมีฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 และตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-1 ออกจากใบแมงลัก โดยที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ คือ เอทิลอะซิเตท ซึ่งจากผลการวิจัยดังกล่าวควรมีการนำสารสกัดหยาบใบแมงลักด้วยเอทิลอะซิเตท ไปทำการแยกต่อไป เพื่อให้ได้สารกึ่งบริสุทธิ์หรือสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส HSV-1 ได้ดีมีประสิทธิผลมากยิ่งขึ้น ตลอดจนได้ทราบสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ อันนำมาซึ่งการผลิตและพัฒนาายาด้านเชื้อไวรัส HSV-1 ตัวใหม่ต่อไป



### เอกสารอ้างอิง

- เกศศิณี ตรีระกุลทิวาร. (2547). **ผักพื้นบ้านไทย ผลกำไรจากท้องถิ่น.** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.ku.ac.th/e-magazine/october47/agri/plant.html>, 20 กันยายน 2552.
- มูลนิธิเพื่อผู้บริโภค. (2548). **ผักสวนครัวอ้อมแล้วยังรักษาโรคได้.** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.consumerthai.org/howtoboard/view.php?id=28>, 17 กรกฎาคม 2550.
- สมเกียรติ บุญญะบัญชา, กลิน ศุภปฐม และเอี่ยมเดือน ศรีสุระพัตร. (2540). “การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) ด้วยน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด โดยใช้เครื่องทดสอบสารป้องกันยุงที่ประดิษฐ์ขึ้น”. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 39(1) : 61-66.



- สมุนไพรประธาน. (2550). **สมุนไพรน้ำจู้**. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.pratanthaiherb.com/herb/herb2t.htm>, 17 กรกฎาคม 2550.
- สำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2550). **ฐานข้อมูลสมุนไพร แมงลัก** (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://thaiherb.most.go.th/plantdetail.php?id=297>, 20 กันยายน 2552.
- ห้องสมุดประชาชน “เฉลิมราชกุมารี”. (2541). **รายชื่อสมุนไพรในสวน ห้องสมุดประชาชน “เฉลิมราชกุมารี” จังหวัดลำพูน**. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : [http://dnfe5.nfe.go.th/cumalylib/cm-lamphun/NAI\\_\\_LIB/suan.html](http://dnfe5.nfe.go.th/cumalylib/cm-lamphun/NAI__LIB/suan.html), 20 กันยายน 2552.
- อรนุช โชคชัยเจริญพร. (2534). **การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีววิทยาต่อยุงลายของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูล Ocimum ที่ปลูกในประเทศไทย**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาวิชาเภสัชศาสตร์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เอวิกา งามอุสุห์ และบัญญัติ สุขศรีงาม. (2548, เมษายน-กันยายน). “ประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp.”. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร**. 2. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.sci.nu.ac.th/journal/index.php?i=16>, 10 สิงหาคม 2550.
- Cimanga, K. and others. (2002). “Correlation between Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Some Aromatic Medicinal Plants Growing in the Democratic Republic of Congo.”. **Journal of Ethnopharmacology**. 79(2) : 213-220.
- Eveline, SBC and others. (2004). “Larvicidal Activity of Essential Oils from Brazilian Plants Against *Aedes Aegypti* Li.”. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 99 : (5). (online). Available : [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762004000500015&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762004000500015&script=sci_arttext), 25 September 2009.
- Nanasombat S, Teckchuen N. (2009). “Antimicrobial, Antioxidant and Anticancer Activities of Thai Local Vegetables.”. **Journal of Medicinal Plants Research**. 3(5) : 443-449.
- Sriratanaban, A. and others. (1992). “*Ocimum americanum* Linn., Study of its Laxative Properties.”. **Chulalongkorn Medical Journal**. 36 (3) : 201-206.
- Taesotikul, W. Smitasiri Y. and Pootakham K. (1999). **Studies of Hairy Basil Seeds as Bulk Laxative II : Laxative Activity and Toxicity Studies**. The Fourth Princess Chulabhorn International Science Congress Chemicals in the 21st century 28 Nov.-2 Dec., Bangkok Thailand.
- Viyoch, J. and others. (2006). “Evaluation of in Vitro Antimicrobial Activity of Thai Basil Oils and their Micro-emulsion Formulas Against *Propionibacterium Acnes*.”. **International Journal of Cosmetic Science**. 28(2) : 125-133.