



รายงานการวิจัย

การพัฒนาวิธีการทดสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชง

**Method development for Quantitative testing of Hemp active substances
and Hemp products**

เสาวภา ชุมณี

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2566

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาวิธีการทดสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชง

**Method development for Quantitative testing of Hemp active substance
and Hemp products**

เสาวภา ชูมณี

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนงานวิจัย ด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.)

ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทสว.)

ภายใต้แผนยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2566

ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาวิธีการทดสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชง
 ชื่อผู้ทำการวิจัย เสาวภา ชุมณี
 สาขาวิชา เคมี
 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
 มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2566

บทคัดย่อ

กัญชงเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เนื่องจากอุดมไปด้วยแคนนาบินอยด์ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ จึงมีความจำเป็นสำหรับการควบคุมคุณภาพของตัวอย่างกัญชง การศึกษาในงานวิจัยนี้เพื่อพัฒนาวิธี HPLC-DAD สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณสาร CBD, CBDA, THC, THCA และ CBG ตัวอย่างพืชถูกนำมาทำให้แห้ง ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน และสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วย (Ultrasound-assisted extraction, UAE) สภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือใช้เวลา 20 นาที กำลังไฟ 200 W และเอทานอล 80% การแยกทางโครมาโตกราฟีของสารที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ Bolimate LC-C18 ระบบการชะด้วยอัตราส่วนของตัวทำละลายคงที่ ด้วยสารละลายกรดฟอร์มิกความเข้มข้น 0.1% และอะซิโตนไนโตรส (อัตราส่วน 30:70 %v/v) เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์เท่ากับ 26 นาที และตั้งความยาวคลื่นที่ 210 นาโนเมตรสำหรับ CBD, CBG และ THC และ 220 นาโนเมตรสำหรับ CBDA และ THCA วิธีการนี้มีความเฉพาะเจาะจง รวดเร็ว ความแม่นยำและความเที่ยง การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เป็นไปตามหลักเกณฑ์ของ AOAC สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้งหมดแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นในช่วงความเข้มข้น 0.5-100 µg/mL และมีค่า R^2 มากกว่า 0.995 วิธีการวิเคราะห์แสดงถึงมีเที่ยง (RSD < 2.43 %) และความแม่นยำ (% การกลับคืนของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 89.43-104.05 เปอร์เซ็นต์) วิธีการวิเคราะห์ที่นำเสนอใช้นำมาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างช่อดอกกัญชงจำนวน 5 ตัวอย่างได้ผลมีความสำเร็จเป็นอย่างดี

คำสำคัญ: กัญชง, สารกลุ่มแคนนาบินอยด์, การวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC-DAD

Research Title Method development for Quantitative testing of Hemp active substance and Hemp Products

Researcher Saowapa Chumanee

Major Chemistry

 Faculty of Science and Technology

 Phetchabun Rajabhat University **Year** 2023

Abstract

Hemp is a medicinal plant with health benefits. Because it is rich in cannabinoids, which are biologically active Therefore, cannabinoid content analysis is essential for quality control of hemp samples. This study aims to develop HPLC- DAD method for the determination of cannabidiol (CBD), cannabidiol acid (CBDA), Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid A (THCA), and cannabigerol (CBG). Plant material was dried, homogenized, and extracted by Ultrasound-assisted extraction (UAE) at optimum extraction conditions of 20 min time, 200 W power and 80% ethanol. Chromatographic separation of the analytes was achieved on a Bolimate LC-C18 column using isocratic elution with 0.1% formic acid and acetonitrile (30:70 %v/v). The analytical run time was 26 min, and analytes were detected at 210 nm for CDB, CBG and THC and 220 nm for CBDA and THCA. The method is selective, sensitive, accurate, and precise, confirmed through validation according to AOAC guidelines. All cannabinoids exhibited a linear relationship in the 0.5-100 $\mu\text{g/mL}$ concentration range with $R^2 > 0.995$. The method showed high precision ($\text{RSD} < 2.43 \%$) and accuracy (% recovery in the range 89.43-104.05). The presented method was successfully applied to analyze the applicability of five hemp flower bouquet samples.

Keywords: Hemp, Cannabinoid, HPLC-DAD analysis

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่มีเครื่องมือชั้นสูงในการสนับสนุนในงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ทุนอุดหนุนงานวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทสว.) ภายใต้งานยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ มา ณ ที่นี้ด้วย

เสาวภา ชุมณี

31 สิงหาคม 2566

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญภาพ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	2
1.3 สมมุติฐานการวิจัย.....	2
1.4 ระเบียบวิธีวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ของการวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กัญชง.....	3
2.2 สารสำคัญในกัญชง.....	7
2.3 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	14
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	14
3.2 สารเคมี.....	15
3.3 ตัวอย่างกัญชง และผลิตภัณฑ์จากกัญชง.....	16
3.4 การเตรียมสารละลาย.....	16
3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	18
3.6 การประเมินผลการทดสอบ.....	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4	
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	22
4.1 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สาระสำคัญกลุ่ม แคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด	22
4.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดปริมาณสารสำคัญ กลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด	24
4.3 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัดสาระสำคัญกลุ่ม แคนนาบินอยด์ในตัวอย่างกัญชงหรือผลิตภัณฑ์จากกัญชง	29
4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดในตัวอย่าง กัญชง	30
บทที่ 5	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	32
5.1 สรุปการวิจัย	32
5.2 ข้อเสนอแนะ	33
บรรณานุกรม	34
ประวัติผู้ทำวิจัย	37

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกัญชงและกัญชา	4
3.1 ชุดกรองตัวทำละลายหรือสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC	17
4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	22
4.2 โครมาโทแกรมของแบงก์ (A) และสารละลายมาตรฐานผสมแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	24
4.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBDA (Cannabidiolic Acid) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	25
4.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBG (Cannabigerol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	26
4.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBD (Cannabidiol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	26
4.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน THC (9-Tetrahydrocannabinol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	26
4.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน THCA (9-Tetrahydrocannabinolic acid) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	28
4.8 โครมาโทแกรมของปริมาณสารแคนนาบินอยด์ ในตัวอย่างที่ไม่มีการเจือจางของกัญชงสายพันธุ์ Sikiyou.....	30
4.9 โครมาโทแกรมของปริมาณสารแคนนาบินอยด์ ในตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่าของกัญชงสายพันธุ์ Sikiyou.....	31

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกัญชงและกัญชา	3
2.2 ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารสกัดแคนนาบินอยด์เป็นส่วนประกอบ	6
3.1 ตัวอย่างกัญชง และผลิตภัณฑ์จากกัญชง	16
4.1 ผลของการทดสอบพารามิเตอร์พื้นฐานของการแยกทางโครมาโทกราฟีของสารกลุ่ม แคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (n=10).....	23
4.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด	23
4.3 ตารางแสดงสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด, ช่วงของความเข้มข้นที่ทดสอบความเป็นเส้นตรง และ r^2	25
4.4 ตารางแสดงค่า LOD และ LOQ ของสารมาตรฐานผสมกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ได้จากพิจารณาสมการเส้นตรง.....	27
4.5 ผลการทดสอบความเที่ยง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์.....	28
4.6 ผลแสดงการศึกษากำลังสั้น สะเทือนที่มีผลต่อการสกัดสารแคนนาบินอยด์ ทั้ง 5 ชนิด	29
4.7 เปรียบเทียบปริมาณสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด (CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA) ในช่อดอกกัญชง 5 ตัวอย่าง	30

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กัญชง (Hemp) เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในเอเชียกลาง มีการกระจายแพร่ไปทั่วเอเชีย ตะวันออก อินเดีย ตลอดจนทวีปยุโรป มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. และเป็นพืช ในวงศ์ CANNABACEAE คือวงศ์เดียวกันกับ กัญชา หรือ Marijuana (*Cannabis indica* Lam.) ซึ่งมีลักษณะบางอย่างคล้ายคลึงกัน ทำให้เกิดความสับสน การจำแนกพืชสดทั้งสองชนิดจาก ลักษณะภายนอกที่มองเห็นสามารถนำมาจำแนกได้บางส่วน แต่อย่างไรก็ตาม การจำแนกด้วย องค์ประกอบทางเคมี สามารถจำแนกได้ชัดเจนดีกว่า (กรองแก้ว ทิพย์ศักดิ์ 2562; ทิพย์ จุลหวิ ฟอร์ จูน, ธนารักษ์ มั่งมีชัย, และ ลลิตา ชมเพ็ญ 2562) กัญชงและกัญชาจึงมีบางส่วนแตกต่างกันที่สำคัญ คือ กัญชานั้นจะมีปริมาณสาร THC สูง (ประมาณ 1-10%) แต่กัญชงมีปริมาณสาร THC ต่ำ (Johnson Renee 2019) ปัจจุบันมีการสนับสนุนส่งเสริมให้ปลูกกัญชงเป็นพืชเศรษฐกิจ เพื่อนำไปใช้ ประโยชน์ในครัวเรือน และปลูกสำหรับการศึกษาวิจัย ซึ่งสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชกัญชงคือ สารกลุ่ม แคนนาบินอยด์ เช่น CBD (Cannabidiol), THC (9-Tetrahydrocannabinol), CBN (Cannabinol), THCA (Tetrahydrocannabinolic acid), CBG (Cannabigerol) และ CBDA (Cannabidiolic acid) การเตรียมตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์ที่นิยมคือ เทคนิค UAE (Ultrasound-Assisted Extraction) (Agarwal et al. 2018) อีกทั้งยังมีการใช้เครื่องมือ HPLC-DAD ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและ การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Ambach et al. 2014; Hädener, König, and Weinmann 2019; Jin et al. 2017; Madej et al. 2021) ในงานวิจัยชุดนี้ได้มีการวิจัยส่งเสริมการปลูกกัญชง เพื่อนำเส้นใยมาทอผ้า และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนเพื่อเพิ่มมูลค่า ดังนั้นการตรวจสอบคุณภาพ การวิเคราะห์ เชิงปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในกัญชงหรือในผลิตภัณฑ์กัญชงจึงเป็นเรื่องสำคัญ ผู้วิจัยจึงได้ทำ การพัฒนาวิธีการทดสอบสารสำคัญในกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชงด้วยเครื่อง HPLC-DAD เพื่อให้เกิดความมั่นใจ และความปลอดภัยของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (CBD, CBDA, CBG, THC และ THCA) ในตัวอย่างกัญชง

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

กัญชงกำลังเป็นที่นิยมปลูกเนื่องจากเป็นพืชที่มีคุณค่า และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ และพัฒนาเศรษฐกิจให้กับชุมชนในจังหวัดเพชรบูรณ์ได้ ดังนั้นผู้คณะวิจัย จึงเห็นถึงความสำคัญในการทดสอบและตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างกัญชง เพื่อไม่ให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การทำผลิตภัณฑ์เป็นไปตามกฎหมายที่กำหนด

1.4 ระเบียบวิธีวิจัย

1.4.1 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง เพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลแล้วนำไปปรับปรุงพัฒนา วิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณ กลุ่มสารแคนนาบินอยด์ เช่น CBD, CBDA, CBG, THC และ THCA

1.4.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ ด้วยเทคนิค HPLC-DAD

1.4.3 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยทำการทดสอบวิธีวิเคราะห์ตาม parameter ต่าง ๆ ดังนี้

- ทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของความเป็นเส้นตรง (linear range) ทดสอบความแม่นยำ (Precision) และความเที่ยง (Accuracy) %recovery และ %RSD ตามมาตรฐานการทดสอบ

- ทดสอบ LOQ โดยทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนอย่างน้อย 10 ซ้ำ ประเมินค่า %recovery และ %RSD

- ทดสอบ LOD โดยทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิมมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนอย่างน้อย 10 ซ้ำ ประเมินค่า %recovery และ %RSD

- สรุปผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์

1.4.4 นำวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาได้นี้ นำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างกัญชง

1.4.5 ถ่ายทอดความรู้ให้กับนักวิทยาศาสตร์ นักศึกษา และผู้ที่สนใจ

1.4.6 เผยแพร่ความรู้โดยการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ

1.5 ประโยชน์ของการวิจัย

1.5.1 ศูนย์วิทยาศาสตร์มีวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC-DAD ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ สำหรับการบริการวิชาการ และจัดหารายได้ให้กับมหาวิทยาลัย

1.5.2 ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการวิจัยต่อเนื่อง และเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพตัวอย่างกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชง

1.5.3 เป็นข้อมูลให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องดำเนินการคุ้มครองผู้บริโภค

