รายงานการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง

Development of cosmetic and food products from Hemp

ศุมาลิณ ดีจันทร์ และคณะ

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2566

รหัสโครงการสัญญา 182092

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง

Development of cosmetic and food products from Hemp

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

โครงการวิจัยย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง

โครงการวิจัยย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

ทุนอุดหนุนงานวิจัย พัฒนาวิทยาศาสตร์วิจัย และนวัตกรรม
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2566

ชื่องานวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง
Development of cosmetic and food products from Hemp
ผู้วิจัย อาจารย์ศุมาลิณ ดีจันทร์
ผู้ร่วมวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์.สุภาพร วิสุงเร
อาจารย์ ดร.กัญญารัตน์ เดือนหงาย
อาจารย์นวรัตน์ มีชัย
อาจารย์ผกามาศ ปะระทัง
สาขาวิชา การแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ **ปีเสร็จวิจัย** 2567

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 กัญชง เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Cannabaceae รู้จักกันในชื่อ กัญชง (Hemp) เป็นพืชที่ปลูกเพื่อนำเส้นใยจากลำต้นไปใช้ในอุตสาหกรรมถักทอ เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่ได้นำใบกัญชงมาใช้ประโยชน์ ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำใบกัญชงซึ่งเป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มาสกัดสารสำคัญ ซึ่งใช้วิธีทางเคมี (Ethanolic Extract) และนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ของสารสกัดจากใบกัญชงในการยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ ผลการวิจัยพบว่า ร้อยละของผลผลิต (% yield) จากการสกัดใบกัญชงมีค่าเท่ากับร้อยละ 20 จากนั้นนำสารสกัดใบกัญชงมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Disc Diffusion ผลพบว่าตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin ในปริมาณ 0.015 มิลลิกรัม ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 24.01 $\pm$ 0.81 มิลลิเมตร และทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อเทียบกับค่า MIC ของยามาตรฐาน Erythromycin ซึ่งได้เท่ากับ 0.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกัญชง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุได้ ดังนั้นการใช้สารสกัดจากใบกัญชง ไม่สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันฟันผุ แต่อาจสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาสีฟันสมุนไพรต่อไป โดยทำการศึกษาต่อยอดด้านฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การต้านการอักเสบ

ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาสารสกัดจากใบกัญชงต่อ เพื่อนำมาพัฒนาเป็นยาสีฟันที่ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบต่อไป

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชง วัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง มีวัตถุประสงค์เพื่อ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชงและพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง จากกัญชง สายพันธุ์ Siskiyou gold โดยใช้ยอด ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการวิจัยพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด, วิธี ABTS ใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด และFRAP ใบอ่อน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ พบใบเพสลาด มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 0.5491±0.0034 มากที่สุด และใบอ่อน มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 1.2226±0.0054 มากที่สุด การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง โดยใช้ส่วนของยอด ใบอ่อน และใบเพสลาด มาพัฒนากรรมวิธีการผลิต ควบคุมปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งพบว่า กรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง มีความชื้นร้อยละ 8.47 น้อยที่สุด ดังนั้น การใช้ใบกัญชง สามารถใช้ใบได้ทุกส่วน ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบกัญชงที่เหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชงและการตัดตกแต่งกิ่ง ก่อให้เกิดรายได้กับเกษตรกรต่อไป

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันเมล็ดกัญชงและพัฒนาเป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้า โดยนำน้ำมันเมล็ดกัญชงที่ซื้อจากบริษัทไทยสติ๊คเฮิร์บ จำกัด มาตรวจวิเคราะห์ พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิด เช่น กรดปาล์มมิติก กรดสเตียริก กรดลิโนเลอิก กรดโอเลอิก เป็นต้น ผลการวิเคราะห์วิตามินอี (Tocopherol) พบโทโค-ฟีรอลชนิดแอลฟา (α) ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระ ลดการเกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร เมื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้า ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบมีคุณสมบัติในการป้องกันริ้วรอยก่อนวัย ทำให้ผิวชุ่มชื้น กระจ่างใส การตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ไม่พบเชื้อที่ก่อโรค ตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 6.11 ซึ่งเป็นค่าที่มีความเหมาะสม ดังนั้น การนำน้ำมันเมล็ดกัญชงมาเป็นส่วนผสมในการผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าหรือเครื่องสำอางเป็นส่วนผสมที่มีคุณสมบัติเหมาะสม งานวิจัยนี้จึงสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากน้ำมันเมล็ดกัญชง เป็นการต่อยอดผลผลิตทางการเกษตรในเชิงพาณิชย์ เพิ่มมูลค่าแก่ผลิตภัณฑ์และเป็นแนวทางขับเคลื่อนการใช้พืชสมุนไพรกัญชง ให้เกิดประโยชน์ในมิติที่หลากหลายต่อไป

โครงการวิจัยย่อยที่ 4 งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์ม โดยการทำการเตรียมสารสกัดจากใบกัญชงหมักด้วย 95% เอทานอล ปริมาณ 1500 มิลลิลิตร (1:10 w/v) และใช้เครื่อง Rotary Evaporator ในการแยก 95% เอทานอลออกจากตัวอย่าง ซึ่งจะได้สารลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ร้อยละของสารที่สกัดได้โดยสารสกัดชั่งน้ำหนักได้ 18 กรัม คำนวณเป็นร้อยละได้เท่ากับ ร้อยละ 12 ของน้ำหนักผงใบกัญชง ในสาร

สกัดจากใบกัญชงที่สกัดได้มีปริมาณ THC อยู่ที่ 2.859 กรัม/กิโลกรัม ทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยนำสาร DPPH มา 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยร้อยละ 99.9 แอบโซลูท เอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้โทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.0000, 0.0004, 0.0011, 0.0021, 0.0043 และ 0.0086 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรพบว่ามีปริมาณของ Total Antioxidant อยู่ที่ 130.1734 มิลลิกรัมต่อโทรลอกซ์/100 กรัม มีปริมาณ Vitamin E (**α**-Tocopherol) อยู่ที่ 0.02 มิลลิกรัม/100กรัม ซึ่งผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มที่ได้เป็นเนื้อลิปบาล์มสีเขียว มีความแข็งที่ดี มีความชุ่มชื้น มีกลิ่นอ่อน ๆของสารสกัดจากกัญชง การทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Clostridium* spp. , *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์ม และผลการทดสอบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราจากผลการทดสอบพบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราน้อยกว่า 10 ซีเอฟยู/กรัม (< 10)

โครงการวิจัยย่อยที่ 5 ในปัจจุบันสถานการณ์ของสังคมให้ความสนใจเกี่ยวกับพืชกัญชง (Hemp) เป็นอย่างมาก เนื่องจากกัญชงเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ที่ได้มีประกาศจากกระทรวงสาธารณสุข และในปี พ.ศ. 2564–2565 ได้ออกกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงเกี่ยวกับกัญชาและกัญชง 4 ฉบับ เพื่อให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ รวมทั้งนำส่วนต่าง ๆ ของพืชกัญชาและกัญชงมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง และนำมาพัฒนาเป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง ซึ่งใบกัญชงที่ใช้ในการวิจัยเป็นส่วนเหลือใช้จากการปลูกกัญชงของกลุ่มวิสาหกิจชุมชน โดยนำใบสดมาผึ่งลมให้แห้งนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญด้วยเอทานอล (Ethanol extract) และตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดใบกัญชงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ร้อยละ 38.39±0.63 โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (EC_{50}) อยู่ที่ 2.239 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าในสารสกัดใบกัญชง 1 มิลลิกรัม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ 22.19±1.485 ไมโครกรัม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกัญชง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และเหมาะสมที่จะนำพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณ เพิ่มการต้านอนุมูลอิสระในการปกป้องผิว และช่วยเพิ่มมูลค่าเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรของกัญชง และสามารถเป็นต้นแบบในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ได้อย่างหลากหลายมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: กัญชง, เครื่องสำอาง, ชา, ผลิตภัณฑ์จากกัญชง, วัสดุเหลือใช้

Research Title	Development of cosmetic and food products from Hemp
Researcher	Miss Sumalin Deechan
Co-researcher	Assistant Professor Supaporn Wisungre
	Dr. Kunyarat Duenngai
	Miss Nawarat Meechai
	Miss Phakamas Paratung
Department	Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology
	Phetchabun Rajabhat University **Year** 2024

Abstract

Sub Project 1: Hemp, a herbal plant belonging to the Cannabaceae family, is primarily cultivated for its fibers derived from the stems, commonly used in the weaving industry. Typically, hemp leaves are overlooked by most Agriculturists and treated as agricultural waste. This study aims to explore the potential of utilizing hemp leaves as a valuable resource by using a chemical method (Ethanolic Extract) to extract their essence. The focus is on assessing the inhibitory effect of hemp leaf extract on Streptococcus mutans, a bacterium known for causing tooth decay. The research findings indicate that the percentage yield (% yield) from the extraction process was 20 percent. Subsequent analysis of the inhibitory effect on S. mutans bacteria, using the Disc Diffusion method, revealed that the hemp leaf extract exhibited no activity in inhibiting S. mutans bacteria when compared to the standard antibacterial drug Erythromycin at a concentration of 0.015 mg, which had a diameter of 24.01 $\pm$ 0.81 mm. Further investigation was conducted to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of hemp leaf extracts against S. mutans. Unfortunately, the study did not identify the MIC of hemp leaf extracts, in contrast to the MIC of the standard drug Erythromycin, which was determined to be 0.39 micrograms per milliliter. This suggests that hemp leaf extract may not effectively inhibit the growth of bacteria associated with tooth decay. Consequently, while the use of hemp leaf extract may not be suitable for developing a tooth decay prevention product, it holds potential for herbal toothpaste development. Future research should delve into exploring the

antioxidant and anti-inflammatory properties of hemp leaf extract to ascertain its viability for toothpaste formulations with additional health benefits.

Sub Project 2: Development of hemp tea product from hemp leaf, waste material from hemp fiber aims to test the antioxidant activity of hemp leaf and develop a prototype of hemp leaf tea product from the Siskiyou gold strain of hemp by using shoot, young, fully expand and mature leaf to test. The results showed that the antioxidant capacity of the DPPH method of mature leaf had the highest IC_{50} value at 2.28 mg/ml, ABTS method of mature leaf had the highest IC50 value at 0.19 mg/ml, and young leaf FRAP had the highest IC_{50} value at 0.19 mg/ml. The analysis of phenolic and flavonoid content, fully expand leaf were found to have the most phenolic content at 0.5491±0.0034 and young leaf had the highest flavonoids at 1.2226±0.0054. The development of hemp leaf tea product by using the shoot, young leaf and fully expand leaf to develop a production method that controls the humidity content not to exceed 10 percent, it was found that the oolong tea production method had a humidity content at 8.47 percent, which is the least. Therefore, when using hemp leaf, all parts of the leaf can be used. This study increases the value of hemp leaf that are left over from making hemp fiber and cutting branches. It is a way to generate income for farmers in the future.