1.5.4 ให้ความรู้นักศึกษาและเพิ่มศักยภาพเพื่อนำไปใช้ในการประกอบอาชีพในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษา การพัฒนาวิธีการทดสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชง และในผลิตภัณฑ์จากกัญชง ซึ่งเป็นโครงการย่อยภายใต้ โครงการวิจัยการผลิตกัญชง พืชทางเลือกของเกษตรกร จังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมด้วยนวัตกรรม เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วยหัวข้อดังต่อไปนี้

1. กัญชง
2. สารสำคัญในกัญชง
3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

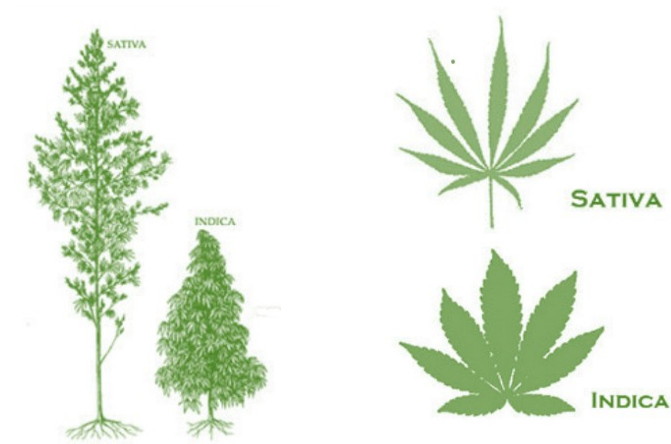
2.1 กัญชง

กัญชง (*Cannabis sativa* L. subsp. *Sativa*, Hemp) และกัญชา (*Cannabis sativa* L. subsp. *indica*, Marijuana) มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่คล้ายคลึงกัน และเป็นพืชวงศ์เดียวกัน คือ Cannabidaceae (กรองแก้ว ทิพย์ศักดิ์ 2562) การจำแนกออกจากกันจะพิจารณาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และพฤกษเคมี (Phytochemistry) (ทิพย์ จุลหวิ ฟอร์จูน et al. 2562) รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.1 และภาพที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกัญชงและกัญชา

กัญชง (Hemp)	กัญชา (Marijuana)
1. ใบมีลักษณะเป็นแฉกประมาณ 7-11 แฉก ใบใหญ่ เรียงตัวค่อนข้างหนา มีลำต้นสูง	1. ใบมีลักษณะเป็นแฉกประมาณ 7-11 แฉก ใบเล็ก แคบ ยาว ใบเรียงตัวชิดกัน ลำต้นเตี้ย
2. เมื่อนำมาสูบ ไม่ค่อยมีกลิ่นหอม สูบแล้วมีอาการปวดศีรษะ	2. ขณะที่สูบมีกลิ่นคล้ายหญ้าแห้ง เมื่อสูบมากจะส่งผลต่อจิตประสาท
3. ปริมาณเส้นใย (Fiber) สูงถึง 35%	3. ปริมาณเส้นใย (Fiber) 15%
4. ปริมาณ THC ในช่อดอกอยู่ระหว่าง 0.3-1.0% โดยน้ำหนักแห้ง แต่มีปริมาณ CBD สูงกว่าในกัญชา	4. ปริมาณ THC ในช่อดอกอยู่ระหว่าง 1-20% โดยน้ำหนักแห้ง แต่มีปริมาณ CBD ต่ำกว่าในกัญชง
5. อัตราส่วน CBD:THC มากกว่า 2-17 เท่า	5. อัตราส่วน CBD:THC อยู่ในช่วง 0.014-0.4%

ที่มา : กรองแก้ว ทิพย์ศักดิ์ (2562), ทิพย์ จุลหวิ ฟอร์จูน และคณะ (2562)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกัญชงและกัญชา

ที่มา : ทิพย์ จุฬทวี ฟอร์จูน และคณะ. (2562)

ทรงเมท สังข์น้อย และ บุญนิศา ช่างมณี (2564) ได้กล่าวถึงวัตถุประสงค์การปลูกกัญชง มีดังนี้ 1. ปลูกกัญชงเพื่อการผลิตสาร CBD เพื่อทำเป็นยา เช่น สายพันธุ์ Berry Blossom, Cherry wine และ Charlotte's web ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้ปริมาณ CBD มากกว่า 18%-25% ส่วน THC มีปริมาณต่ำกว่า 0.3% การปลูกที่เหมาะสมจะส่งผลต่อผลผลิตสาร CBD ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมดูแลสภาพแวดล้อม ควรปลูกในระบบปิดหรือในระบบกึ่งปิด 2. ปลูกกัญชงเพื่อการผลิตเมล็ด สามารถใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ เมล็ดมีส่วนประกอบของน้ำมันมากกว่า 30% มีปริมาณโปรตีน 25% และมีปริมาณสารสำคัญอื่น ๆ เช่น โอเมก้า 3 โอเมก้า 6 โอเมก้า 9 วิตามินอี เป็นต้น การปลูกสายพันธุ์ที่ให้เมล็ดสามารถปลูกในระบบกลางแจ้งได้ 3. ปลูกกัญชงเพื่อผลิตเส้นใย (Fiber) ใช้ทำเครื่องนุ่งห่ม ผลิตภัณฑ์เยื่อกระดาษ เป็นต้น สายพันธุ์นี้สามารถปลูกในระบบกลางแจ้งได้เช่นเดียวกับการปลูกสายพันธุ์ที่ให้เมล็ด

บังอร ศรีพานิชกุลชัย (2562) ได้รวบรวมสรุปองค์ความรู้ที่เป็นปัจจุบันเกี่ยวกับองค์ความรู้ที่เป็นปัจจุบันเกี่ยวกับกัญชาเพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้องในด้านการนำกัญชามาใช้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ซึ่งมีเนื้อหาครอบคลุมลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกัญชา ประวัติการใช้กัญชา เพื่อการรักษา สารสำคัญของกัญชา ระบบเอนโดแคนนาบินอยด์เภสัชวิทยาและกลไกการทำงานของกัญชา รูปแบบยาเตรียมและผลิตภัณฑ์จากกัญชา ที่รวมทั้งตำรับยาแผนไทยที่เข้ากัญชา เภสัชจลนศาสตร์และอันตรกิริยาระหว่างยาของแคนนาบินอยด์ อาการไม่พึงประสงค์

และพิษของแคนนาบินอยด์ แม้ว่าข้อมูลทั้งหมดนี้ชี้แนะศักยภาพของกัญชาที่จะใช้ เป็นยา แต่กัญชามี ทั้งประโยชน์และโทษ และยังต้องการงานวิจัยอีกมากเพื่อสนับสนุนให้มีการใช้ รักษาโรคต่าง ๆ อย่างถูกต้องและปลอดภัย โดยเฉพาะโรคอื่น ๆ ได้แก่ มะเร็ง พาร์กินสัน และอัลไซเมอร์ ซึ่งมีผลงานวิจัยที่พบว่าทั้ง THC และ CBD มีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคและอาการแสดงได้ หลายชนิด ได้แก่ อาการปวดประสาท อาการหดเกร็ง ของกล้ามเนื้อ ด้านการชัก อาการคลื่นไส้อาเจียน เพิ่มความอยากอาหาร โดยมีกลไกการทำงาน ผ่านตัวรับเอนโดแคนนาบินอยด์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมภาวะโฮมีโอสตัสของร่างกาย

ตามประกาศ กระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๔๒๗) พ.ศ.๒๕๖๔ เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหาร ที่มีส่วนประกอบของกัญชาหรือกัญชง (กระทรวงสาธารณสุข 2565) โดยที่นโยบายของรัฐบาล ที่ส่งเสริมและพัฒนา กัญชาและกัญชงเป็นพืชเศรษฐกิจและเป็นภูมิปัญญาไทย “ส่วนของกัญชา” หมายความว่า ส่วนของพืชกัญชา (*Cannabis*) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cannabis indica* Lam. หรือ *Cannabis sativa* L. ดังต่อไปนี้ เฉพาะที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตในประเทศเท่านั้น ได้แก่

- (ก) เปลือก ลำต้น เส้นใย กิ่งก้าน และราก
- (ข) ใบซึ่งไม่มียอดหรือช่อดอกติดมาด้วย

“ส่วนของกัญชง” หมายความว่า ส่วนของพืชกัญชง หรือที่มีชื่อเรียกว่า เฮมพ์ (Hemp) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* ดังต่อไปนี้ เฉพาะที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตในประเทศเท่านั้น ได้แก่

- (ก) เปลือก ลำต้น เส้นใย กิ่งก้าน และราก
- (ข) ใบซึ่งไม่มียอดหรือช่อดอกติดมาด้วย

“สารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Tetrahydrocannabinol, THC)” หมายความว่า สารเตตราไฮโดรแคนนาบินอลชนิด Delta-๙- Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) เป็นส่วนประกอบซึ่งสกัดจากพืช กัญชาหรือกัญชงและต้องมีปริมาณ มีปริมาณสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก

“สารสกัดแคนนาบิไดออล” หมายความว่า สารสกัดที่มีสารแคนนาบิไดออล (Cannabidiol, CBD) เป็นส่วนประกอบซึ่งสกัดจากพืชกัญชาหรือกัญชงและต้องมีปริมาณสารแคนนาบิไดออล ไม่น้อยกว่าร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

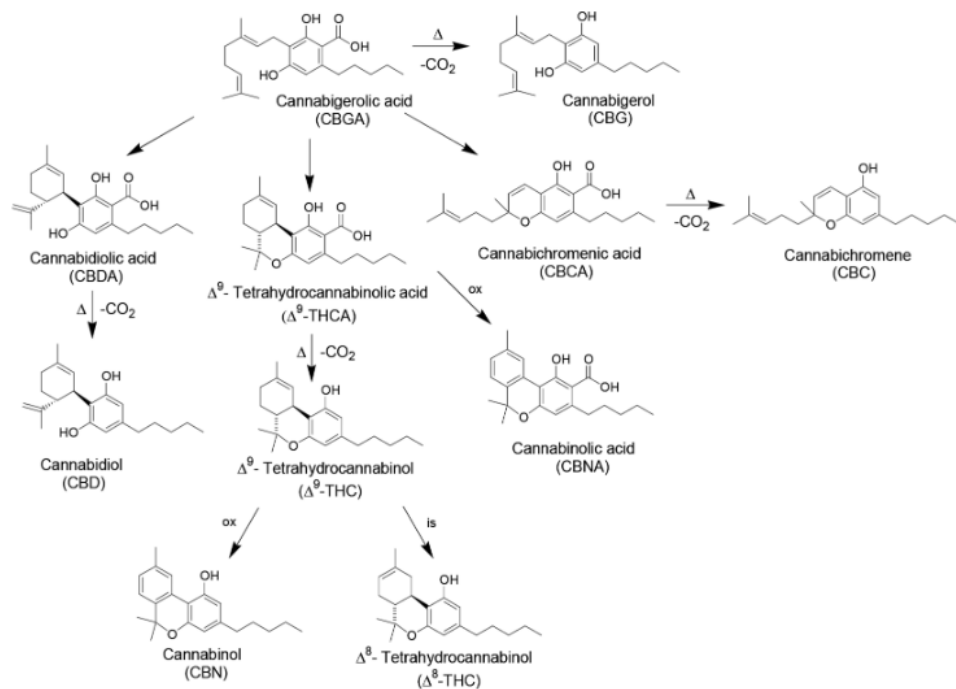
ตารางที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารสกัดแคนนาบิไดโอดเป็นส่วนประกอบ

ประเภทอาหาร	เงื่อนไข
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Food supplements)	ปริมาณแคนนาบิไดโอด (CBD) ไม่เกิน 55 มิลลิกรัมต่อวัน และปริมาณเตตราไฮโดรแคนนาบินอล THC ไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือมิลลิกรัมต่อลิตร
เครื่องดื่มแต่งกลิ่นรสอัดก๊าซ เฉพาะผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภคเท่านั้น ยกเว้นผลิตภัณฑ์ในลักษณะเดียวกัน ที่มีส่วนประกอบของ ชา กาแฟ และกาแฟอิน ทั้งธรรมชาติและสังเคราะห์ และเครื่องดื่มเกลือแร่	ปริมาณแคนนาบิไดโอด (CBD) ไม่เกิน 75 มิลลิกรัมต่อวัน และปริมาณเตตราไฮโดรแคนนาบินอล THC ไม่เกิน 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือมิลลิกรัมต่อลิตร
เครื่องดื่มแต่งกลิ่นรสไม่อัดก๊าซ เฉพาะผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภคเท่านั้น ยกเว้นผลิตภัณฑ์ในลักษณะเดียวกัน ที่มีส่วนประกอบของ ชา กาแฟ และกาแฟอิน ทั้งธรรมชาติและสังเคราะห์ และเครื่องดื่มเกลือแร่	
เครื่องดื่มจากธัญชาติ (Cereal and grain beverages) เฉพาะผลิตภัณฑ์พร้อม บริโภคเท่านั้น ยกเว้น ชา กาแฟ ชาจากพืช และผลิตภัณฑ์ในลักษณะเดียวกัน	