Sub Project 3: The objective of this research aims to study the properties of hemp seed oil and develop it as a prototype of wrinkle fading product. Hemp seed oil purchased from Thai Stick Herb Co., Ltd. was analyzed and found to contain several fatty acids such as Palmitic acid, Stearic acid, Linoleic acid, Oleic acid, etc. Analysis of vitamin E (Tocopherol) found alpha tocopherol (α), which has the ability to protect the skin from free radicals, reduces premature aging. When developing wrinkle fading product, a prototype product has the properties of preventing premature aging, keeping the skin moisturized and radiant. Analysis of the prototype product did not detect pathogens. The sample has an average pH of 6.11, which is an appropriate value. The use of hemp seed oil as an ingredient in wrinkle fading product or cosmetics is a qualified ingredient. This study therefore supports the utilization of hemp seed oil as an extension of commercial agricultural production, add value to the product and

be a guideline to drive the use of hemp medicinal plant for benefits in various dimensions.

Sub Project 4: The aim of this study is to develop lip care products in the form of lip balm. We achieved this by extracting compounds from hemp leaves through fermentation with 95% ethanol in a 1500 ml volume (1:10 w/v). A Rotary Evaporator was then employed to separate the 95% ethanol from the sample, resulting in a dark green, viscous liquid. The extracted substances, weighing 18 grams, account for 12% of the hemp leaf powder's weight.

Within the hemp leaf extract, the quantity of THC measured 2.859 grams/kg. Antioxidant levels were assessed using the DPPH assay, with 1 mg of DPPH dissolved in 99.9% absolute ethanol (25 ml volume). Trolox served as a standard at concentrations of 0.0000, 0.0004, 0.0011, 0.0021, 0.0043, and 0.0086 mg/ml. By adding 20 microliters and 10 microliters of DPPH solution, thoroughly mixing, and allowing it to stand in the dark for 30 minutes, light absorbance was measured with a spectrophotometer at 515 nm. Total Antioxidant content was determined as 130.1734 milligrams per trolox/100 grams, while the Vitamin E (**α**-Tocopherol) content was found to be 0.02 milligrams/100 grams.

The resulting lip care product, presented as a green-textured lip balm, exhibits commendable hardness and moisture retention, accompanied by a subtle hemp extract fragrance. Pathogenic microorganism tests for Clostridium spp., Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus yielded negative results. Bacterial and yeast/mold counts were less than 10 CFU/gram (< 10) in the lip balm, indicating a safe and hygienic product.

Sub Project 5: Currently, there is considerable societal interest in hemp plants, as they have been recognized as a novel economic crop by the Ministry of Public Health. In the years 2021–2022, the ministry has issued regulations and announcements addressing four aspects of marijuana and hemp use, emphasizing their potential medical benefits and commercial applications. This research focuses on assessing the antioxidant activity of hemp leaves and subsequently developing a prototype skincare lotion using hemp leaf extract. The hemp leaves utilized in this study are sourced from the remnants of a community enterprise group's hemp

cultivation. Following the air-drying and fine grinding of fresh leaves, the extraction of vital substances is carried out using ethanol (Ethanol extract). The antioxidant activity is evaluated using the DPPH method. Results indicate that hemp leaf extract demonstrates an antioxidant capacity of 38.39±0.63% at a concentration of 1 mg/mL, with an EC_{50} of 2.239 mg/mL. Additionally, the FRAP method reveals that 1 mg of hemp leaf extract contains antioxidants equivalent to 22.19±1.485 micrograms, underscoring its antioxidant properties. This study suggests that hemp leaf extract exhibits promise for further development as a prototype skincare lotion product, aiming to enhance skin protection through increased antioxidants. Moreover, this initiative holds the potential to add value to hemp agricultural waste and serves as a prototype for the creation of diverse products.

Keywords: Hemp, cosmetics, tea, Hemp products, waste material

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านเป็นอย่างสูง ที่ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำให้แก่ผู้วิจัย และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ทุนอุดหนุนงานวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ภายใต้แผนงานยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ (รหัสโครงการสัญญา 182092) มา ณ ที่นี้

ศุมาลิณ ดีจันทร์ และคณะ

มีนาคม 2567

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ง
กิตติกรรมประกาศ		ซ
สารบัญ		ฌ
สารบัญตาราง		ฎ
สารบัญภาพ		ฏ
บทที่ 1	บทนำ	1
	1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
	2.1 กัญชง	5
	2.2 เครื่องสำอาง	8
	2.3 ชาสมุนไพร	9
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย	11
	3.1 โครงการวิจัยย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง	11
	3.2 โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง	22
	3.3 โครงการวิจัยย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง	28
	3.4 โครงการวิจัยย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง	37
	3.5 โครงการวิจัยย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง	48
บทที่ 4	ผลการวิจัย	66
	4.1 ผลการวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง	66
	4.2 ผลการวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง	70

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 4	4.3 ผลการวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	73
	4.4 ผลการวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง.....	78
	4.5 ผลการวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง.....	83
บทที่ 5	สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	89
	5.1 สรุปผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง.....	89
	5.2 สรุปผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง.....	91
	5.3 สรุปผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	93
	5.4 สรุปผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง.....	95
	5.5 สรุปผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง.....	97
บรรณานุกรม.....		99
ภาคผนวก.....		106
	ภาคผนวก ก (หลักฐานการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์)	108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ความเข้มข้นของตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง และยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin ที่ใช้ในการทดสอบ.....	16
3.2	สูตรการผลิตยาสีฟันจากสารสกัดใบกัญชง.....	17
3.3	สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีสำหรับการทดสอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์..	29
3.4	ผลการทดลองของIodine Value และ Saponification number.....	31
3.5	ปริมาณของโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง.....	32
3.6	รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	35
3.7	สูตรต้นแบบลิปบาล์ม.....	42
3.8	สารเคมีสำหรับทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง.....	58
4.1	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ตัวอย่างจากสารสกัดใบกัญชง และยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion.....	67
4.2	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์.....	70
4.3	ตารางแสดงผลวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP.....	71
4.4	แสดงปริมาณความชื้นกรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชง.....	72
4.5	กลุ่มของกรดไขมันของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง.....	73
4.6	ผลการทดลองของ Iodine Value และ Saponification number.....	74
4.7	ปริมาณของโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง.....	75
4.8	รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	76
4.9	แสดงปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐานและช่วงความยาวคลื่นในการทดสอบ	79
4.10	แสดงปริมาณสารที่ใช้ทดสอบและผลจากการทดลองซ้ำ.....	80
4.11	แสดงผลการทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา.....	81
4.12	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกัญชง ทดสอบโดยเทคนิค FRAP.....	85

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะใบของกัญชง (เฮมพ์).....	5
3.1	พื้นที่ปลูกใบกัญชงและใบกัญชงที่ผึ่งลมแห้ง.....	11
3.2	การบดใบกัญชงแห้งโดยใช้เครื่องบดใบกัญชงแบบละเอียดและหมักที่อุณหภูมิห้อง	12
3.3	การหมักสารสกัดใบกัญชง.....	13
3.4	การกรองสารสกัดใบกัญชงโดยกรองผ่านผ้าก็อซและกระดาษกรอง Whatman No.1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ.....	14
3.5	การระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศ (Rotary evaporator).....	15
3.6	การผสมสารเคมีเพื่อทำยาสีฟัน.....	19
3.7	การผสมสารเคมีเพื่อทำยาสีฟัน (ต่อ).....	20
3.8	การผสมสารเคมีและการบรรจุยาสีฟัน (ต่อ).....	21
3.9	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จำนวน 37 องค์ประกอบ.....	30
3.10	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง.....	30
3.11	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานโทโคฟีรอลที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	32
3.12	โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง.....	32
3.13	การเตรียมสารส่วนที่ 1 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	33
3.14	การเตรียมสารส่วนที่ 2 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	34
3.15	การเตรียมสารส่วนที่ 3 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	34
3.16	การเตรียมสารทั้งส่วนที่ 3 และบรรจุเพื่อนำส่งตรวจวิเคราะห์.....	34
3.17	ขั้นตอนและกระบวนการในการเตรียมสารสกัดจากใบกัญชง.....	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.18	ขั้นตอนในการทำผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์ม.....	43
3.19	ลักษณะต้นสดกัญชง (Hemp) ปลูกที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา.....	48
3.20	ใบกัญชง (Hemp) ที่ผ่านการอบแห้งแล้ว.....	48
3.21	การลดขนาดใบกัญชง (Hemp) ด้วยเครื่องบดผงสมุนไพรแบบละเอียด.....	49
3.22	ผงใบกัญชง (Hemp) ที่ผ่านการบดแบบละเอียดเรียบร้อยแล้ว.....	49
3.23	นำผงใบกัญชง (Hemp) เทลงหม้อสแตนเลสที่มีเอทานอล 95% ใช้ระยะเวลาหมัก 3 วัน.....	50
3.24	การคนผงใบกัญชง (Hemp) ที่หมักกับเอทานอล 95% หมั่นคนทุกวัน.....	50
3.25	ขั้นตอนการกรองสารละลายด้วยผ้าก๊อซเป็นการกรองรอบที่ 1.....	51
3.26	ขั้นตอนการกรองสารละลายด้วยผ้าก๊อซและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 เป็นการกรองรอบที่ 2.....	51
3.27	นำสารละลายที่กรองเรียบร้อยแล้ว เทใส่ขวด Duran สีชา.....	51
3.28	ขั้นตอนการหมักเอทานอลร้อยละ 95 กับกากใบกัญชงที่เหลือจากการกรอง ทำการหมักซ้ำจนครบ 3 รอบ.....	52
3.29	สารละลายใบกัญชงที่ผ่านการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 จำนวน 3 รอบ.....	52
3.30	นำสารละลายใบกัญชงเทใส่ขวดแก้วกลม เพื่อเตรียมเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator).....	53
3.31	นำสารละลายใบกัญชงเทเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) เพื่อระเหยเอทานอล 95% ออก.....	53
3.32	สารสกัดใบกัญชงเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนแบบแห้ง (Constant Temperature oven).....	53
3.33	ลักษณะของสารสกัดใบกัญชงที่เข้มข้นและมีน้ำหนักคงที่แล้ว.....	54
3.34	การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชงด้วยวิธี DPPH.....	55
3.35	การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชงด้วย FRAP.....	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.36	ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 1.....	60
3.37	ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 2.....	61
3.38	ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 3.....	62
3.39	ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง.....	64
3.40	ผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง.....	65
4.1	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion.....	67
4.2	ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Broth microdilution ของตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง และยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin.....	68
4.3	แสดงผลิตภัณฑ์ชาจากใบกัญชง.....	71
4.4	แสดงสีของชาใบกัญชง.....	72
4.5	ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง.....	75
4.6	แสดงขั้นตอนการสกัดสารจากใบกัญชง.....	78
4.7	กราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ทีความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร.....	80
4.8	ความสามารถของสารสกัดใบกัญชงและสารมาตรฐานในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร.....	84
4.9	ค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบกัญชงและสารมาตรฐานที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50})	84
4.10	ประชาชนเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง.....	86
4.11	สมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนฟาร์มฮักตัวบ้านในเมืองเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง.....	86