ที่มา : กระทรวงสาธารณสุข (2565)

2.2 สารสำคัญในกัญชง

กัญชงนิยมนำมาใช้เป็นยารักษาโรค อาหาร น้ำมัน และเส้นใย โดยการนำมาใช้ประโยชน์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แต่ละชนิด กลุ่มของสารประกอบที่สำคัญที่ออกฤทธิ์ทางเคมี เช่น Cannabinoids, Terpenoids, Flavonoid และ Alkaloids กลุ่มของสารประกอบที่สำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด คือ กลุ่ม Cannabinoids เป็นกลุ่มสารประกอบ Terpenophenolic ซึ่งสะสมอยู่ใน Trichome ของดอกตัวเมียเป็นส่วนใหญ่ (Bonini et al. 2018) แสดงดังภาพที่ 2.2 โดยมี CBGA (Cannabigerolic) เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (Biosynthetic precursor) ให้สารประกอบ CBG (Cannabigerol), CBDA (Cannabidiolic acid), CBD (Cannabidiol), CBCA (Cannabichromenic acid), CBC (Cannabichromene), Δ^9 -THCA (Δ^9 -Tetrahydrocannabinolic acid), Δ^9 -THC (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol), Δ^8 -THC (Δ^8 -Tetrahydrocannabinol), CBN (Cannabinol), CBNA (Cannabinolic acid) (Protti et al. 2019)



ภาพที่ 2.2 แสดงการสังเคราะห์ทางชีวภาพของกรด Cannabigerolic ได้สารประกอบกลุ่ม

Cannabinoids ชนิดต่าง ๆ (Δ : การให้ความร้อน, ox: ออกซิเดชัน, is: ไอโซเมโรเซชัน)

ที่มา : Protti et al. (2019)

สำหรับงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงความสำคัญของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่ได้ทำการศึกษา มีดังนี้คือ Cannabidiol (CBD) สูตรทางเคมี $C_{21}H_{30}O_2$ และมวลโมเลกุลเท่ากับ 314.469 กรัมต่อโมล ไม่มีฤทธิ์เสพติดทางใจ โดยออกฤทธิ์เพื่อการคลายเครียด ปกป้องเซลล์ประสาท ด้านชัก แก้ปวด ฤทธิ์ด้านเนื้องอก ด้านอาการอักเสบ ด้านฤทธิ์ต่อจิตประสาท และ CBD ไม่ทำให้เกิดการฉ้อหรือติด สามารถใช้ประโยชน์ได้หลากหลายทั้งเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร ยา และอาหาร (สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง 2564) Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) สูตรทางเคมี $C_{21}H_{30}O_2$ และมวลโมเลกุลเท่ากับ 314.469 กรัมต่อโมล เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางจิตใจ ในขนาดที่เหมาะสม จะออกฤทธิ์ลดอาการปวดเกร็ง ของกล้ามเนื้อ ลดอาการคลื่นไส้ ถ้าหากได้รับในปริมาณสูง จะออกฤทธิ์ทำให้เมาใจสั้น หน้ามืด เห็นภาพหลอน รบกวนการทำงานของสารเคมีในสมอง ทำให้การรับรู้เกี่ยวกับการตัดสินใจและมีผลต่อความจำ หากได้รับในปริมาณที่สูงอย่างต่อเนื่อง จะทำให้เกิดภาวะการติดต่อสาร (สทภูมิ ศรีสุเมะ 2565) CBG (cannabidiol) มีทางสูตรเคมี $C_{21}H_{32}O_2$ และมวลโมเลกุลเท่ากับ 316.48 กรัมต่อโมล CBG ไม่ใช่สารประกอบที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท สักยภาพในการบำบัดรักษา มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และฤทธิ์ด้านการอักเสบ นอกจากนี้ยังป้องกันการเพิ่มจำนวนเซลล์ การศึกษาจนถึงขณะนี้ยังไม่พบผลกระทบที่เป็นอันตรายของ CBG ต่อร่างกายมนุษย์ (Jastrzębska, Iwona Jarocka-Karpowicz, and Elżbieta Skrzydlewska 2022)

2.3 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สรเพชร มาสุต และคณะ (2564) ได้ศึกษาการตรวจปริมาณสารแคนนาบินอยด์ด้วยวิธี Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) ในระยะการเจริญเติบโตของใบที่แตกต่างกัน ได้แก่ ในระยะใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ของกัญชาไทย 4 พันธุ์ ได้แก่ หางกระรอกภูพานเอสที 1 (ST1) หางเสือสกลนครทีที1 (TT1) ตะนาวศรีก้านขาวดับเบิลยูเอ (WA1) และตะนาวศรีก้านแดงอาร์ดี1 (RD1) พบว่าใบเพสลาดของกัญชาอายุ 2 เดือน พันธุ์ ST1 และ RD1 มีน้ำหนักต่อใบทั้งใบสดและใบแห้งสูงกว่าสายพันธุ์อื่น และพบว่าสายพันธุ์ RD1 มีความยาวก้านใบในช่วงใบเพสลาดและใบแก่มากกว่าสายพันธุ์อื่น ส่วนความยาวและความกว้างของใบมีค่าไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบสาร THC มีปริมาณสูงสุดในระยะใบอ่อนของใบกัญชาอายุ 2 เดือน ส่วนปริมาณสาร CBD พบสูงสุดในใบอ่อนของพันธุ์ RD1 ถึงร้อยละ 3.83 โดยน้ำหนัก ที่อายุ 1 เดือน ส่วนปริมาณสาร CBN พบในใบค่อนข้างน้อย ข้อมูลนี้ช่วยให้นำใบกัญชาพันธุ์ไทยไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้อย่างเหมาะสม รวมทั้งการพัฒนาพันธุ์กัญชาเพื่อเพิ่มมูลค่าของใบกัญชาทางเศรษฐกิจ

สกุลรัตน์ สมสันติสุข และคณะ (2564) ได้พัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ Δ^8 -THC, Δ^9 -THC, THCA, THCV, CBD และ CBN ในน้ำมะพร้าวโดยการสกัดอาศัยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าวิธีนี้มีขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมช่วงการวิเคราะห์ที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเท่ากับ 3-50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า correlation coefficient ในช่วง 0.9921-0.9985 มีความแม่นยำแสดงด้วยค่าเฉลี่ย %recovery อยู่ในช่วง 91.16-113.37% และความเที่ยงแสดงด้วย %RSD อยู่ในช่วง 2.65-15.00% วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือและเหมาะสมในการนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารแคนนาบินอยด์ในเครื่องดื่มแต่งกลิ่นรส

ธนวัฒน์ ทองจีน และคณะ (2564) พัฒนากิจการวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ (CBD, CBN และ THC) ในใบกัญชาด้วยวิธีในใบกัญชาด้วยวิธี Ultra-High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) โดยการสกัดด้วยใบกัญชาใน ethanol ด้วยวิธี reflux กรองและนำสารสกัดมาระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธี วิเคราะห์ดังกล่าว พบว่า calibration curve ของ CBD, CBN และ THC มีลักษณะเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1.07-106.89, 1.00-99.60 และ 1.00-99.90 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999, ค่า %recovery อยู่ในช่วง 96.83-100.89%, ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.30-1.96, limit of detection (LOD) ของ CBD, CBN และ THC มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.006, 0.009 และ 0.003 โดยน้ำหนักตามลำดับ ในขณะที่ limit of quantitation (LOQ) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 0.020, 0.032 และ 0.011 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ มีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร CBD, CBN และ THC ในวัตถุดิบและสารสกัดกัญชาได้

Ambach et al. (2014) ได้พัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธี HPLC-DAD สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ Δ^9 -THC, Δ^9 -THCA-A, CBD และ CBN ในผลิตภัณฑ์กัญชาที่ถูกยัดได้ปริมาณ THC จะรวมปริมาณ THCA-A ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่ไม่ออกฤทธิ์ แต่เมื่อได้รับความร้อนจะสามารถเปลี่ยนเป็น THC ได้ การทดสอบให้แห้งและเนื้อเดียวกัน สกัดด้วย สกัดด้วยเมทานอลโดยใช้อัลตราโซนิก การวิเคราะห์ทางโครมาโตกราฟีด้วยคอลัมน์ LiChroCart 125-4 เฟสเคลื่อนที่ระบบ isocratic ใช้ triethylammoniumphosphate ความเข้มข้น 25 mM กับ ACN อัตราส่วนเท่า 36% : 64% ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 nm วิธีนี้ได้รับการยอมรับจากหน่วยงานภาครัฐของสวิตเซอร์แลนด์ (Bundesamt für Gesundheit, Federal Office of Public Health) และได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 9092 ตัวอย่างตั้งแต่ปี 2000 เนื่องจากการไม่มีการลดคาร์บอนกัมมันต์ด้วยความร้อนของ

THCA-A เกิดขึ้น วิธีการนี้จึงทำซ้ำได้อย่างมากสำหรับ วัสดุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน การวิเคราะห์มีช่วงการสอบเทียบสองช่วง ช่วงที่ต่ำใช้สำหรับ THC, CBN และ CBD และช่วงที่สูงขึ้นใช้สำหรับ THCA-A เนื่องจากมีปริมาณมากในตัวอย่าง วิธีนี้ได้นำมาใช้เป็นเวลาหลายปี และมีความเที่ยงและมีความแม่นยำสูง

Jin et al. (2017) ได้กล่าวถึงหลายศตวรรษที่ผ่านมาการวิจัยที่เกี่ยวกับกัญชาถูกขัดขวางเนื่องจากกฎหมายเนื่องจากเป็นสารเสพติด แต่เมื่อเร็วๆ นี้อเมริกาเหนือได้ทำให้ถูกต้องตามกฎหมายทั้งนี้เพื่อทางการแพทย์ ได้มีการกำหนดมาตรฐานที่เข้มงวดขององค์ประกอบทางพฤกษเคมีเพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและประสิทธิภาพทางยา ในการใช้กัญชาทางการแพทย์เป็นยาที่สามารถคาดการณ์ได้ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องจำแนกสายพันธุ์หลายร้อยสายพันธุ์ ทั้งปริมาณแคนนาบินอยด์และเทอร์พีนที่ใช้รักษาโรคหลายสิบชนิด สารกลุ่มแคนนาบินอยด์หลัก คือปริมาณ THC และ CBD โดยผู้เขียนได้พัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-DAD เพื่อหาปริมาณสารแคนนาบินอยด์ และใช้เทคนิค GC-MS เพื่อหาปริมาณเทอร์พีนในตัวอย่างกัญชาที่วางขายในตลาดแคนาดา จำแนกตัวอย่างกัญชา 32 ตัวอย่างจากผู้ผลิตที่ได้รับอนุญาตสองรายออกเป็น 4 กลุ่มตามปริมาณของสารแคนนาบินอยด์ 10 ชนิดและเทอร์พีน 14 ชนิด ผลการจำแนกประเภทได้รับการยืนยัน ซึ่งมีความแตกต่างเฉพาะ THC และ CBD ดังนั้น วิธีการจำแนกแบบองค์นี้จะนำไปสู่การสร้างมาตรฐานของสายพันธุ์กัญชาที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เพื่อสนับสนุนตลาดที่กำลังเติบโตอย่างต่อเนื่อง

Agarwal et al. (2018) ได้ใช้เทคนิค UAE (ultrasound-assisted extraction) สำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญจาก *Cannabis sativa* L. เช่น โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแคนนาบินอยด์ ตัวแปรที่ศึกษา คือ เวลา กำลังไฟฟ้า และความเข้มข้นของเมทานอล โดยประเมินจากตัวแปรตามคือ ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ (TF) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอรริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) และผลผลิตโดยรวม การออกแบบจำลองทางสถิติของ response surface methodology ตามด้วยการถดถอยและการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อกำหนดความสำคัญของแบบจำลองและปัจจัยต่างๆ จากการทดลองสถานะการสกัดที่เหมาะสมคือใช้เวลา 15 นาที กำลังไฟฟ้า 130 W และเมทานอล 80% ได้ปริมาณ 314.822 mg GAE/g DW ของ TPC, 28.173 mg QE/g DW ของ TF, 18.79 mM AAE/g DW ของ FRAP และ 10.86% ของผลผลิตที่ได้

Burnier, Esseiva, and Roussel (2019) ได้กล่าวถึงและศึกษา เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) ส่วนใหญ่ใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ แต่มีข้อจำกัด สำหรับสารประกอบที่วิเคราะห์ไม่เสถียรกับความร้อน เช่นเดียวกับกรณีของ THCA ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็น Δ^9 -THC ได้การเปลี่ยนแปลงจะค่อยๆ สลายไปบางส่วนในภายหลัง ดังนั้นผู้เขียนจึงนำเสนอวิธี

โครมาโตกราฟีของเหลวความดันสูงแบบเร็ว (Fast-HPLC-DAD) ซึ่งสามารถแยก CBN, CBD, THCA และ Δ 9-THC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นสารประกอบ cannabinoids ที่สำคัญที่พบในต้นกัญชาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 5 นาที วิธีการนี้สามารถหาปริมาณที่เหมาะสมของ Δ 9-THC ในสารสกัดจากพืชโดย มีความแม่นยำที่ดีมาก มีค่า %recovery เท่ากับ 100.53 ± 3.12 % นอกจากนี้ยังเป็นทางเลือก ราคาไม่แพง สำหรับงานทางนิติวิทยาศาสตร์

Hädener, König, and Weinmann (2019) การวิเคราะห์กัญชาเป็นเรื่องใหม่ที่สำคัญทั่วโลก เป็นการควบคุมคุณภาพภายในอุตสาหกรรมกัญชาเพื่อการพักผ่อนหย่อนใจและการแพทย์ที่ถูกกฎหมาย แต่ยังรวมถึงความแตกต่างทางนิติวิทยาศาสตร์ระหว่างกัญชาประเภทยาเสพติดและผลิตภัณฑ์ที่ถูกกฎหมาย เช่น เส้นใยกัญชาที่มีสาร CBD จำนวนมาก/THC น้อย ในที่นี้ขอนำเสนอวิธี HPLC-DAD สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารแคนนาบินอยด์ที่เป็นกลางและเป็นกรดที่สำคัญในกัญชาและกัญชา ดังนี้ Δ 9-THC, Δ 9-THCA, CBD, CBDA และ CBN ตัวอย่างถูกทำให้แห้ง บดให้เป็นเนื้อเดียวกันและสกัดด้วยของผสมของเมทานอล/เฮกเซน สารที่วิเคราะห์ถูกแยกด้วยคอลัมน์ C8 ใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ด้วยตัวทำละลาย อะซิโตน ไทโรล 0.1% กรดฟอร์มิก เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์เท่ากับ 13 นาที และตรวจพบการวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร วิธีการนี้มีความเฉพาะเจาะจง รวดเร็ว แม่นยำและเที่ยง โดยได้รับการยืนยันผ่านการทดสอบความใช้ได้ตามหลักเกณฑ์ของ ICH และ AOAC พบปริมาณสารในตัวอย่าง ตั้งแต่ 0.04 % –66.66% ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ตัวอย่างกัญชาที่นำมาวิเคราะห์ทั้งหมด 110 ตัวอย่าง ที่ตำรวจของประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิคนี้มีศักยภาพสำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างกัญชาเหมาะสมกับงานทางนิติวิทยาศาสตร์

Madej et al. (2021) ได้เห็นถึงความสนใจของผู้บริโภคที่เพิ่มมากขึ้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันเมล็ดกัญชาดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพ จึงศึกษาหาวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพ และได้รับการยืนยันจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการตรวจหาสารแคนนาบินอยด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในตัวอย่างดังกล่าว ได้ใช้เทคนิค HPLC-DAD สำหรับการตรวจหาสารแคนนาบินอยด์ 4 ชนิด คือ CBD, CBDA, CBN และ Δ 9-THC ในตัวอย่างน้ำมันกัญชาเชิงพาณิชย์ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 7 ชนิด ในวิธีการวิเคราะห์ การแยกสารประกอบที่วิเคราะห์สกัดด้วยอะซิโตน ไตรคลอโรเอทีนร่วมกับน้ำมันที่ผ่านการแช่แข็ง (ที่ -41 °C) ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของสารแคนนาบินอยด์ในอาหารเสริมที่ทดสอบนั้นแตกต่างจากที่ผู้ผลิตประกาศไว้อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับ CBD ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันกัญชา ความเข้มข้นที่วัดได้ต่ำกว่าที่ประกาศไว้ อยู่ในช่วง 1.45 และ 1.81% ค่าที่กำหนดอยู่ในช่วง 5 และ 5% และในอาหารเสริมอื่น ๆ ผลลัพธ์พบปริมาณ CBD ที่ประกาศอยู่ในช่วงตั้งแต่ 3.29 ถึง 9.2% ดังนั้นเพื่อให้แน่ใจว่า

ผู้บริโภคจะใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเหล่านี้ได้อย่างปลอดภัยและเป็นประโยชน์ จึงจำเป็นต้องตรวจสอบส่วนประกอบของสารแคนนาบินอยด์

Casiraghi et al. (2022) ได้ศึกษาเทคนิค UAE สกัดสารกลุ่ม Cannabinoids จากกัญชาในน้ำมันมะกอก เพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ พบว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีหมัก (maceration) ให้ผลการสกัดปริมาณ CBD และ THC ไม่แตกต่างกันใช้เวลาเพียง 10 นาที ซึ่งพบว่าการที่น้ำมันมะกอกสัมผัสคลื่นความถี่ระหว่างการเตรียมไม่ส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบเชิงคุณภาพของน้ำมันตั้งต้น นั่นก็คือไม่มีกระบวนการออกซิเดชันหรือไฮโดรออกซิเดชัน ของ THCA

Pathompak et al. (2022) ได้กล่าวถึงยาสูบไสยาสน์ เป็นหนึ่งในตำรับยาไทยที่เก่าแก่ที่สุดที่บันทึกไว้สำหรับรักษาโรคนอนไม่หลับ สูตรนี้ประกอบด้วยพืชสมุนไพร 12 ชนิด ซึ่งกัญชาเป็นส่วนประกอบสำคัญทางเภสัชกรรม เมื่อเร็ว ๆ นี้ยาแผนโบราณได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายกับผู้ป่วยจำนวนมาก เพื่อให้แน่ใจว่าคุณสมบัติการรักษาของยาเมื่อยาสูบไสยาสน์ ควรระบุวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานสำหรับการวัดสารออกฤทธิ์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธี HPLC ตามแนวทาง ICH เพื่อหาปริมาณ CBD และ THC ในยาเมื่อยาสูบไสยาสน์ การแยกด้วยโครมาโตกราฟีสำเร็จโดยใช้คอลัมน์ ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 x 100 มม., 3.5 ไมโครเมตร) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและเฟสเคลื่อนที่คืออะซิโตนในไตรล์และน้ำ อัตราการไหล 0.5 มล./นาที CBD และ THC แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นในช่วงความเข้มข้น 0.25 - 10.0 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9998 มีความแม่นยำมีค่า %recovery อยู่ระหว่าง 92 - 106% ชัดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดของการวัดปริมาณพบอยู่ที่ 0.03 และ 0.10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ ดังนั้นสรุปได้ว่าวิธี HPLC ที่พัฒนาขึ้นนี้มีแม่นยำและสามารถใช้ในการหาปริมาณสาร CBD และ THC และสามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของยาเมื่อยาสูบไสยาสน์ ได้

Acquavia et al. (2023) ได้ศึกษาถึง Cannabis sativa L. มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะปริมาณและอัตราส่วนของสาร cannabinoids ที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ Δ^9 -THC และ CBD อัตราส่วนของ THC:CBD ส่งผลต่อการทำงานร่วมกันทางเภสัชวิทยาสำหรับการรักษาโรคต่าง ๆ เช่นเดียวกับการปรับผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างของ CBD, THC สำหรับผู้ป่วยเฉพาะรายหรือผลทางคลินิก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อปริมาณทั้งหมดของ THC, CBD และอัตราส่วนของสารดังกล่าวในช่อดอกแห้ง 34 ชนิดที่จำหน่ายอย่างถูกกฎหมายในร้านค้าที่มีขายในท้องตลาดและร้านค้าออนไลน์ โดยใช้วิธี HPLC-UV ที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว หลังจากที่ได้ identification สารแคนนาบินอยด์ด้วยวิธี MS การศึกษา นอกจากนี้ยังมีหาปริมาณ CBN ตัวอย่างที่ตรวจสอบทั้งหมดพบว่าปริมาณ THC ทั้งหมดต่ำกว่า 0.59% w / w ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดทาง

กฎหมาย ปริมาณ CBD ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 2.62 ถึง 20.27% w / w อัตราส่วนของ THC:CBD อยู่ระหว่าง 1:3 และ 1:26 ดังนั้นจึงยืนยันถึงความเหมาะสมสำหรับการใช้งานทางเภสัชวิทยาในเป้าหมายที่แตกต่างกัน ได้ศึกษาในหลอดทดลองโดยใช้กับสายเซลล์มะเร็งระดับของมนุษย์ HepG2 พบว่าสารสกัดจากัญชาที่มีอัตราส่วน THC:CBD 1:9 มีความเป็นพิษสูงกว่าสารแคนนาบินอยด์บริสุทธิ์

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) รุ่น Agilent series 1260 พร้อมด้วย Diode Array Detector ประกอบด้วย degasser (G1311C), Quaternary pump VL (G1311C), auto sample (G1329B), thermostate temperature (G1316A) ระบบการควบคุม และการประมวลผลใช้ซอฟต์แวร์ OpenLAB CDS ChemStation เวอร์ชัน C.01.07 ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. คอลัมน์รุ่น Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m) ผลิตจากบริษัท Welchmat ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง โมเดล ME3002T ผลิตจากบริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) ยี่ห้อ Dynamica รุ่น V18R ผลิตจากบริษัท Dynamica ประเทศจีน

5. เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) กำลังการสั่นสะเทือนที่ 250 วัตต์ จากบริษัท Drawell Scientific Instrument ประเทศจีน

6. ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง Direct Freezing -40 °C ยี่ห้อ Parasonic Model MDF-U5412

7. ตู้เย็นสำหรับเก็บสารละลายมาตรฐาน Mitsubishi Electric รุ่น MR-FC31EP

8. ตู้ดูดควัน (Hood) Model 252 ยี่ห้อ NEW LAB

9. Syringe filter nylon ขนาด 0.22 μ m x 13 mm

10. กระบอกฉีดยา (Disposable Syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร

11. ไมโครปิเปตขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร จากบริษัท Mettler Toledo ประเทศสหรัฐอเมริกา (ผ่านการสอบเทียบแล้ว)

12. ขวดวัดปริมาตรขนาด 1, 2, 5, 10, และ 25 มิลลิลิตร

13. ปีกเกอร์ขนาด 25, 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร

14. ขวดกั่นกลมขนาด 25, 250, และ 500 มิลลิลิตร

15. ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (Vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร และ Insert ขนาด 400 ไมโครลิตร

16. ขวดสีชาสำหรับใส่สารละลายมาตรฐานขนาด 20 และ 60 มิลลิลิตร

17. หลอดหยดสาร
18. ซ้อนตักสารเคมี
19. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

3.2 สารเคมี

1. เมทานอล (Methanol; CH_3OH) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 99.9% มวลโมเลกุล 32.0 กรัมต่อโมล บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี

2. เอทานอล (Ethanol; $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99.9% มวลโมเลกุล 46.0 กรัมต่อโมล บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี

3. อะซิโตนไทรล์ (Acetonitrile; CH_3CN) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 99.9% มวลโมเลกุล 41.05 กรัมต่อโมล บริษัท J.T Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา

4. ฟอर्मิก แอซิดหรือกรดฟอर्मิก (Formic acid; HCOOH) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98% ความหนาแน่น 1.22 กรัมต่อมิลลิลิตร มวลโมเลกุล 46.03 กรัมต่อโมล บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศอิตาลี

5. สารละลายมาตรฐานกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 5 ชนิด เป็นของบริษัท Sigma Aldrich ผลิตจากประเทศอิตาลี สารทั้งหมดเป็นวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีใบรับรองบ่งบอกความบริสุทธิ์ และค่าความไม่แน่นอนขยาย (U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k = 2$) ซึ่งสารแต่ละตัวมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