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.12	สมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮาเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง.....	87
4.13	ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชงได้จัดแสดงภายในงาน 50th Innovation Next Expo 2023 Think Global Work Local: นำท้องถิ่นสู่สากล..	88

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กัญชง มีชื่อสามัญว่า Hemp (เฮมพ์) และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. subsp. Sativa เป็นพืชล้มลุกที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับกัญชา คือ Cannabaceae ซึ่งกัญชงและกัญชาจะมีสารชนิดเดียวกันคือ สาร Tetra Hydro Cannabinol หรือที่เรียกว่า THC เป็นสารเสพติดที่ออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท และสาร Canabidiol หรือที่เรียกว่า CBD ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นประสาท ต้นกัญชงมีลักษณะคล้ายคลึงกับต้นกัญชาในด้านลักษณะทางพฤกษศาสตร์เท่านั้น โดยกัญชงมีสาร THC ในปริมาณน้อยจึงไม่จัดเป็นสารเสพติดเหมือนกัญชา ต้นกัญชงเป็นพืชที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเส้นใย นอกจากนี้กัญชงมีประโยชน์หลากหลายและปัจจุบันมีการสนับสนุนให้ทำการศึกษาและส่งเสริมให้ปลูกกัญชงเป็นพืชเศรษฐกิจ โดยเส้นใยแห้งของกัญชงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทอเป็นผ้าใยกัญชง ทำหัตถกรรมพื้นบ้าน เนื่องด้วยคุณสมบัติพิเศษจากเส้นใยกัญชงเป็นเส้นใยที่มีคุณภาพสูงเหมาะกับการนำไปประยุกต์เป็น ผลิตภัณฑ์ได้ในหลากหลายอุตสาหกรรม สร้างรายได้ให้กับกลุ่มวิสาหกิจและชุมชนที่ปลูกกัญชง ในส่วนของเมล็ดกัญชง สามารถนำมาบีบเพื่อให้ได้น้ำมันสามารถใช้ในการพัฒนาเป็นเครื่องสำอางได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีโอเมก้า 3, 6, 9 ที่สามารถช่วยล็อคความชุ่มชื้นของผิว ลดการอักเสบของผิว ช่วยปรับการสร้างน้ำมันของผิว ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของผิวมันและการเกิดสิว น้ำมันเมล็ดกัญชงจึงได้รับความนิยมในการนำมาเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางหลายประเภท

จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นแหล่งพื้นที่ ที่สามารถปลูกกัญชงได้ถึง 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอหล่มเก่า อำเภอเขาค้อ และอำเภอเมืองเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นแหล่งที่มีวัตถุดิบที่สามารถผลิตกัญชงในเชิงพานิชย์ พร้อมกับวิสาหกิจชุมชนในพื้นที่อำเภอเขาค้อมีกลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพเขาค้อที่สนใจจะนำสารสกัดจากใบรวมถึงน้ำมันจากเมล็ดกัญชงมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง รวมถึงชาชง ดังนั้นคณะผู้วิจัยเห็นว่าเพื่อเป็นการใช้ทรัพยากรและวัตถุดิบที่มีอยู่ในพื้นถิ่น รวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ของวิสาหกิจชุมชน และเพิ่มรายได้ให้กับกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกต้นกัญชง ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก โดยมีส่วนประกอบคือสารสกัดจากใบกัญชงซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ ไม่มีมูลค่าโดยสามารถเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกต้นกัญชงและนำไปสู่การต่อยอดการใช้ประโยชน์ในด้านพาณิชย์และอุตสาหกรรม

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

1) เพื่อทดสอบฤทธิ์สารสกัดจากใบกัญชงในการต้านแบคทีเรียในช่องปากที่เป็นสาเหตุของฟันผุ

2) นำสารสกัดจากใบกัญชง ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากต้นแบบ ได้แก่ ยาสีฟันผสมสมุนไพร

โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

1) เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง

2) เพื่อพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง

โครงการย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

1) เพื่อศึกษาคุณสมบัติและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

2) เพื่อพัฒนาและจัดทำต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

โครงการย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง

1) เพื่อทดสอบฤทธิ์สารสกัดใบกัญชงในการต้านอนุมูลอิสระ

2) นำสารสกัดจากใบกัญชง ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์ม

โครงการย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

1) เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง

2) เพื่อพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การออกแบบกระบวนบริหารจัดการงานวิจัย

เริ่มต้นด้วยการวิเคราะห์ การเข้าพื้นที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่ปลูกกัญชงและสอบถามปัญหาของเกษตรกรผู้ปลูกกัญชง เมื่อได้โจทย์วิจัยแล้ว ดำเนินการประชุมทีมนักวิจัยเพื่อกำหนดการทำงานวิจัยของชุดโครงการมีระยะเวลา 1 ปี เพื่อให้บรรลุเป้าหมายของการวิจัยที่ตั้งไว้ คือ “การเพิ่มมูลค่าให้กับกัญชงโดยนำส่วนต่าง ๆ ของกัญชงมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหาร”

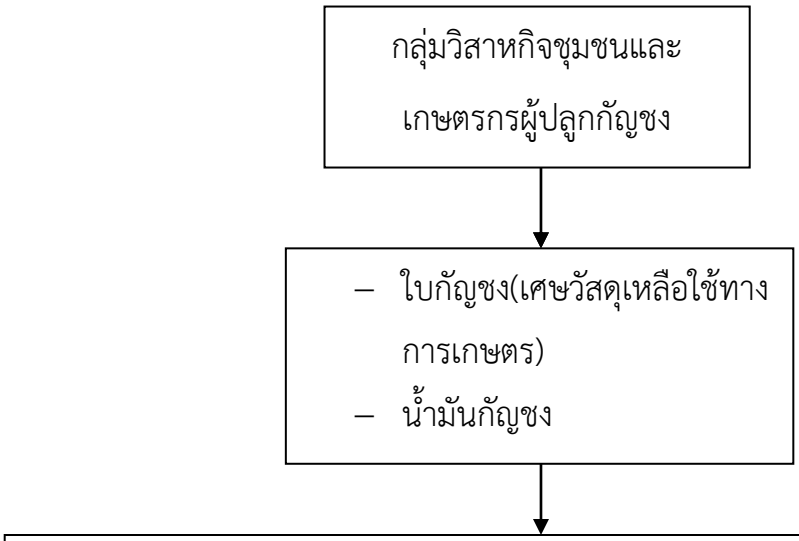
จุดเน้นของโครงการวิจัยรายประเด็น

1) การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของกัญชงเพื่อส่งเสริมเกษตรกรในชุมชน ให้มีผลิตภัณฑ์ใหม่เพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ รวมถึงส่งเสริมเกษตรกรในชุมชนให้มีรายได้เพิ่มขึ้นจากการจำหน่ายผลิตภัณฑ์

2) นำส่วนต่าง ๆ ของต้นกัญชง เช่น ใบ และเมล็ด สกัดสารสำคัญเพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและชา โดยเฉพาะส่วนใบ ซึ่งเป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

3) ชุมชนสามารถเพิ่มมูลค่าของกัญชง เพื่อการสร้างมาตรฐานการทำการเกษตรและยึดหลัก Zero Waste คือแนวทางการลดขยะให้เหลือศูนย์ หรือลดจำนวนขยะต่อคนให้เหลือน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อเป็นการหยุดปัญหาตั้งแต่ต้นทาง เพื่อเป็นการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม

นอกจากนี้ในกระบวนการของการดำเนินงานวิจัยเพื่อให้บรรลุเป้าหมายของกลุ่มวิสาหกิจแล้ว คณะผู้วิจัยมีแนวทางในการทำงานวิจัยเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพิ่มเติมปีงบประมาณต่อ ๆ ไป และการสร้างกลุ่มคนในชุมชนให้สามารถผลิตและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มาจากการเพาะปลูกในพื้นที่ของคนในชุมชนเอง เกิดกระบวนการวิจัยในตนเองและรู้จักการนำกระบวนการวิจัยไปใช้เพื่อพัฒนาทั้งตนเองและผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ



พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

โครงการวิจัยภายใต้ชุดโครงการวิจัย สำหรับการดำเนินงานวิจัย มีดังนี้

โครงการย่อยที่ 1	ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง หัวหน้าโครงการวิจัย คือ อาจารย์ นวรัตน์ มีชัย
โครงการย่อยที่ 2	การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง หัวหน้าโครงการวิจัย คือ อาจารย์ ผกามาศ ปะระทัง
โครงการย่อยที่ 3	ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง หัวหน้าโครงการวิจัย คือ อาจารย์ ศุมาลิณ ดีจันทร์
โครงการย่อยที่ 4	ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง หัวหน้าโครงการวิจัย คือ อาจารย์ นวรัตน์ มีชัย
โครงการย่อยที่ 5	ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง หัวหน้าโครงการวิจัย คือ อาจารย์ ผกามาศ ปะระทัง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กัญชง

กัญชง ชื่อสามัญ Hemp (เฮมพ์) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cannabis sativa* L. subsp. Sativa จัดอยู่ในวงศ์กัญชา (CANNABACEAE) ลักษณะของกัญชง ต้นกัญชงจัดเป็นพรรณไม้ล้มลุกที่มีอายุเพียงปีเดียว ลำต้นเป็นสีเขียวตั้งตรง มีความสูงได้ประมาณ 1-6 เมตร มีลักษณะอวบน้ำ เมื่อเป็นต้นกล้าและจะเริ่มมีการสร้างเนื้อไม้เมื่ออายุได้ 2-3 สัปดาห์ การเจริญเติบโตของต้นจะช้าในช่วง 6 สัปดาห์แรก หลังจากนั้นจะเพิ่มความสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีความสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 3 เมตร มีรากเป็นระบบรากแก้ว และมีรากแขนงเป็นมาก การปลูกต้นกัญชงจะปลูกด้วยการใช้เมล็ด ซึ่งใช้เวลางอกประมาณ 8 ถึง 14 วัน และสามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่อต้นอายุ 3-4 เดือน การชงเป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในเอเชียกลางและแพร่กระจายไปสู่เอเชียตะวันออก อินเดีย และในทวีปยุโรป ใบกัญชงใบเป็นใบเดี่ยว ลักษณะของใบเป็นรูปฝ่ามือแผ่นใบแก่แยกเป็นแฉกประมาณ 7-9 แฉก การเรียงตัวของใบค่อนข้างห่าง ขอบใบจักเป็นฟันเลื่อยและเว้าลึกจนถึงโคนใบ ปลายใบสอบและเรียวแหลม ก้านใบยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตร เมื่อมีการสร้างดอกจำนวนแฉกของใบจะลดลงตามลำดับ ลักษณะใบดังภาพที่ 2-1

ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบของกัญชง (เฮมพ์) (คณะผู้วิจัย, 2023)

ดอกกัญชง ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายยอด ดอกมีขนาดเล็กสีขาว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ดอกเป็นแบบแยกเพศและอยู่ต่างต้นกัน (บางชนิดอยู่ต้นเดียวกัน

แต่ที่พบปลูกในประเทศไทยคือชนิดที่อยู่ต่างต้น) โดยช่อดอกเพศผู้จะเป็นแบบ panicle ประกอบไปด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ แยกจากกันเป็นอิสระ มีสีเขียวอมเหลือง มีเกสรเพศผู้ 5 อัน มีระยะเวลาการบานประมาณ 2 เดือน ส่วนดอกเพศเมียจะเกิดตามซอกใบและปลายยอด ในบริเวณช่อดอกจะอัดกันแน่น ช่อดอกจะเป็นแบบ spike ประกอบไปด้วยกลีบเลี้ยงสีเขียวเข้มหุ้มรังไข่ไว้ ภายใน stigma 2 อัน สีน้ำตาลแดง อายุของดอกค่อนข้างสั้นประมาณ 3-4 สัปดาห์ก็จะติดผล

ผลกัญชง ผลเป็นเมล็ดแห้งสีเทา ลักษณะเป็นรูปไข่ ผิวเรียบเป็นมันและมีลายประสีน้ำตาล เมื่อแห้งจะเป็นสีเทา มีขนาดกว้างเฉลี่ยประมาณ 4.47 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 5.11 มิลลิเมตร และมีความหนาเฉลี่ยประมาณ 3.75 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดมีอาหารสะสมจำพวกแป้งและไขมันอัดกันแน่น

พืชกัญชงสามารถสร้างสารสำคัญที่มีลักษณะเฉพาะ เรียกว่า cannabinoids ซึ่งสารหลายชนิดในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท สารในกลุ่ม cannabinoids terpenes และ volatile compounds อื่น ๆ ถูกขับออกมาโดย granular trichomes ในรูปสารเหนียว เรียกว่า เรซินซึ่งมีมากที่สุดในช่อดอกตัวเมีย สารในกลุ่ม terpenes ไม่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทแต่ทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะในพืช สารในกลุ่ม cannabinoids จะอยู่ในรูป carboxylic acid หรือ acid form แต่เมื่อโดนแสงและความร้อนจะถูก decarboxylate เป็น neutral form

cannabidiol (CBD) สารสำคัญอีกตัวหนึ่งแต่เป็น Non-psychoactive มีฤทธิ์ THC antagonist พบมากในสายพันธุ์ที่ให้เส้นใยและเมล็ด (industrial hemp) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ลดอาการชัก ต้านการอักเสบ และลดอาการคลื่นไส้ cannabichromene (CBC) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการปวด นอกจากนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพและเชื้อรา ส่วน cannabinol (CBN) เป็นสารสลายตัวของ THC เมื่อสัมผัสความร้อนและออกซิเจนในอากาศ เกิดการ oxidation พบได้น้อยมากในพืชสด แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไว้นาน มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทอ่อน ๆ มีการศึกษาทางคลินิกเพื่อใช้ THC เพื่อลดอาการคลื่นไส้อาเจียนในผู้ป่วยที่ได้รับเคมีบำบัด กระตุ้นการอยากอาหาร ลดอาการปวด และลดอาการของ multiple sclerosis นอกจากนี้พบว่า THC และ CBD มีฤทธิ์ neuroprotection โดยต้านผลของ 6-hydroxydopamine ที่ทำให้เกิด neurodegeneration ในผู้ป่วยโรคพาร์กินสัน กัญชงทุกสายพันธุ์ที่นำมาปลูกจะมีปริมาณของสาร THC และ CBD เพิ่มขึ้นด้วยเมื่อต้นมีอายุมากขึ้น และจะมีมากที่สุดในระยะออกดอก (ดอกและใบเพศผู้จะมีปริมาณสูงสุด) โดยต้นกัญชงที่มีอายุ 60 วัน จะมีสาร THC 0.550-0.722%, ต้นอายุ 90 วัน จะมีสาร THC 0.754-0.939% มี CBD 0.361-0.480%, ต้นที่อยู่ในระยะออกดอกจะมีสาร THC 1.035-1.142% มี CBD 0.446-0.509% และผลการทดลองยังพบว่า ปริมาณของสาร THC นั้นจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อพื้นที่ปลูกมีความสูงจากระดับน้ำทะเลเพิ่มขึ้น โดยสรุปคือปริมาณของสาร THC จะมีความสัมพันธ์กับอายุของต้น ความสูงของพื้นที่ที่เพาะปลูก สายพันธุ์ที่ใช้ปลูก และความยาวของเส้นรอบวงของลำต้น ส่วนปริมาณของสาร

CBD จะมีความสัมพันธ์กับอายุของต้น ความสูงของพื้นที่ที่เพาะปลูก และสายพันธุ์ที่ใช้ปลูกเท่านั้น (Hourfane, S et al., 2023)

ประโยชน์ทางการแพทย์ของกัญชง

1. เมล็ดกัญชงมีคุณค่าทางโปรตีนสูง และราคาถูก สามารถนำไปผลิตแป้งเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบประกอบอาหาร หรือผลิตภัณฑ์เสริมโปรตีนหรือผลิตเป็นแป้งทดแทนถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดี ซึ่งในอนาคตอาจใช้เป็นทางเลือกในการบริโภคแทนถั่วเหลืองซึ่งเป็นพืช GMOs ก็เป็นได้

2. น้ำมันเมล็ดกัญชงเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์มีทั้งกรดไลโนเลอิก (โอเมก้า-6) ร้อยละ 54-60 และกรดไลโนเลนิก (โอเมก้า-3) ร้อยละ 15-20 ในสัดส่วนที่สมดุล น้ำมันเมล็ดกัญชงเพียงชนิดเดียวจะได้ประโยชน์จากกรดทั้งสองประเภทกรดไขมันโอเมก้า-3 (omega-3 fatty acid or alpha linolenic acid (ALA)) และกรดไขมัน โอเมก้า-6 (omega-6 fatty acid) เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ อย่างไรก็ตามร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันทั้งสองประเภทนี้ได้จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร จึงเรียกกรดไขมันเหล่านี้ว่า กรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid)

กรดไขมันโอเมก้า-3 ที่จัดเป็นกรดไขมันจำเป็นซึ่งพบมากในพืชน้ำมันบางชนิด เช่น flax (*Linum usitatissimum* L.) และกัญชง (*Cannabis sativa* L.) เมื่อเข้าสู่ร่างกาย ALA จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมัน โอเมก้า-3 อีกสองชนิดคือ eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) ซึ่งกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เองที่มีผลป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้แล้ว DHA ยังมีคุณสมบัติพิเศษคือช่วยเสริมสร้างเซลล์สมอง ทำให้ความจำดีและฉลาด

ส่วนกรดไขมันโอเมก้า-6 ที่จัดว่าเป็นกรดไขมันจำเป็นคือ linoleic acid (LA) ซึ่งพบมากในพืชน้ำมันหลายชนิด เช่น ทานตะวัน (*Helianthus anuus* L.) คำฝอย (*Carthamus tinctorious* L.), evening primrose (*Oenothera biennis* L.) และ กัญชง (*Cannabus sativa* L.) เมื่อเข้าสู่ร่างกาย LA จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันโอเมก้า-6 อีกชนิดหนึ่งคือ gamma-linolenic acid (GLA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีผลป้องกันและรักษาโรคต่างๆ คล้ายกับ EPA ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่สามารถสังเคราะห์ GLA ได้ เช่น เชื้อราบางชนิด สาหร่ายบางชนิดและพืชบางชนิด พืชที่ผลิต GLA ได้ในปริมาณมากคือ evening primrose ซึ่งในปัจจุบันมีการสกัดน้ำมันจากพืชชนิดนี้และนำออกจำหน่ายเป็นอาหารเสริมสุขภาพที่มีราคาแพง แต่ก็ได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย และมีการนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้เข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยด้วย

3. น้ำมันจากเมล็ดสามารถไปผลิตเป็นน้ำมันซักแห้ง ทำสบู่ เครื่องสำอาง ครีมกันแดด แชมพู สบู่ โลชั่นบำรุงผิว ลิปสติก ลิปบาล์ม แผ่นมาส์กหน้า หรือแม้กระทั่งเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง และถูกพัฒนา

เป็นตำรับครีมน้ำมันกัญชงที่ให้ความชุ่มชื้นและช่วยบำรุงผิวแห้งเพื่อรักษาโรคผิวแห้งคันและสะเก็ดเงินที่ได้ผลเป็นอย่างดี

4. งานวิจัยของสถาบันฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์แห่งชาติประเทศจีน พบว่า ผ้าที่ทอจากเส้นใยกัญชง แม้จะเป็นการทอด้วยเส้นใยกัญชงเพียงครึ่งหนึ่งก็สามารถช่วยป้องกันรังสี UV ได้สูงถึง 95% (ถ้าทอทั้งผืนจะป้องกันได้ 100%) ในขณะที่เสื้อผ้าที่ทอด้วยผ้าประเภทอื่นจะป้องกันรังสี UV ได้เพียง 30-50% เท่านั้น และเส้นใยกัญชงที่ทำให้แห้งสนิทจะมีคุณสมบัติเป็นฉนวนกันไฟฟ้า มีค่าความต้านทานไฟฟ้าที่น้อยที่สุดก็ยังอยู่ที่ 30% ซึ่งมากกว่าเส้นใยฝ้าย ส่วนการทดสอบผ้าที่ทอด้วยเส้นใยกัญชงในสภาพความร้อนสูงถึง 370 องศาเซลเซียส

5. ต้นกัญชงจะพบสาร cannabinoids ชนิดต่างๆ ได้แก่สาร delta-9- tetrahydro-cannabinol (THC) มีฤทธิ์ทำให้เกิดอารมณ์เคลิบเคลิ้มและเป็นสุข หากเสพด้วยการสูบจะมีฤทธิ์แรงมากกว่าการรับประทาน THC เป็นสารที่พบมากในกัญชา ในปัจจุบันประเทศอเมริกาได้สกัดสาร THC จากกัญชาเพื่อใช้ผลิตยาชื่อว่า Dronabinol ชื่อการค้า Marinol® โดยผ่านรับรองการใช้ขององค์การอาหารและยา (FDA-approved) ใช้สำหรับป้องกันการคลื่นไส้และอาเจียนในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ต้องได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการเข้ารับการรักษา และใช้เป็นยากระตุ้นการอยากอาหารในผู้ป่วย AIDs และสาร cannabichromene (CBC) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการปวด นอกจากนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพและเชื้อรา