5.1. แคนนาบิไดโอลิก แอซิด (Cannabidiolic Acid; CBDA) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มวลโมเลกุล 358.50 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ $100 \pm 0.006\%$

5.2. แคนนาบิเจอร์อล (Cannabigerol; CBG) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มวลโมเลกุล 316.50 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ $100 \pm 0.006\%$

5.3. แคนนาบินอล (Cannabidiol; CBD) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มวลโมเลกุล 314.50 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ $100 \pm 0.006\%$

5.4. เดลต้า 9 เตตราไฮโดรแคนนาบิโนลิก แอซิด เอ (Delta-9-Tetrahydrocannabinolic acid A; Δ^9 -THC-A) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มวลโมเลกุล 358.48 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ $100 \pm 0.006\%$

6. วัสดุอ้างอิง (Reference Material; RM) ที่มีใบรับรองบ่งบอกความบริสุทธิ์ และค่าความไม่แน่นอนขยาย (U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k = 2$) ของสารละลายมาตรฐานเดลต้า 9 เตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Delta-9-Tetrahydrocannabinol; Δ^9 -THC) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร มวลโมเลกุล 314.47 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ $93.03 \pm 0.01\%$ ซื้อมาจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย

3.3 ตัวอย่างกัญชง และผลิตภัณฑ์จากกัญชง

ตัวอย่างที่ได้นำมาวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้คือ ช่อดอกกัญชงชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 5 ชนิด ได้รับมาจากคุณกอแก้ว วชิรมน สถาบันเศรษฐกิจพอเพียงเครือข่ายเกษตรอินทรีย์วิถีไทย อำเภอ เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ รายละเอียดของตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างกัญชง และผลิตภัณฑ์จากกัญชง

รหัสตัวอย่าง	รายละเอียดของตัวอย่าง
Hemp1	Baox
Hemp2	Sikiyou
Hemp3	Sour suver haze
Hemp4	Auto blues
Hemp5	cherry wine

3.4 การเตรียมสารละลาย

3.4.1 การเตรียมตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่

เฟสเคลื่อนที่ A

0.1% กรดฟอร์มิก เตรียมโดยปีเปต 1 มิลลิลิตรของกรดฟอร์มิกลงในขวดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตรที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่เล็กน้อย หลังจากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เฟสเคลื่อนที่ B คือ 100% อะซิโตนไตริล

ก่อนที่จะนำเฟสเคลื่อนที่ทั้ง 2 ไปใช้ในระบบ HPLC จะต้องกรองผ่านแผ่นเมมเบรนชนิดไนลอนที่มีขนาด 0.45 หรือ 0.22 ไมโครเมตร ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ด้วยชุดกรองตัวทำละลายหรือสารละลายเฟสเคลื่อนที่ดังภาพที่ 3.1 จากนั้นเฟสเคลื่อนที่ที่ผ่านการกรองลงในขวดสีชาแล้วนำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่องความถี่สูงเป็นเวลา 20 นาทีก่อนใช้งานเสมอ



ภาพที่ 3.1 ชุดกรองตัวทำละลายหรือสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

3.4.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

3.4.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA ที่ความเข้มข้น 100.00, 75.00, และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1000.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 200, 150 และ 100 ไมโครลิตรตามลำดับ ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 2 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

3.4.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA ที่ความเข้มข้น 30.00, 10.00 และ 5.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 600, 200 และ 100 ไมโครลิตรตามลำดับ ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 2 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

3.4.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA ที่ความเข้มข้น 1.00 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 10.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 200 และ 100 ไมโครลิตรตามลำดับ ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 2 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยมีทั้งหมด 3 ขั้นตอน มีดังต่อไปนี้

1. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด
3. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในตัวอย่างกัญชงหรือผลิตภัณฑ์จากกัญชง
4. นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในตัวอย่างช่อดอกกัญชงหรือผลิตภัณฑ์จากกัญชงที่มาจากคุณกอกแก้ว วชิรมน สถาบันเศรษฐกิจพอเพียงเครือข่ายเกษตรอินทรีย์วิถีไทย อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

3.5.1 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด

การศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกนี้ได้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hädener et al. 2019 สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ทั้งหมด 4 อัตราส่วน (50:50, 40:60, 30:70 และ 20:80 %v/v) โดยใช้เฟสคงที่คือ คอลัมน์ Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m) วิเคราะห์โดยฉีดสารละลายมาตรฐานแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้เฟสเคลื่อนที่ระหว่าง 0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตนไทรล์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัดแบบ diode array detector (DAD) ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ตรวจวัดสาร CBG, CBD และ THC สำหรับความยาวคลื่นที่ 220 นาโนเมตร CBDA และ THCA ตามลำดับ แล้วพิจารณาความเหมาะสมของระบบ (System suitability test) ซึ่งพิจารณาพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ R_t (Retention time), N (theoretical plates), k' (Retention factor), R_s (Resolution factor) และ T (Tailing factor) ตามงานวิจัยของ Bose 2014

3.5.2 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด

จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด จำเป็นต้องทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อยืนยันถึงความถูกต้อง และความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ก่อนนำมาใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งจะต้องแสดงคุณลักษณะ (performance characteristics) ที่ทดสอบได้แก่พารามิเตอร์ต่อไปนี้ การทดสอบ

ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) การทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ (linearity and range) การทดสอบความแม่นยำ (accuracy) การทดสอบความเที่ยง (precision) การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ในการทดสอบพารามิเตอร์ข้างต้นใช้สภาวะที่เหมาะสมทางโครมาโทกราฟีที่ได้จากการทดลองเรียบร้อยแล้ว

3.5.2.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ทางเทคนิค HPLC นั้นกระทำได้โดยการฉีดสารละลายแบบลงค์ สารละลายมาตรฐานผสมทั้งหมด 5 ชนิด (CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA) ที่ระดับความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อศึกษาความแตกต่างของเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์ (retention time) ของสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดจะต้องแยกออกจากสารอื่นโดยจะต้องไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น

3.5.2.2 การทดสอบความความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and range)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมทั้งหมด 5 ชนิดที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ตามที่กล่าวไว้ในหัวข้อการเตรียมสารละลายมาตรฐาน นำสารละลายที่ได้กรองด้วย syringe filter nylon ขนาด $0.22\ \mu\text{m} \times 13\ \text{mm}$ จากนั้นไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC/DAD โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยก วัดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พร้อมศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีค นำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, r^2) ต้องมากกว่า 0.995

3.5.2.3 การทดสอบความแม่นยำ และเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ (accuracy and precision)

เกณฑ์การทดสอบความแม่นยำ และความแม่นยำคือ การคำนวณค่าร้อยละของการกลับคืน(%Recovery) ที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ระดับ ในช่วงของการทดสอบ และประเมินค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ตามลำดับ ซึ่งการทดสอบความแม่นยำ และความเที่ยงนี้ ทำได้โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานทั้ง 6 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ทดสอบความเข้มข้นละ 21 ซ้ำ คำนวณค่าร้อยละของการกลับคืนแต่ละความเข้มข้น หาค่าเฉลี่ยร้อยละของการกลับคืน และค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) โดยค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืนจะต้องอยู่ในช่วง 90-102 และค่า %RSD ไม่เกิน 5

3.2.2.4 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

(Limit of quantitation, LOQ)

การทดสอบ LOD และ LOQ โดยการถดถอยสารละลายมาตรฐานทั้ง 6 ชนิด 8 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค และความเข้มข้นไปสร้างกราฟหาค่าจุดตัดที่ได้จากกราฟ (y-intercept of calibration curve) กับค่าความชันที่ได้จากกราฟ (Slope) แทนในสูตร

$$\text{LOD} = \frac{(3 \times \text{y-intercept of calibration curve})}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{(10 \times \text{y-intercept of calibration curve})}{\text{Slope}}$$

3.5.3 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในตัวอย่างกัญชงหรือผลิตภัณฑ์จากกัญชง

3.5.3.1 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัด

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิธีการสกัดโดยดัดแปลงวิธีมาจาก [7-10] ด้วยการเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) แบบ probe ที่มีกำลังสั่นสะเทือน 250 วัตต์ ในการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 6 ชนิด ทำได้โดยสุมตัวอย่างกัญชงที่เป็นตัวแทนการหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดบดตัวอย่างให้ละเอียด จากนั้นนำมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการร่อนตัวอย่างผ่านตะแกรง 15 mesh เมื่อทำตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวแล้ว ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของกัญชง 0.4000 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 80% เอทานอลประมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปสกัดสารโดยใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) โดยได้ศึกษากำลังการสั่นสะเทือนของเครื่อง UAE มีดังต่อไปนี้คือ 75 125 และ 200 วัตต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรให้ครบ 40 มิลลิลิตรด้วย 80% เอทานอล นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที ที่ 20 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายเหนือตะกอนไปกรองด้วย syringe filter nylon ขนาด 0.22 µm x 13 mm ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC/DAD ตามสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญทั้ง 5 ชนิด

3.5.3.2 การเตรียมตัวอย่างในการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด

นำตัวอย่างกัญชงมาคั่วให้ละเอียด จากนั้นนำมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการร่อนตัวอย่างผ่านตะแกรง 15 mesh เมื่อทำตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวแล้ว ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของกัญชง 0.4000 กรัมลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 80% เอทานอลประมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปสกัดสารโดยใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) ใช้กำลังการสั่นสะเทือนของเครื่อง UAE 200 วัตต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรให้ครบ 40 มิลลิลิตรด้วย 80% เอทานอล นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที ที่ 20 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายเหนือตะกอนไปกรองด้วย syringe filter nylon ขนาด 0.22 μm x 13 mm ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC/DAD ตามสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญทั้ง 5 ชนิด

3.6 การประเมินผลการทดสอบ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลต่าง ๆ แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) ประเมินความแตกต่างของข้อมูลแต่ละชนิดด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSSTM Version 22.0

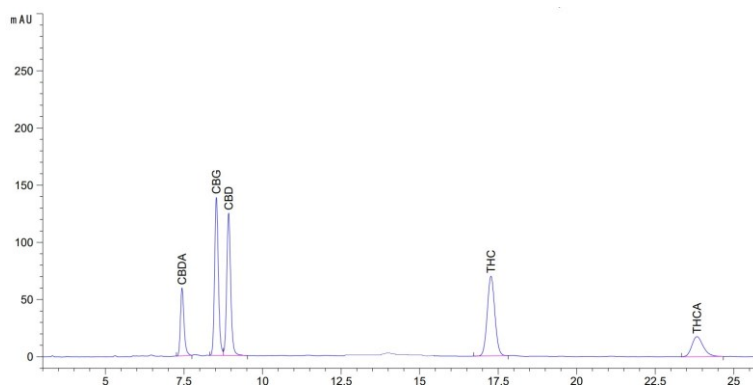
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด

ผลการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase)

จากการศึกษาหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมของสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 5 ชนิด โดยใช้เฟสคงที่คือ คอลัมน์ Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m) วิเคราะห์โดยฉีดสารละลายมาตรฐานแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรในการฉีด 5 ไมโครลิตร ใช้เฟสเคลื่อนที่ระหว่าง 0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตไนไตรล์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส จากการศึกษาหาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ทั้ง 4 อัตราส่วนที่กล่าวไว้ข้างต้น พบว่า การใช้เฟสเคลื่อนที่ 0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตไนไตรล์ที่อัตราส่วน 30:70 %v/v สามารถแยกพีคของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดดังภาพที่ 4.1 และเมื่อพิจารณาค่า Retention time (R_t), Theoretical plates (N), Retention factor (k'), Selectivity factor (α), Resolution factor (R_s) และ Tailing factor (T) ตามเกณฑ์ในการพิจารณามาตรฐานของการทดสอบความเหมาะสมของพารามิเตอร์พื้นฐาน และการควบคุมกระบวนการแยกทางโครมาโทกราฟีของระบบตามงานวิจัยของ Bose 2014 พบว่ามีพีคที่สมมาตร มีการแยกที่ดี ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงขอเลือกเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตไนไตรล์ในอัตราส่วน 30:70 %v/v เป็นเฟสเคลื่อนที่ที่ดีที่สุดในการแยกของสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้งหมด 5 ชนิด แสดงดังตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.1 ผลของการทดสอบพารามิเตอร์พื้นฐานของการแยกทางโครมาโทกราฟีของสารกลุ่ม
แคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (n=10)

สารแคนนาบินอยด์	R_t	N	k'	α	R_s	T
CBDA	7.32±0.04	17,764±122.78	2.90±0.004	-	-	1.22±0.02
CBG	8.30±0.04	20581±103.20	3.42±0.001	1.18±0.0001	4.25±0.004	1.10±0.02
CBD	8.70±0.03	20964±67.58	3.61±0.04	1.06±0.0001	2.44±0.10	1.07±0.02
THC	16.38±0.06	21713±152.25	7.31±0.0001	2.13±0.001	38.24±0.22	1.05±0.01
THCA	22.64±0.19	17289±299.49	10.97±0.03	1.43±0.001	10.96±0.03	1.38±0.02

หมายเหตุ : Retention time (R_t), Theoretical plates (N), Retention factor (k'), Selectivity factor (α), Resolution factor (R_s) และ Tailing factor (T)

จากการศึกษาเฟสเคลื่อนที่โดยทดสอบความเหมาะสมของระบบทางโครมาโทกราฟีสำหรับการแยกดังตารางข้างต้น จะได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด แสดงดังตารางที่ 4.2

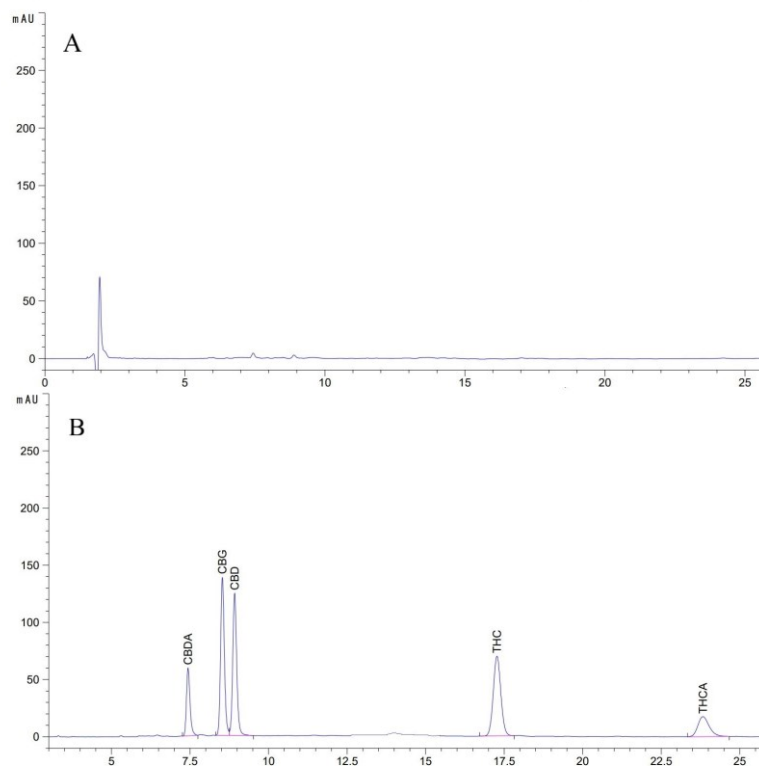
ตารางที่ 4.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด โดยเครื่อง HPLC		
คอลัมน์	Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m)	
เฟสเคลื่อนที่	0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตไนไตรล์ (30:70 %v/v)	
อัตราการไหล	0.8 มิลลิลิตรต่อนาที	
ปริมาตรฉีด	5 ไมโครลิตร	
อุณหภูมิของคอลัมน์	อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส	
เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์	26 นาที	
ความยาวคลื่น (ตัวตรวจวัดแบบ DAD)	210 นาโนเมตร	220 นาโนเมตร
	CBG	CBDA
	CBD	THCA
	THC	

4.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ 5 ชนิด

4.2.1 ผลของความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity)

ผลของความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์แสดงได้จากโครมาโทแกรมในภาพที่ 4.2 พบว่า คอลัมน์ Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของระบบของโครมาโทกราฟีที่พัฒนาขึ้นมา โดยการฉีดสารละลายเบงก์ (Blank) สารมาตรฐานผสมแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเวลาของสารที่ถูกหน่วงในคอลัมน์ (Retention time) ทั้ง 5 ชนิดได้แก่ CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA ประมาณ 7.32, 8.30, 8.70, 16.38 และ 22.64 นาที ตามลำดับ จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงนี้ได้ทำการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมทั้ง 2 โครมาโทแกรม จะเห็นได้ว่า พีคของสารมาตรฐานผสมทั้ง 5 ชนิดไม่ถูกรบกวนจากการวิเคราะห์สารอื่น จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง



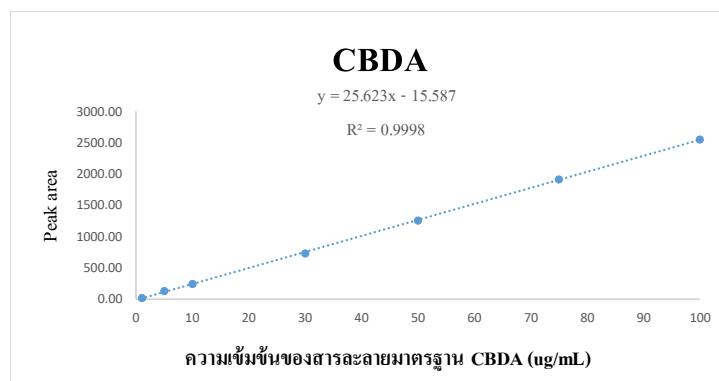
ภาพที่ 4.2 โครมาโทแกรมของเบงก์ (A) และสารละลายมาตรฐานผสมแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2.2 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and range)

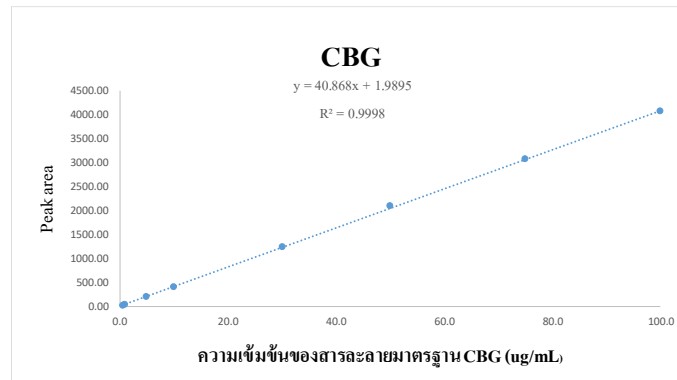
ผลของการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยทดสอบช่วงการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของ CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA ซึ่งการทดลองนี้ได้นำสารมาตรฐานที่เตรียมไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-DAD ถัดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำผลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีค ได้สมการเส้นตรง และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ($r^2 > 0.995$) แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด, ช่วงของความเข้มข้นที่ทดสอบความเป็นเส้นตรง และ r^2

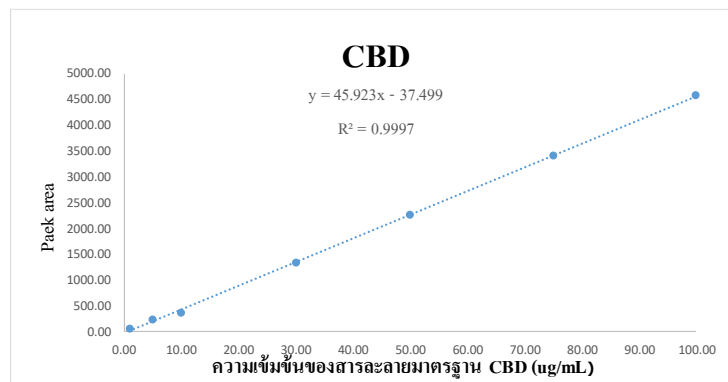
ชื่อสารประกอบ	สมการเส้นตรง	ช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ ($\mu\text{g/mL}$)	r^2
CBDA	$y = 25.62x - 15.59$	0.50-100.00	$r^2 = 0.9998$
CBG	$y = 45.92x - 37.50$	0.50-100.00	$r^2 = 0.9998$
CBD	$y = 40.87x + 1.99$	0.50-100.00	$r^2 = 0.9997$
THC	$y = 47.07x - 16.22$	0.50-100.00	$r^2 = 0.9998$
THCA	$y = 21.71x - 11.04$	0.50-100.00	$r^2 = 0.9998$



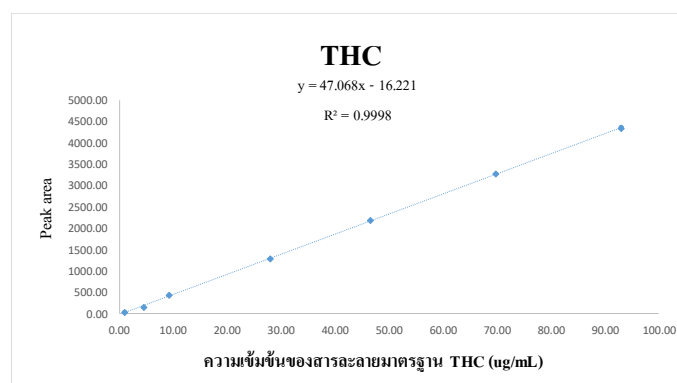
ภาพที่ 4.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBDA (Cannabidiolic Acid) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



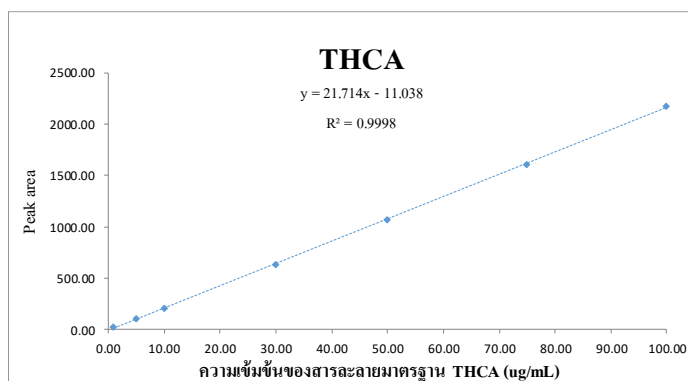
ภาพที่ 4.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBG (Cannabigerol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน CBD (Cannabidiol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน THC (9-Tetrahydrocannabinol) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน THCA (9-Tetrahydrocannabinolic acid) ที่ความเข้มข้น 0.50 – 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2.2 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และ การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

การทดสอบ LOD และ LOQ โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 5 ชนิด 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค และความเข้มข้นไปสร้างกราฟหาค่า จุดตัดที่ได้จาก กราฟ (y-intercept of calibration curve) กับค่าความชันที่ได้จากกราฟ (Slope) แทนในสูตรที่กล่าวไว้ข้างต้น

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่า LOD และ LOQ ของสารมาตรฐานผสมกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดที่ได้จากพิจารณาผลการเส้นตรง

สารประกอบ	LOD	LOQ
	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
CBDA	1.86	6.19
CBG	1.64	5.46
CBD	2.31	7.68
THC	1.64	5.47
THCA	1.80	5.99

4.2.4 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

ผลการทดสอบความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์นี้ ได้ทำการฉีด สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1.50, 30.00 และ 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดทั้งหมด 10 ซ้ำ จากนั้นนำค่าที่ได้มาพิจารณาจากค่าร้อยละการกลับคืน(%Recovery) ต้องอยู่ในเกณฑ์ 70-110%

และค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์นั้นจะพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ต้องไม่เกิน 5 % แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบความเที่ยง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

สารประกอบ	ความเข้มข้นที่เติม ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณที่ตรวจพบ ($\mu\text{g/mL}$)	%RSD	%Recovery
CBDA	1.50	1.5607 $\pm$ 0.04	2.48%	104.05%
	30.00	27.21 $\pm$ 0.18	0.66%	90.71%
	100.00	100.40 $\pm$ 1.34	1.34%	100.40%
CBG	1.50	1.52 $\pm$ 0.018	1.17%	101.49%
	30.00	28.86 $\pm$ 0.13	0.39%	96.22%
	100.00	98.97 $\pm$ 0.52	0.53%	98.98%
CBD	1.50	1.34 $\pm$ 0.015	1.13%	89.43%
	30.00	27.58 $\pm$ 0.16	0.56%	91.94%
	100.00	101.039 $\pm$ 1.35	1.34%	101.04%
THC	1.50	1.50 $\pm$ 0.021	1.40%	100.03%
	30.00	28.27 $\pm$ 0.22	0.75%	94.24%
	100.00	98.13 $\pm$ 1.32	1.34%	98.13%
THCA	1.50	1.63 $\pm$ 0.029	1.76%	101.26%
	30.00	29.83 $\pm$ 0.16	0.52%	99.42%
	100.00	103.71 $\pm$ 0.72	0.69%	103.71%