ข้อเสีย

1. สาร delta-9- tetrahydrocannabinol (THC) มีฤทธิ์ทำให้เกิดอารมณ์เคลิบเคลิ้มและเป็นสุข หากเสพด้วยการสูบจะมีฤทธิ์แรงมากกว่าการรับประทาน หากเสพมาก ๆ ทำให้เกิดอาการหวาดระแวง กังวล และซึมเศร้า มีฤทธิ์เสพติดเช่นเดียวกับกัญชา

2.2 เครื่องสำอาง

คำจำกัดความของเครื่องสำอางมีมากมายหลายแบบ ขึ้นอยู่กับผู้ให้ความหมายว่ามีความต้องการสื่อหรือมีวัตถุประสงค์อย่างไร โดยมีหลักการและพื้นฐานในการให้คำจำกัดความ ดังต่อไปนี้ วิเชียร โรจนสิงห์สวัสดิ์ (2529) กล่าวว่า “Cosmetic” หรือเครื่องสำอางมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า “Kosmein” ซึ่งมีความหมายถึงการตกแต่งให้สวยงามเพื่อดึงดูดความสนใจแก่ผู้ที่ได้พบเห็น การตกแต่งในที่นี้หมายถึง การใช้สิ่งใดสิ่งหนึ่งกับใบหน้าและส่วนอื่น ๆของร่างกาย พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 มาตรา 4 ได้ระบุว่า เครื่องสำอางหมายความว่า เครื่องสำอางตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง ได้ระบุความหมายไว้ว่า 1. วัตถุที่มุ่งหมายใช้ ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อม ฯลฯ ต่อรายการเพื่อความสะอาด สวยงาม หรือส่งเสริมให้เกิดความสวยงามและรวมตลอดทั้งเครื่องประทินผิวต่าง ๆ ด้วย แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอก

ร่างกาย 2. วัตถุที่มุ่งหมายใช้ผสมในการผลิตเครื่องสำอางโดยเฉพาะ 3. วัตถุที่กำหนดโดยกฎกระทรวงให้เป็นเครื่องสำอาง สมชาย สัมพันธ์วิวัฒน์ (2542) กล่าวว่าเครื่องสำอางที่ภาษาอังกฤษเรียกว่า “Cosmetic” มา จากคำภาษากรีกว่า “Kosmetikos” คำว่า “Komos” หมายถึงเครื่องสำอาง “สีที่ใช้ทา” หรือนำมาสัมผัสภายนอกร่างกายเพื่อให้เกิดความสวยงาม แต่ปัจจุบันความหมายกว้างออกไปถึงสารที่ใช้ ภายในปากด้วย เช่น น้ำยาล้างปาก ยาสีฟัน น้ำหอม ลิปสติก แชมพู ยาทาเล็บ แป้งผัดหน้า เป็นต้น ดังนั้น เครื่องสำอาง หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมาเพื่อใช้ทำความสะอาด บำรุง ตกแต่งให้ใบหน้าและส่วนอื่น ๆ ของร่างกายเกิดความสวยงาม โดยวิธีการทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อม หรือวิธีการอื่นใด ประเภทของเครื่องสำอาง เครื่องสำอางนั้นแบ่งออกได้เป็นหลายประเภท ในที่นี้ จะนำเอาวิธีการแบ่งประเภทของคณะกรรมการร่างมาตรฐานเครื่องสำอาง ซึ่งแบ่งประเภทของเครื่องสำอาง ตามลักษณะการใช้ต่างส่วนต่าง ๆ ของร่างกายดังนี้ คือ เครื่องสำอางสำหรับลำตัว เครื่องสำอางประเภทนี้ ได้แก่ ครีมและโลชั่นทาผิว ใช้ทากับผิวบริเวณลำตัว เพื่อให้ผิวหนังเกิดความนุ่มนวล แก้อาการผิวหนังแห้งกร้าน รวมไปถึงครีมที่ใช้ทาผิวเพื่อกระชับสัดส่วน และครีมเพื่อเสริมบำรุง ทรวงอกให้เต่งตึง ไม่หย่อนยาน สิ่งปกป้องแสงแดดและแต่งผิว เป็นสิ่งปรุงที่ประกอบด้วยสาร ซึ่งสามารถดูดซึมและ แยกรังสีคลื่นสั้นของแสงอาทิตย์ออกจากรังสีทั้งหมด ช่วยทำให้ผิวคล้ำลงโดยไม่เกิดการอักเสบ ป้องกันผิวไหม้บรรเทาอาการปวดร้อน หรือระคายเคืองอันเกิดจากการตากแดด รวมไปถึงสิ่งปรุงที่ทำให้สีผิวจางและฟอกสีผิว ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวกาย มีลักษณะเป็นของเหลว ครีม เจล หรือก้อน น้ำยาทาและล้างเล็บ เป็นเครื่องสำอางที่เป็นของเหลว เพื่อใช้ล้างทำความสะอาดเล็บ และตกแต่งเล็บให้มีสีสวยสดงดงาม สิ่งปรุงระงับเหงื่อกลิ่นตัว เป็นเครื่องสำอางกึ่งยามีทั้งชนิดของเหลวและเป็นแท่ง ใช้ทาระงับกลิ่นอันเกิดจากการหมักหมม ของเหงื่อไคล รวมไปถึงแป้งฝุ่นโรยตัวที่ใช้ทาบนร่างกาย เพื่อให้รู้สึกลื่นสบายผิว ป้องกันความอับชื้นและกลิ่นอันเกิดจากเหงื่อไคล แป้งโรยตัว ใช้ทาบนร่างกายเพื่อให้รู้สึกลื่น สบายตัว ป้องกันการอับชื้นและกลิ่นอันเกิดจากเหงื่อไคล

2.3 ชาสมุนไพร

ชาจากพืช เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้ง อาจผ่านการบดหยาบหรือลดขนาด โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อนำไปบริโภคโดยการต้มหรือชงกับน้ำ ชาจากพืชต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

1. มีความชื้นได้ไม่เกินร้อยละ 10 ของน้ำหนัก

2. จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยกำหนดคุณภาพ หรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

3. ตรวจพบสารปนเปื้อนไม่เกินปริมาณสูงสุดที่กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน

4. สารพิษตกค้างให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยอาหารที่มีสารพิษตกค้าง

5. ไม่มียาแผนปัจจุบันหรือวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท หรือยาเสพติดให้โทษตามกฎหมายว่าด้วยการนั้นแล้วแต่กรณี

6. การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยวัตถุเจือปนอาหาร

7. ไม่มีการปรุงแต่งกลิ่น รส ด้วยวัตถุอื่น นอกจากพืชที่ระบุในบัญชีรายชื่อพืชและส่วนของพืช ที่ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับชาจากพืชท้ายประกาศนี้ หรือใบ ยอด และก้านที่ยังอ่อนอยู่ของต้นชาในสกุล Camellia

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 โครงการย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

3.1.1 การเตรียมสารสกัดใบกัญชง

3.1.1.1 การผึ่งใบกัญชง

การเตรียมสารสกัดใบกัญชง ใบกัญชงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือใบกัญชงที่ได้จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนใบกัญชงเพื่อสุขภาพบ้านเฮา ตำบลบ้านโคก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกกัญชง โดยทำการเก็บใบของกัญชงจากนั้นนำมาผึ่งลมให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24-72 ชั่วโมง เพื่อให้ใบกัญชงแห้ง เพื่อเตรียมนำไปสู่ขั้นตอนถัดไป (ภาพที่ 3.1)

ภาพที่ 3.1 พื้นที่ปลูกใบกัญชงและใบกัญชงที่ผึ่งลมแห้ง (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

3.1.1.2 การบดและหมักใบกัญชง

เมื่อได้ใบกัญชงแห้งจากการผึ่งลมแล้ว ปริมาณ 3000 กรัม นำมาบดด้วยเครื่องบดแบบละเอียด (ภาพที่ 3.2) จากนั้นนำผงใบกัญชงแห้ง หมักใน 95% เอทานอล เป็นเวลา 3 วัน โดยใช้ 95% เอทานอลปริมาตร 1:10 w/v โดยแบ่งเป็น 3 ส่วน เทส่วนที่ 1 ลงในภาชนะที่มีผงใบกัญชง คนให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาให้สนิท ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

ภาพที่ 3.2 การบดใบกัญชงแห้งโดยใช้เครื่องบดใบกัญชงแบบละเอียดและหมักที่อุณหภูมิห้อง (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.3 การหมักสารสกัดใบกัญชง (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

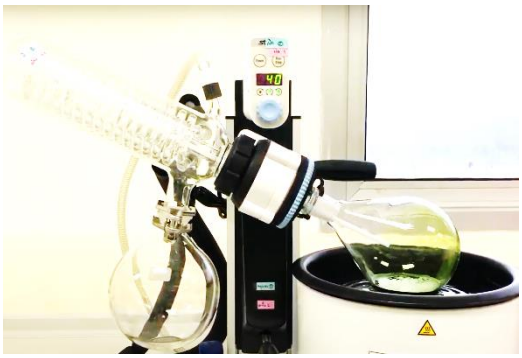
3.1.1.3 การกรองสารละลายใบกัญชง

หลังจากหมักใบกัญชง และหมั่นคนให้เข้ากันครบ 3 วันแล้ว จากนั้นนำใบกัญชงที่หมักครบเวลา กรองผ่านผ้าก็อซและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศในการกรองเพื่อลดระยะเวลาในการกรอง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ใส่ขวด Duran สีชา กากที่เหลือจากการกรอง จะนำมาเติม 95% เอทานอล ส่วนที่ 2 คนให้เข้ากัน หมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากน้ำกรองผ่านผ้าก็อซและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 ทำซ้ำอีก 1 รอบ โดยจะทำทั้งหมด 3 รอบเพื่อให้ได้สารสำคัญจากสกัดจากใบกัญชงครบถ้วน (ภาพที่ 3.4)

ภาพที่ 3.4 การกรองสารสกัดใบกัญชงโดยกรองผ่านผ้าก็อซและกระดาษกรอง Whatman No.1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

3.1.2 การระเหยตัวทำละลาย

เมื่อได้สารละลายใบกัญชงแล้ว นำมาระเหยตัวทำละลาย 95% เอทานอลออก โดยนำสารละลายใบกัญชงเทลงในขวดก้นกลม และนำไปเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) (ภาพที่ 3.4) จนเริ่มแห้ง จากนั้นทำซ้ำจนตัวทำละลายระเหยหมด โดยสารสกัดใบกัญชงจะใช้เวลาในการสกัด 3-4 ชั่วโมง เมื่อได้สารสกัดที่มีลักษณะหนืดข้น สีเขียวเข้ม จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่



ภาพที่ 3.5 การระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศ (Rotary evaporator) (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

จากนั้นทำการเก็บสารสกัดไว้ทำการทดสอบโดยชั่งน้ำหนักสารที่ได้เพื่อคำนวณปริมาณสารสกัดเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้งของผงยาที่ชั่งเมื่อเริ่มต้น