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติม (Spiked sample) สารละลายมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นตามตารางที่ 4.5 โดยทำการฉีด 10 ซ้ำ พบว่าความแม่นยำที่ประเมินจากร้อยละการกลับคืน (%Recovery) เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับอยู่ในช่วง 90-110 และความเที่ยง (Precision) ที่ประเมินได้ อยู่ในช่วง 0.8-5% ซึ่งถือได้ว่าวิธีนี้มีความแม่นยำและความเที่ยง

4.3 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในตัวอย่างกัญชงหรือผลิตภัณฑ์จากกัญชง

4.3.1 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างการสกัด

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิธีการสกัดด้วยการเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) แบบ probe ที่มีกำลังสั่นสะเทือน 250 วัตต์ ในการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของกัญชง 0.4000 กรัมลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 80% เอทานอลประมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปสกัดสารโดยใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) โดยได้ศึกษากำลังการสั่นสะเทือนของเครื่อง UAE มีดังต่อไปนี้คือ 75 125 และ 200 วัตต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรให้ครบ 40 มิลลิลิตรด้วย 80% เอทานอล นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที ที่ 20 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายเหนือตะกอนไปกรองด้วย syringe filter nylon ขนาด 0.22 μm x 13 mm ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC/DAD ตามสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญทั้ง 5 ชนิด ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลแสดงการศึกษากำลังสั่นสะเทือนที่มีผลต่อการสกัดสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด

กำลังการสั่นสะเทือน (วัตต์)	CBDA (%w/w)	CBG (%w/w)	CBD (%w/w)	THC (%w/w)	THCA (%w/w)
75	7.94 $\pm$ 0.05 ^b	0.07 $\pm$ 0.001 ^c	0.14 $\pm$ 0.01 ^b	0.10 $\pm$ 0.01 ^a	0.31 $\pm$ 0.004 ^c
125	7.99 $\pm$ 0.02 ^b	0.14 $\pm$ 0.001 ^b	0.14 $\pm$ 0.01 ^c	0.11 $\pm$ 0.01 ^a	0.32 $\pm$ 0.01 ^b
200	9.18 $\pm$ 0.10 ^a	0.25 $\pm$ 0.01 ^a	0.16 $\pm$ 0.01 ^a	0.10 $\pm$ 0.01 ^a	0.36 $\pm$ 0.01 ^a

หมายเหตุ : จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (n=3) ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันถ้าอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, P > 0.05)

จากการทดลองการศึกษากำลังสั่นสะเทือนที่เหมาะสมในการสกัดสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด พบว่ากำลังสั่นสะเทือนของเครื่อง UEA ที่ 75 และ 125 วัตต์มีผลต่อปริมาณสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ซึ่งมีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ แต่ที่กำลังการสั่นสะเทือนของเครื่อง UAE ที่ 200 วัตต์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติดังตารางที่ 4.6 ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอเลือกกำลังการสั่นสะเทือนของเครื่อง UAE ที่ 200 วัตต์ เป็นกำลังสั่นสะเทือนที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด

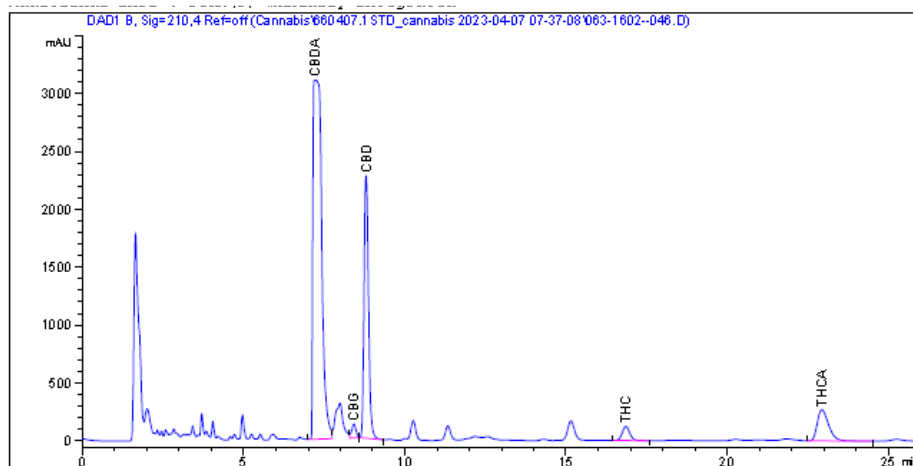
4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดในตัวอย่างกัญชง

ตัวอย่างที่ได้นำมาวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้คือ ช่อดอกกัญชงชนิดต่าง ๆ ทั้ง 5 ชนิด ได้รับมาจาก คุณกอแก้ว วชิรมน สถาบันเศรษฐกิจพอเพียงเครือข่ายเกษตรอินทรีย์วิถีไทย อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.7

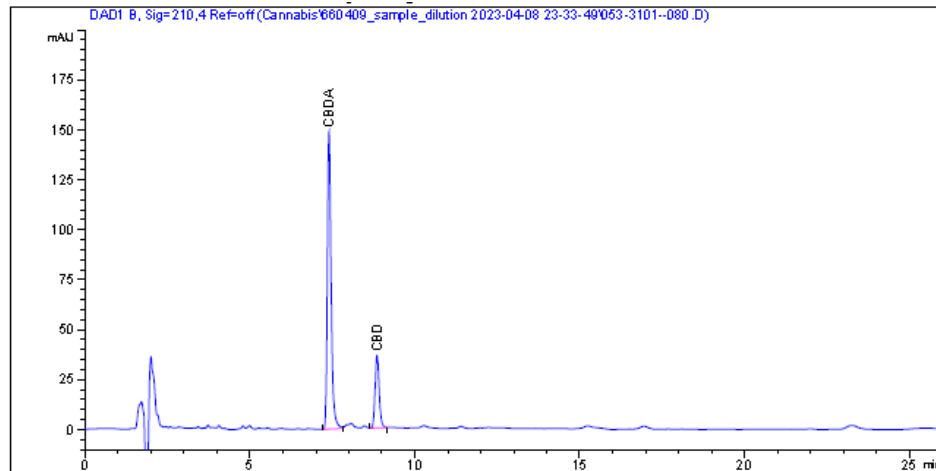
ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบปริมาณสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด (CBDA, CBG, CBD, THC และ THCA) ในช่อดอกกัญชง 5 ตัวอย่าง

ลำดับ	ตัวอย่างช่อดอกกัญชง	CBDA (%w/w)	CBG (%w/w)	CBD (%w/w)	THC (%w/w)	THCA (%w/w)
Hemp1	Baox	7.07±0.02 ^d	0.08±0.001 ^c	3.16±0.07 ^b	0.37±0.02 ^{bc}	0.21±0.002 ^c
Hemp2	Sikiyou	13.60±0.24 ^b	0.03±0.000 ^c	1.56±0.04 ^d	0.09±0.00 ^d	0.73±0.09 ^a
Hemp3	Sour suver haze	13.95±0.01 ^a	0.10±0.003 ^b	2.93±0.02 ^c	0.33±0.03 ^c	0.67±0.01 ^a
Hemp4	Auto blues	4.79±0.03 ^c	0.12±0.000 ^a	11.09±0.06 ^a	0.74±0.02 ^a	0.05±0.001 ^d
Hemp5	cherry wine	8.40±0.02 ^c	0.08±0.001 ^d	2.83±0.09 ^c	0.34±0.02 ^b	0.36±0.03 ^b

หมายเหตุ : จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD (n=3) ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันถ้าอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, P > 0.05)



ภาพที่ 4.8 โครมาโทแกรมของปริมาณสารแคนนาบินอยด์ ในตัวอย่างที่ไม่มีการเจือจางของกัญชง สายพันธุ์ Sikiyou



ภาพที่ 4.9 โครมาโทแกรมของปริมาณสารแคนนาบินอยด์ ในตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า ของกัญชงสายพันธุ์ Sikiyou

การคำนวณปริมาณสารในหน่วย g/100g

$$\frac{\text{กรัม}}{100 \text{ กรัม}} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตร}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times 10000} \times \text{Dilution factor}$$

โดยที่

ความเข้มข้นที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, $\mu\text{g/mL}$)

ปริมาตรสุดท้ายสำหรับการเตรียมตัวอย่าง (มิลลิลิตร, mL)

น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม, g)

อัตราส่วนการเจือจาง (Dilution factor) (ปริมาตรสุดท้าย/ปริมาตรตัวอย่าง)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ แสดงดังต่อไปนี้

สถานะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิด โดยเครื่อง HPLC		
คอลัมน์	Bolimate LC-C18 (4.6 x 150 mm; id 2.7 μ m)	
เฟสเคลื่อนที่	0.1% กรดฟอร์มิกต่ออะซิโตนไตรล์ (30:70 %v/v)	
อัตราการไหล	0.8 มิลลิลิตรต่อนาที	
ปริมาตรฉีด	5 ไมโครลิตร	
อุณหภูมิของคอลัมน์	อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส	
เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์	26 นาที	
ความยาวคลื่น (ตัวตรวจวัดแบบ DAD)	210 นาโนเมตร	220 นาโนเมตร
	CBG	CBDA
	CBD	THCA
	THC	

และจากตารางนี้ได้นำมาทดสอบความใช้ได้ของวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์สารสำคัญทั้ง 5 ชนิดพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.50-100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารทั้ง 5 ชนิดมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจมากกว่า 0.995 ค่าความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีที่พิจารณาอยู่ที่ 90 -110 % และ%RSD ไม่เกิน 5 ถือว่าวิธีนี้มีความแม่นยำ ถูกต้อง มีความจำเพาะเจาะจง สำหรับการพัฒนาวีธีการสกัด พบว่าที่กำลังการสันสะเทือนของเครื่อง UAE ที่ 200 วัตต์ สั่นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถสกัดปริมาณสารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดได้ดี จากนั้นได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์สารแคนนาบินอยด์ทั้ง 5 ชนิดพบว่า ซ้อคอกกัญชง Sour suver haze มีปริมาณสาร CBDA เท่ากับ 13.95 %w/w ซ้อคอก Auto blues มีปริมาณสาร CBG, CBD และ THC เท่ากับ 0.12, 11.09 และ 0.74 %w/w ตามลำดับ ส่วนซ้อคอก Sikiyou จะมีปริมาณสาร THCA เท่ากับ 0.73 %w/w ตามลำดับ ซึ่งวิธีนี้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ของศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ประกอบการหรือชุมชน เพื่อเพิ่มความมั่นใจมากยิ่งขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารแคนนาบินอยด์มากกว่า 5 ชนิด เช่น เพิ่มเติม CBC และ CBGA
2. ควรเชื่อมโยงกับโครงการวิจัยย่อยอื่น ๆ เพื่อศึกษาคุณภาพของหลักของการปลูกกัญชงที่เหมาะสม
3. ในงานวิจัยต่อไปจะนำไปพัฒนาและศึกษาปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในผลิตภัณฑ์อื่นที่มีขายในท้องตลาด เช่น พิมเสนน้ำ ชา ยาหม่อง สบู่ เป็นต้น

บรรณานุกรม

- กรองแก้ว ทิพย์ศักดิ์. 2562. “บทความ: ‘เฮมพ์’ พืชไม่ธรรมดา มีคุณค่ามาจากสารสกัด และเส้นใย.” *ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง* 23(3):1–10.
- กระทรวงสาธารณสุข. 2565. “ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารสกัดแคนนาบิไดรอลเป็นส่วนประกอบ.” Retrieved (<https://www.nfi.or.th/hemp/assets/Hemp/1/9>).
- ทรงเมท สังข์น้อย and บุญนิศา พงศ์มณี. 2564. “ได้เกษตร.” *วารสารผลงานวิจัยด้านการผลิตพืช และให้บริการวิชาการเกษตร* (9):13–18.
- ทิพย์ จุลหวิ พอร์จูน, ธนารักษ์ มั่งมีชัย, and ลลิตา ชมเพ็ญ. 2562. “มารู้จัก กัญชง-กัญชา กันเถอะ.” Retrieved (<https://www.tistr.or.th/tistrblog/wp-content/uploads/2021/03/Cannabis-sativa-L.pdf>).
- ธนวัฒน์ ทองจีน, สรเพชร มาสุด, พิธีธรรม เทียมเทียบรัตน์, สายันท์ เรืองเขตร, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง, พิเชฐ บัญญัติ, ศิริวรรณ ชัยสมบูรณ์พันธ์, and อัสวชัย ช่วยพรหม. 2021. “การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ในใบกัญชาด้วยวิธี Ultra High Performance Liquid Chromatography.” *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์* 63(3):505–23.
- บั้งอร ศรีพานิชกุลชัย. 2562. “การใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์.” *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน* 15(4):1–26.
- สกุลรัตน์ สมสันติสุข, เสาวณีย์ วาจาสิทธิ์, สุวิมล หมวดหมีะ, กัญญารัตน์ เชื้อกุลชาติ, วิทวัส วังแก้ว หิรัญ, ทองสุข ปายะนันท์, and อัจฉริ อินแก้ว. 2021. “การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในน้ำมันมะพร้าว โดยเทคนิค LC-MS/MS.” *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์* 63(3):556–70.
- สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง. 2564. “สารสกัดกัญชง (CBD Hemp Oil).” Retrieved August 2, 2023 (<https://www.hrdi.or.th/Articles/Detail/1478>).
- สรเพชร มาสุด, ธนวัฒน์ ทองจีน, กรวิชัย สมคิด, ภาณุวิชญ์ พูลทรัพย์, ปภาวดี สุนันทบุตร, กชพร โชติมนโนธรรม, ทิพวรรณ ปรักมานนท์, ราตรี พระนคร, วรรณวิภา พินระ, and พิเชฐ บัญญัติ. 2564. “ปริมาณสารแคนนาบินอยด์ในระยะเวลาเจริญเติบโต ที่แตกต่างกันของใบกัญชาพันธุ์ไทย.” *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์* 63(3):524–40.
- สทภูมิ ศรีสุมะ. 2565. “สังคมไทยทางไปของกัญชา.”
- Agarwal, Charu, Katalin Máthé, Tamás Hofmann, and Levente Csóka. 2018. “Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa L. Optimized by Response

- Surface Methodology.” *Journal of Food Science* 83(3):700–710. doi: 10.1111/1750-3841.14075.
- Ambach, Lars, Franziska Penitschka, Alain Broillet, Stefan König, Wolfgang Weinmann, and Werner Bernhard. 2014. “Simultaneous Quantification of Delta-9-THC, THC-Acid A, CBN and CBD in Seized Drugs Using HPLC-DAD.” *Forensic Science International* 243:107–11. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.06.008.
- Bonini, Sara Anna, Marika Premoli, Simone Tambaro, Amit Kumar, Giuseppina Maccarinelli, Maurizio Memo, and Andrea Mastinu. 2018. “Cannabis Sativa: A Comprehensive Ethnopharmacological Review of a Medicinal Plant with a Long History.” *Journal of Ethnopharmacology* 227:300–315. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.004.
- Bose, Anirbandeep. 2014. “HPLC Calibration Process Parameters in Terms of System Suitability Test.”
- Burnier, Céline, Pierre Esseiva, and Christophe Roussel. 2019. “Quantification of THC in Cannabis Plants by Fast-HPLC-DAD: A Promising Method for Routine Analyses.” *Talanta* 192:135–41. doi: 10.1016/j.talanta.2018.09.012.
- Casiraghi, Antonella, Andrea Gentile, Francesca Selmin, Chiara Grazia Milena Gennari, Eleonora Casagni, Gabriella Roda, Gloria Pallotti, Pierangela Rovellini, and Paola Minghetti. 2022. “Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa for Medicinal Purpose.” *Pharmaceutics* 14(12):2718. doi: 10.3390/pharmaceutics14122718.
- Hädener, Marianne, Stefan König, and Wolfgang Weinmann. 2019. “Quantitative Determination of CBD and THC and Their Acid Precursors in Confiscated Cannabis Samples by HPLC-DAD.” *Forensic Science International* 299:142–50. doi: 10.1016/j.forsciint.2019.03.046.
- Jastrzęb, Anna, Iwona Jarocka-Karpowicz, and Elżbieta Skrzydlewska. 2022. “The Origin and Biomedical Relevance of Cannabigerol.” *International Journal of Molecular Sciences* 23(14):7929. doi: 10.3390/ijms23147929.
- Jin, Dan, Shengxi Jin, Yang Yu, Colin Lee, and Jie Chen. 2017. “Classification of Cannabis Cultivars Marketed in Canada for Medical Purposes by Quantification of Cannabinoids and Terpenes Using HPLC-DAD and GC-MS.” *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques* 08. doi: 10.4172/2155-9872.1000349.
- Johnson Renee. 2019. “Defining Hemp: A Fact Sheet.” *Congressional Research Service*.

- Madej, Katarzyna, Aleksandra Chmielek, Kamila Szlachta, and Wojciech Piekoszewski. 2021. "HPLC-DAD Analysis of Hemp Oil Supplements for Determination of Four Cannabinoids: Cannabidiol, Cannabidiolic Acid, Cannabinol and Delta 9-Tetrahydrocannabinol." *Separations* 8(12):227. doi: 10.3390/separations8120227.
- Pathompak, Pathamaporn, Natawat Chankana, Nirun Vipunngun, and Somporn Phonkrathok. 2022. "HPLC Method Development and Validation for Quantitation of CBD and THC in Suk-SaiYas Pills." *Journal of Current Science and Technology* 12(3):538–46.
- Protti, Michele, Virginia Brighenti, Maria Rita Battaglia, Lisa Anceschi, Federica Pellati, and Laura Mercolini. 2019. "Cannabinoids from Cannabis Sativa L.: A New Tool Based on HPLC–DAD–MS/MS for a Rational Use in Medicinal Chemistry." *ACS Medicinal Chemistry Letters* 10(4):539–44. doi: 10.1021/acsmmedchemlett.8b00571.

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวเสาวภา ชุมณี
ชื่อ – นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Saowapa Chumanee
2. ตำแหน่งปัจจุบัน รองคณบดีฝ่ายศูนย์วิทยาศาสตร์
และอาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาเคมี
3. ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 83 หมู่ 11 ถนนสระบุรี-หล่มสัก ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 1508
โทรสาร - โทรศัพท์มือถือ 08-8272-3349 e-mail : Saowapa@pcru.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

ปริญญา	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จ
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	2531
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2541
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2550
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
เคมีวิเคราะห์ เคมีสิ่งทอ และเคมีทั่วไป
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

พ.ศ. 2552 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราเบน และโพรพิลพาราเบน) ในอาหาร และเครื่องสำอาง โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2552 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร ในปุ๋ยน้ำชีวภาพและปุ๋ยอินทรีย์บ้านเม็ด ของกลุ่มเกษตรอินทรีย์และชีวภาพ
ได้รับทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการ IRPUS ประจำปีงบประมาณ เลขที่โครงการ I152C02001

พ.ศ. 2553 ศึกษาผลกระทบจากการใช้ปุ๋ยในทางเกษตรกรรม ที่มีต่อคุณภาพน้ำและดินในพื้นที่ลุ่มน้ำป่าสักตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2554 การศึกษากระบวนการผลิตและคุณภาพปุ๋ยน้ำหมักมูลสุกรของเกษตรกรอินทรีย์ ตำบลกองทุล อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2555 การศึกษาการย้อมสีผ้าจีวรด้วยสีธรรมชาติ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พ.ศ. 2562 การศึกษาคุณค่าและการนำไปใช้ประโยชน์ของพืชหมัศจรรย์ "ถั่วดาวอินคา" เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์และพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนบ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2565 การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างทางการเกษตร ให้มีความถูกต้องและแม่นยำ เพื่อรองรับมาตรฐานเกษตรปลอดภัย ได้รับทุน กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุน ววน.) ประเภท Fundamental Fund

7.2 ผู้ร่วมวิจัย

พ.ศ. 2558 ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร่ลิ้มผิว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2562 การศึกษาการสกัดน้ำมัน ปริมาณ คาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากกากกาแฟในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2566 การผลิตกัญชงพืชทางเลือกของเกษตรกรจังหวัดเพชรบูรณ์เพื่อประโยชน์ทางอุตสาหกรรมด้วยนวัตกรรม โครงข่ายย่อยที่ 4 เรื่อง การพัฒนาวิธีการทดสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชงและผลิตภัณฑ์จากกัญชง (Method Development for Quantitative Testing of Hemp active substance and Hemp Products) ได้รับทุน กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุน ววน.) ประเภท Fundamental Fund

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน

1. วารสารนานาชาติ

- 1) P. Sutthivaiyakit, S. Achatz, J. Linlelmann, T. Aungpradit, R. Chanwirat, S. Chumanee, and A. Kettrup. (2005). LC-MS/MS method for the confirmatory determination of aromatic amines and its application in textile analysis. **Anal. Bioanal. Chem.**, 381: 268-276.
- 2) S. Chumanee, S. Suttivaiyakit, and P. Suttivaiyakit. (2009). New Reagent for Trace Determination of Protein-Bound Metabolites of Nitrofurans in Shrimp Using Liquid Chromatography with Diode Array Detector, **J. Agric. Food Chem.**, 57, 1752–1759.
- 3) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., Phasai, K., and Sricheewin, C. (2017). Effect of Gamma Irradiation on 2-Acetyl-1-pyrroline Content, GABA Content and Volatile Compounds of Germinated Rice (Thai Upland Rice). **Plants**, 6(2), 18.
- 4) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., and Winyakul, C. (2017). Effect of gamma irradiation on the 2-acetyl-1-pyrroline content during growth of Thai black glutinous rice (Upland rice). **Australian Journal of Crop Science**, 11(5), 631.
- 5) Sansenya, S., Hua, Y., and Chumanee, S. (2018). The Correlation between 2-Acetyl-1-pyrroline Content, Biological Compounds and Molecular Characterization to the Aroma Intensities of Thai Local Rice. **Journal of oleo science**, 67 (7), 893-904.
- 6) Sansenya, S., Hua, Y., Chumanee, S., and Sricheewin, C. (2019) The Combination Effect of Gamma Irradiation and Salt Concentration on 2-acetyl-1-pyrroline Content, Proline Content and Growth of Thai Fragrant Rice (KDML 105). **Oriental Journal of chemistry**, 35(3), 938-946.
- 7) Sansenya, S., Payaka, A., Wannasut, W., Hua, Y., and Chumanee, S. (2020) Biological activity of rice extract and the inhibition potential of rice extract, rice volatile compounds, and their combination against α -glucosidase, α -amylase, and tyrosinase. **International Journal of Food Science & Technology**.
- 8) Panpraneecharoen, S., and Chumanee, S. (2020). Optimization of the Oil Extraction, Study the Chemical and Physical Properties of Arabica Spent Coffee Grounds. **Science & Technology Asia**, 25(4), 12-19.

9) Sansenya, S., Payaka, A., Wannasut, W., Hua, Y., and Chumanee, S. (2021). Biological activity of rice extract and the inhibition potential of rice extract, rice volatile compounds and their combination against α -glucosidase, α -amylase and tyrosinase. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(4), 1865-1876.

10) Sornkhwan, T., Chumanee, S., and Sansenya, S. (2022). The Inhibition Potential of Thai-colored rice extract against diabetes-related enzymes and melanin biosynthesis-related-enzymes. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 14(2). 155-164.

11) Panpraneecharoen, S., and Chumanee, S. (2022). Comparison of Tocopherol Contents in 13 Cold-Pressed Vegetable Oils Extracted from the Mini Screw Press Model T3 by RP-HPLC/FLD. *Science & Technology Asia*, 27(3), 27-36.

2. วารสารระดับชาติ

1) Chumanee, S., & Khoomsab, R. (2020). การหาปริมาณ สารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุ จากใบถั่วดาวอินคา. *PSRU Journal of Science and Technology*, 5(2), 98-113.

2) รุจิรา คุ่ม ทรัพย์ และเสาวภา ชุมณี. (2566). โครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูงพร้อม กับเครื่องตรวจวัดไดโอดอาร์เรย์ สำหรับการตรวจวัดคัดกรองสารกำจัดแมลงกลุ่ม คาร์บาเมตที่ตกค้างใน ตัวอย่างผักด้วยการสกัดแบบแคชเชอร์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มร ช.*, 8(1), 28-37.

3) อนุกุล คมแก้ว กาญจน์ คุ่มทรัพย์ เสาวภา ชุมณี และ นุชจรี สิงห์พันธ์. (2566). ผลของสาร กระตุ้นต่อการผลิตสารอะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง. *Journal of Vocational Institute of Agriculture (วารสารสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร)*, 7(1), 1-11.