3.1.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans*

3.1.3.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Disc Diffusion

ชั่งตัวอย่างสารสกัดกัญชง 500 มิลลิกรัม ละลายด้วย เอทานอล จากนั้นนำมาทำให้ไร้เชื้อโดยกรองผ่าน เมมเบรนที่มีรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร แล้วเจือจางตัวอย่างด้วยเทคนิคปลอดเชื้อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 5, 50 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำตัวอย่างมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. mutans* ด้วยวิธี Disc Diffusion โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระดาษกรอง (Filter Paper Disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร เพื่อให้ได้ตัวอย่างปริมาณ 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัม แล้วทดสอบเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ปริมาณ 0.015 มิลลิกรัม

จากนั้นนำสารแขวนตะกอนเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ที่ทำการปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFaland standards เรียบร้อยแล้ว มาเกลี่ยให้มีความสม่ำเสมอทั่วผิวอาหารวุ้น Brain Heart Infusion agar (BHI) ด้วย Cotton swab วาง Filter Paper Disc ที่ได้รับการหยดตัวอย่างไว้แล้วลงบนผิวอาหารวุ้นโดยใช้ตัวทำละลายที่ละลายตัวอย่างเป็น Negative Control ทำการบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37$\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร

3.1.3.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Broth microdilution ของตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง มีขั้นตอน คือ ชั่งตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง 500 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล แล้วทำให้ไร้เชื้อโดยกรองผ่านเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร จากนั้น ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวลงในจาน 96 หลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร ปิเปตตัวอย่างสารที่เตรียมใส่หลุมที่ 1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมสารตัวอย่างให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายในหลุมที่ 1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ไปใส่ในหลุมที่ 2 และทำเช่นเดียวกันจนถึงหลุมที่ 12 โดยในหลุมที่ 12 ให้ปิเปตสารผสมทิ้ง 100 ไมโครลิตร เจือจางแบบ 2 fold serial dilution รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง และยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin ที่ใช้ในการทดสอบ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของตัวอย่างในหลุมที่ 1-12											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สารสกัดกัญชง	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12
Erythromycin	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.1

จากนั้นเติมสารแขวนตะกอนเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ซึ่งได้ทำการปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ใส่ลงในทุกหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร ทดสอบเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนของเชื้อที่ก้นหลุม

3.1.4 การเตรียมเนื้อยาสีฟัน

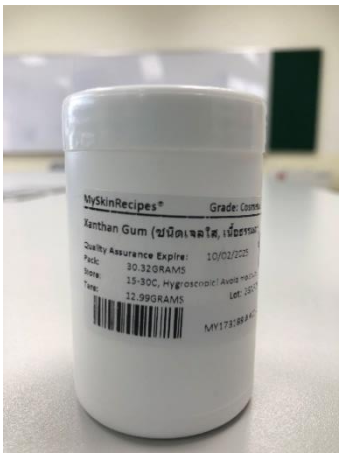
การเตรียมเนื้อยาสีฟันเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบยาสีฟันจากสารสกัดใบกัญชงในการวิจัยนี้ ปรับปรุงสูตรมาจาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ซึ่งมีสูตรดังตารางที่ 3.2

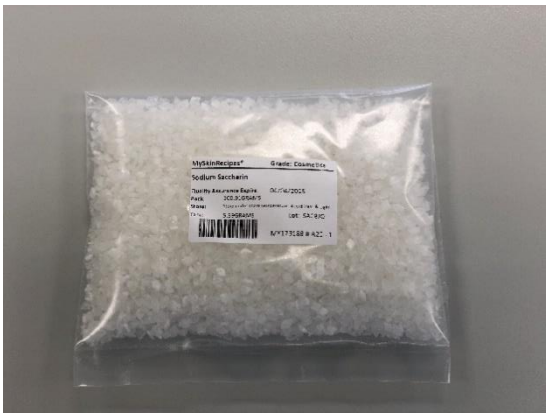
ตารางที่ 3.2 สูตรการผลิตยาสีฟันจากสารสกัดใบกัญชง

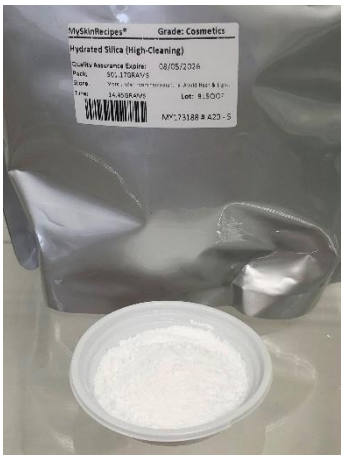
ลำดับที่	ชื่อสารเคมี	หน้าที่ของสาร	ปริมาตรสาร (กรัม)
1	Xanthan gum	สารเพิ่มความหนืด	0.5
2	Glycerin	เพิ่มความชุ่มชื้น	5
3	DI water	ตัวทำละลาย	16.1
4	Allantoin	ป้องกันการแพ้ระคายเคือง	0.5
5	Sodium Benzoate	สารกันเสีย	0.3
6	Sodium Fluoride	ป้องกันฟันผุ	0.1
7	Sodium saccharin	สารแต่งรส สารให้ความหวาน	0.3
8	Sorbitol	สารให้ความชุ่มชื้น	30
9	Camphor	สารแต่งกลิ่นรส มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ	0.45
10	Menthol	สารแต่งกลิ่นรส มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ	0.45
11	Borneol	สารแต่งกลิ่นรส มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ	0.45
12	Eucalyptus oil	สารแต่งกลิ่นรส รู้สึกสดชื่น	1
13	Peppermint oil	สารแต่งกลิ่นรส รู้สึกสะอาด	3
14	Carbopol	ช่วยสร้างเนื้อเจล	1.5
15	Calcium carbonate	สารขัดสี	25
16	Hydrated silica	สารขัดสีหรือสารขัดเงา	5
17	Titanium dioxide	สารทำให้ทึบแสง	0.35
18	Sodium-N-lauroly sarcosinate	สารลดแรงตึงผิว	2
19	Cocamidopropyl Betain	สารชำระล้าง	8
20	สารสกัดใบกัญชง	ต้านอนุมูลอิสระ	10 ไมโครลิตร

ขั้นตอนการทำมีดังนี้

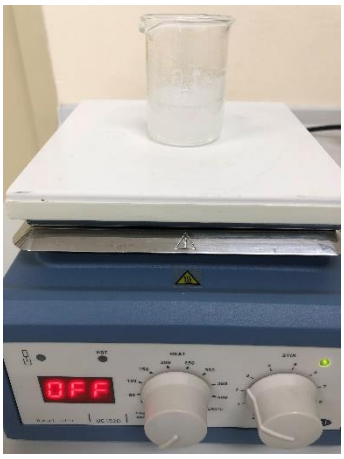
1. นำ Xanthan gum ผสมกับ Glycerin โดยผสมให้เข้ากันดีในโกร่ง พักไว้
2. ผสม Allantoin, Sodium Benzoate และ Sodium Fluoride ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ 16.1 กรัม
3. จากนั้นเติมสารละลายในข้อที่ 2 ลงไปในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน พักไว้
4. ผสม Sodium saccharin, Sorbitol, Camphor, Menthol, Borneol, Eucalyptus oil, Peppermint oil, Carbopol ลงในบีกเกอร์ ผสมให้เข้ากัน จากนั้น เติมส่วนผสมที่ได้ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน พักไว้
5. เติม Calcium carbonate ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน
6. เติม Hydrated silica ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน
7. เติม Titanium dioxide ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน
8. เติม Sodium-N-lauroly sarcosinate ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน
9. เติม Cocamidopropyl Betain และสารสกัดใบกัญชง ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในโกร่ง จากนั้นผสมให้เข้ากัน
10. ทิ้งไว้ 30 นาทีเพื่อให้ฟองยุบ จากนั้นบรรจุลงบรรจุภัณฑ์ และติดสติ๊กเกอร์

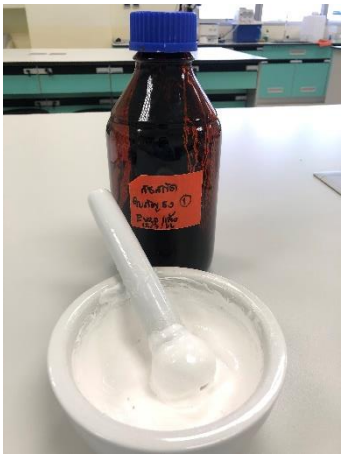






ภาพที่ 3.6 การผสมสารเคมีเพื่อทำยาสีฟัน (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)





ภาพที่ 3.7 การผสมสารเคมีเพื่อทำยาสีฟัน (ต่อ) (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.8 การผสมสารเคมีและการบรรจุยาสีฟัน (ต่อ) (ที่มา:คณะผู้วิจัย, 2023)

3.2 โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง มีวิธีดำเนินการวิจัย ดังนี้

3.2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1.1 เครื่องมือ

1) เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate Reader) รุ่น EZ 2000 ของบริษัท Biochrome ประเทศสหรัฐอเมริกา

2) เครื่องคลื่นความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-Assisted Extraction ;UAE) ยี่ห้อ DW-IID ของบริษัท DRAWELL artist of science ประเทศจีน

3) เครื่องดูดสารไมโครปิเปต (Micro pipette) 10-100 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร ของบริษัท Thermo Fisher Scientific

4) เครื่องอบแห้งแช่แข็งสุญญากาศ (Vaccuum freeze dryer) รุ่น CoolSafe Freeze dryers ของบริษัท LaboGene ประเทศเดนมาร์ก

5) เครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ของบริษัท METTLER TOLEDO ประเทศไทย

6) เครื่องบดย่อยสมุนไพร (Granulation Herbal Machine) ของบริษัท จรัสชัยแมชชีนเนอรี่ ประเทศไทย

7) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge) รุ่น Velocity 18R Pro ของบริษัท Thermo Scientific

8) เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน น้ำกลั่น น้ำดีไอ (DI) รุ่น WS-15 ของบริษัท DAEYANG ประเทศเกาหลีใต้

9) เครื่อง Vortex Mixer รุ่น Vortex-genie 2 ยี่ห้อ Scientific industries

10) ไมโครเพลทหลุม 96 ช่อง (96 well plate) ของบริษัท Thermo Fisher Scientifi

11) ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert บริษัท เมทริทเทค ประเทศไทย

12) เครื่องชั่งวิเคราะห์ความชื้น รุ่น PMB-53 ยี่ห้อ ADAM ประเทศอังกฤษ

3.2.1.2 วัสดุและอุปกรณ์

1) ขวดวัดปริมาตร 1, 5, 25, 50, 100 และ 500 มิลลิลิตร

2) บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3) หลอดเซนตริฟิวก์พลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร

4) กระบอกตวง ขนาด 10 มิลลิลิตร

5) หลอดหยดพร้อมลูกยาง

6) แท่งแก้วคนสาร

7) ช้อนตักสาร

8) กรวยกรอง

9) ขวดสีชา

10) กระทะทองเหลือง

3.2.1.3 สารเคมี

1) น้ำปราศจากไอออน น้ำกลั่น น้ำดีไอ (DI)

2) ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ;DPPH) เกรด HPLC มวลโมเลกุล 394.32 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

3) โทรลอกซ์ (Trolox) เกรด HPLC, ความบริสุทธิ์ 99.87% มวลโมเลกุล 250.29 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

4) กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic) เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99.7% มวลโมเลกุล 176 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

5) กรดแกลลิก (Gallic acid) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 99% มวลโมเลกุล 188.13 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

6) แคทีชิน (Catechin) เกรด HPLC, ความบริสุทธิ์ 97% มวลโมเลกุล 290.27 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

7) เอบีทีเอส (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid ;ABTS) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 98% มวลโมเลกุล 548.48 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

8) ทีพีทีแซด 2,4,6,-tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) เกรด HPLC ความบริสุทธิ์ 98% มวลโมเลกุล 312.33 กรัมต่อโมล ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย

9) โฟลิน-ซิโอแคลทู ฟีนอล รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu's phenol reagent) เกรดวิเคราะห์ มวลโมเลกุล 94.11 กรัมต่อโมล ของบริษัท LOBA CHEMIE PVT.LTD. ประเทศอินเดีย

10) โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulphate; K2S2O8) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98% มวลโมเลกุล 270.31 กรัมต่อโมล ของบริษัท LOBA CHEMIE PVT.LTD. ประเทศอินเดีย

11) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate; Na2CO3) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99.5% มวลโมเลกุล 105 กรัมต่อโมล ของบริษัท LOBA CHEMIE PVT.LTD. ประเทศอินเดีย

12) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98.5% มวลโมเลกุล 40 กรัมต่อโมล ของบริษัท Carlo Erba ประเทศไทย

13) โซเดียมไนไตรต์ (Sodium nitrite; NaNO2) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98% มวลโมเลกุล 69 กรัมต่อโมล ของบริษัท Carlo Erba ประเทศไทย

14) อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride; AlCl3) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98% มวลโมเลกุล 241.43 กรัมต่อโมล ของบริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์

15) โซเดียมอะซิเตต (Sodium Acetate; CH3COONa) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99.5% มวลโมเลกุล 136.08 กรัมต่อโมล ของบริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์

16) เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride; FeCl3) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99% มวลโมเลกุล 162.2 กรัมต่อโมล ของบริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์

17) กรดอะซีติก (Acetic acid) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99.8% มวลโมเลกุล 60 กรัมต่อโมล ของบริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์

18) กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid; HCl), เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 37% มวลโมเลกุล 36.5 กรัมต่อโมล ของบริษัท Carlo ประเทศอิตาลี

19) เมทานอล (Methanol) เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 99.8% มวลโมเลกุล 32.04 กรัมต่อโมล ของบริษัท Qrec, ประเทศนิวซีแลนด์

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชงและชาใบกัญชง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง และชาใบกัญชง ประกอบด้วย การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม การวิเคราะห์หาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH, ABTS และ FRAP โดยมีวิธีการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

3.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) โดยวิธี Folin-ciocalteu's โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid: GA) เป็นสารละลายมาตรฐาน และวิเคราะห์ตัวอย่างโดยเติมสารสกัด 80 ไมโครลิตร ลงใน 48 well plate จากนั้นเติมสารละลาย Folin-ciocalteu's reagent ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในความมืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 320 ไมโครลิตร (ปริมาตรรวม

ทั้งหมด 800 ไมโครลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง) ทิ้งไว้ในความมืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate reader นำค่าการดูดกลืนมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (Miligram gallic acid equivalent/gram of dried sample weight, mgGAE/gDw)

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content) โดยวิธี Aluminium โดยใช้เคอซิติน (Quercetin) เป็นสารละลายมาตรฐาน และวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใส่สารสกัด 120 ไมโครลิตร ลงใน 48 well plate จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$ anhydrous) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ 320 ไมโครลิตร (ปริมาตรรวมทั้งหมด 800 ไมโครลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง) ทิ้งไว้ในความมืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตรโดยใช้เครื่อง Microplate reader คำนวณหา ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากกราฟมาตรฐานเคอซิติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอซิตินต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (mgQE/gDw)

3.2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยเจือจางสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) โทรล๊อกซ์ (Trolox) และสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นดูดสารสกัด 80 ไมโครลิตร ลงใน 48 well plate แล้ว เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 720 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที (ปริมาตรรวมทั้งหมด 800 ไมโครลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง) จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate reader นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ (A) สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่าง เปอร์เซ็นต์ต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และคำนวณหาความเข้มข้น ของสารละลายสกัดที่ทำให้ความเข้มข้น DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (% Radical scavenging activity) ดังสมการที่ 1

3.2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยเจือจางสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิก(Ascorbic Acid) โทรล๊อกซ์ (Trolox) และสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นดูดสารสกัด 80 ไมโครลิตร ลงใน 48 well plate แล้วเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 720 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที (ปริมาตรรวมทั้งหมด 800 ไมโครลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง) นำมาวัด ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรโดยใช้เครื่อง Microplate reader นำค่าการดูดกลืนแสง ที่วัดได้ (A) สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารละลายสกัด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่ทำให้ความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (% Radical scavenging activity) ดังสมการที่ 1

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = \left[\frac{\mathbf{A}_{(\text{control})}-\left(\mathbf{A}_{(\text{sample})}-\mathbf{A}_{(\text{blank})}\right)}{\mathbf{A}_{(\text{control})}}\right]\times 100$$

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัด และ reagent

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัด และ 70% v/v เอทานอล

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารละลายสกัด ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการศึกษาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

3.2.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ FRAP ทำการทดลองโดยเจือจางสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ (Trolox) และสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นความเข้มข้นที่เหมาะสมวิเคราะห์ตัวอย่างโดยดูดสารสกัด 80 ไมโครลิตร ลงใน 48 well plate แล้วเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 720 ไมโครลิตร (ปริมาตรรวมทั้งหมด 800 ไมโครลิต ทำซ้ำ 3 ครั้ง) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรโดยใช้เครื่อง Microplate reader นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ FRAP จากกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ ในหน่วยไมโครกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (mgTE/gDw)

3.2.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง

3.2.3.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง ด้วยวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1) กรรมวิธีการผลิตของกระทรวงสาธารณสุข โดยนำใบกัญชงสด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท ชั่งใบกัญชง 50 กรัม นำมาอบความร้อนด้วยอุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง บดให้มีขนาดเล็กลง หาปริมาณความชื้น ไม่ควรเกินร้อยละ 10 จากนั้น บรรจุผงใบกัญชาลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท [4]

2) กรรมวิธีการผลิตชาเขียว ดัดแปลงจาก จารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง (2559) [5] โดยนำใบกัญชงสด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท ชั่งใบกัญชง 50 กรัม ลวกน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 วินาทีจุ่มน้ำเย็นทันที ผึ่งลมให้แห้งหมาดๆ คั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นอบที่อุณหภูมิ 80

องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง หาปริมาณความชื้น ไม่ควรเกินร้อยละ 10 จากนั้น บรรจุผงใบกัญชงลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท

3) กรรมวิธีการผลิตชาฝรั่ง ดัดแปลงจาก จารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง (2559) [5] โดยนำใบกัญชงสด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท ชั่งใบกัญชง 50 กรัม คั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง หาปริมาณความชื้น ไม่ควรเกินร้อยละ 10 จากนั้น บรรจุผงใบกัญชงลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท

4) กรรมวิธีการผลิตชาจีน ดัดแปลงจาก จารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง (2559) [5] โดยนำใบกัญชงสด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท ชั่งใบกัญชง 50 กรัม การทดลองคั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดความชื้นใบกัญชง บรรจุผงใบกัญชงลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท

5) กรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง ดัดแปลงจาก จารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง (2559) [5] โดยนำใบกัญชงสด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ ผึ่งให้แห้งสนิท ชั่งใบกัญชง 50 กรัมคั่วในกระทะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาทีอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง หาปริมาณความชื้น ไม่ควรเกินร้อยละ 10 จากนั้น บรรจุผงใบกัญชาลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท

3.3 โครงการย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

3.3.1 รูปแบบการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง “ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง” เป็นการศึกษาเชิงทดลอง โดยนำเอาน้ำมันเมล็ดกัญชงที่ซื้อจากบริษัท ไทยสติ๊คเฮิร์บ จำกัด มาพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง ซึ่งมีขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์น้ำมันเมล็ดกัญชงเพื่อศึกษาองค์ประกอบที่มีคุณสมบัติเกี่ยวกับผิว และขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ

3.3.1.1 การตรวจวิเคราะห์น้ำมันเมล็ดกัญชง

น้ำมันเมล็ดกัญชงที่ซื้อจากบริษัท ไทยสติ๊คเฮิร์บ จำกัด มีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองใส มีความหนืดเล็กน้อย มีกลิ่นเฉพาะตัว

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน

1) การเตรียมตัวอย่างน้ำมัน

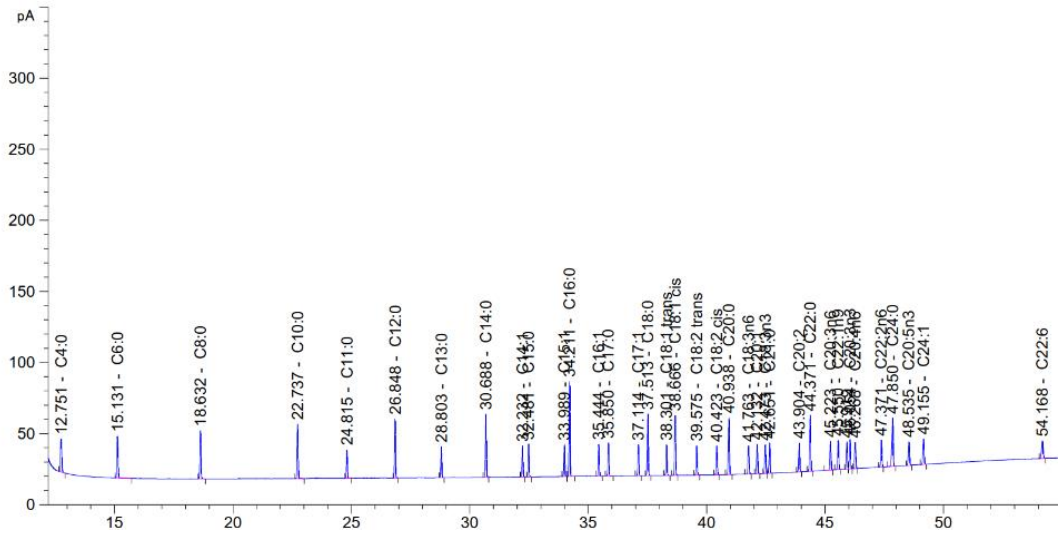
- น้ำมันจะต้องอยู่ในรูปของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ในการเตรียมตัวอย่างปิเปตตัวอย่างน้ำมัน 200 ไมโครลิตร (ประมาณ 0.17 กรัม) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร
- เติม 0.5 โมลาร์โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล 4 มิลลิลิตร ตามด้วยแท่งกวนแม่เหล็กขนาดเล็ก จากนั้นนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ เป็นเวลา 30 นาที
- หลังจากนั้นเติม 4:1ไฮโดรคลอริก : เมทานอล 1.6 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ต่อ 30 นาที
- ทิ้งตัวอย่างให้เย็นก่อนนำตัวอย่างใส่ในกรวยสกัดขนาด 50 มิลลิลิตร และทำการสกัดโดยการเติมน้ำ 8 มิลลิลิตร ตามด้วยเฮกเซน 6 มิลลิลิตร สังเกตสารละลายจะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น โดยชั้นบนเป็นเฮกเซน ชั้นล่างเป็นน้ำ
- ไขชั้นล่างออกมาทำการสกัดอีก 2 รอบ โดยใช้เฮกเซน 5 และ 4 มิลลิลิตร นำส่วนที่เป็นชั้นเฮกเซน เติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อกำจัดน้ำซึ่งอาจจะปนเปื้อนมาจากขั้นตอนการสกัด
- นำสารละลายที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองเมมเบรน ชนิด PTFE ขนาด 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID (วราภรณ์ รัศมีผะกาย, 2559)

2) เครื่องมือและสภาวะการทดสอบ

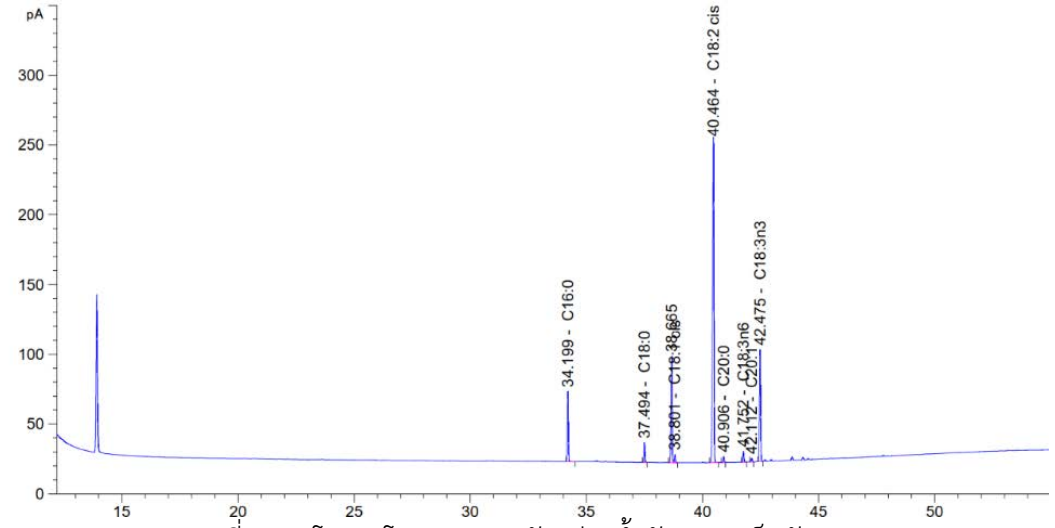
เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น Agilent 8890 GC equipped with ALS สภาวะ ในการแยกดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 3.3 สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีสำหรับการทดสอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์

<table>
<tr><td>Column</td><td colspan="3">Capillary Column SP-Sill 88 for FAME 100 x 0.25 mmx 0.2 µm ยี่ห้อ Agilent J&W</td></tr>
<tr><td>Carrier gas</td><td colspan="3">Helium, 1 mL/min Constant Flow</td></tr>
<tr><td>Injection Volume</td><td colspan="3">1 µL</td></tr>
<tr><td>Inlet</td><td colspan="3">SS/SSL at 220 °C</td></tr>
<tr><td>Spilt mode</td><td colspan="3">Spilt Flow 21.55: 1 mL/min</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Oven Temperature</td><td>Rate (°C/min)</td><td>Temperature (°C)</td><td>Hold time (min)</td></tr>
<tr><td></td><td>80</td><td>0</td></tr>
<tr><td>4</td><td>220</td><td>5</td></tr>
<tr><td>4</td><td>240</td><td>15</td></tr>
<tr><td>Run time</td><td colspan="3">60 min</td></tr>
<tr><td>Detector</td><td colspan="3">FID temperature at 240 °C
Hydrogen 40 mL/min
Air zero 400 mL/min
Make up gas (Nitrogen) 25 mL/min</td></tr>
</table>



ภาพที่ 3.9 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จำนวน 37 องค์ประกอบ



ภาพที่ 3.10 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

Iodine Value และ Saponification number

ค่า Iodine Value (IV) และ Saponification number (SN) สามารถวิเคราะห์ได้ตามสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งการคำนวณพิจารณาจากโครมาโทแกรมของ Fatty Acid profiles ตามงานวิจัยของ Panpraneecharoen & Chumanee, 2020 [6]

$$IV = \sum \left(\frac{254xDxA_i}{MW_i} \right) \quad (1)$$

$$SN = \sum \left(\frac{560xA_i}{MW_i} \right) \quad (2)$$

เมื่อ

Ai คือ เปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของกรดของกรดไขมันแต่ละชนิด

D คือ จำนวนพันธะคู่ขององค์ประกอบกรดไขมันแต่ละชนิด

MWi คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลขององค์ประกอบกรดไขมันแต่ละชนิด

ตารางที่ 3.4 ผลการทดลองของ Iodine Value และ Saponification number

ตัวอย่างน้ำมัน	**Iodine Value (g I_2/100g oil)**	**Saponification number (mg KOH/g oli)**
น้ำมันจากเมล็ดกัญชง	180.84±0.14	201.11±0.34

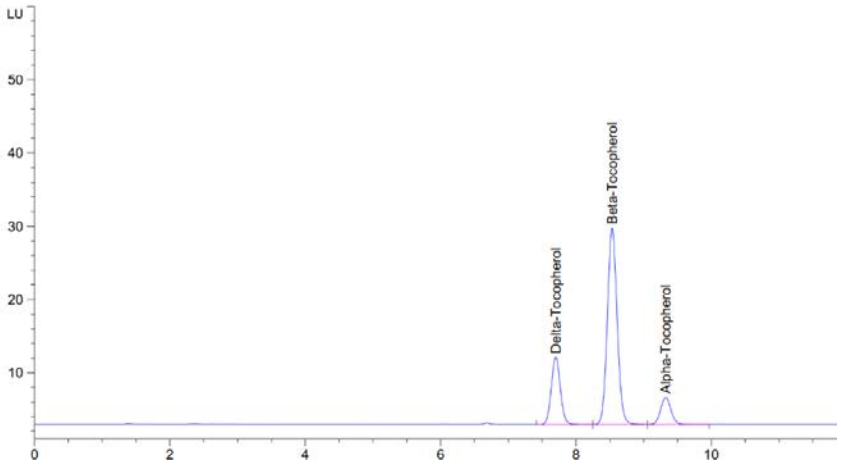
3.3.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี (Tocopherol) ในน้ำมันเมล็ดกัญชง

ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของน้ำมันตัวอย่างอยู่ระหว่าง 0.1000 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติม 2-โพรพานอล 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องคลื่นความถี่สูง 5 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเมมเบรนชนิด PTFE ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

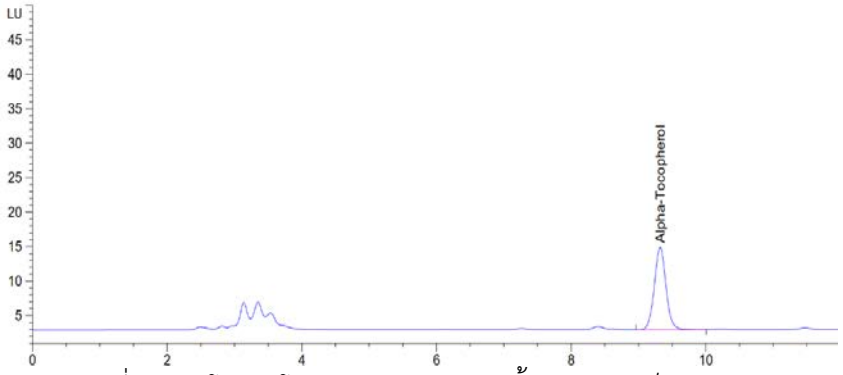
1) เครื่องมือและสภาวะการทดสอบ

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) รุ่น Agilent series 1260 พร้อมด้วย Fluorescent Detector เครื่องประกอบไปด้วย degasser (G1311C), Quaternary pump VL (G1311C), auto sample (G1329B), oven column (G1316A), Fluorescent Detector (G1321C) ระบบการควบคุม และการประมวลผล ใช้ซอฟต์แวร์ OpenLAB CDS ChemStation เวอร์ชั่น C.01.07 ผลิตจาก บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา สภาวะในการวิเคราะห์ตามงานวิจัยของ Panpraneecharoen & Chumanee, 2022 [7] ใช้เฟสอยู่กับที่แบบ reversed phase ชนิดคอลัมน์

ที่ใช้ C18 รุ่น InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (150 mm x 4.6 mm ID, 2.7 µm), อุณหภูมิของคอลัมน์ 25C เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ อะซีโตไนไตรล์ : 2-โพรพานอล (75:25, v/v), อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรในการฉีดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัดแบบ Fluorescent Detector ตั้ง excitation ที่ 296 นาโนเมตร และ emission 330 นาโนเมตร ใช้เวลาในการแยก 13 นาที



ภาพที่ 3.11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานโทโคฟีรอลที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3.12 โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

ตารางที่ 3.5 ปริมาณของโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

ตัวอย่างน้ำมัน	**Tocopherol (µg/g oil)**			
	δ-	β-+γ-	α-	Total
น้ำมันจากเมล็ดกัญชง	ND	ND	1156.42±2.70	1156.42±2.70

หมายเหตุ ND = not detected

การคำนวณ

$$\mu g/g \text{ oil} = \frac{Cs_{(\mu g/mL)} \times V_{(mL)}}{W_{(g)}} \times d.f$$

โดยที่ Cs = ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน (µg/mL)

V = ปริมาตรของตัวอย่าง (mL)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

d.f = ปริมาตรการเจือจาง (เจือจางตัวอย่าง 5 เท่า)

3.3.2 การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

3.3.2.1 การเตรียมส่วนประกอบในสูตรตำรับ

ส่วนที่ 1 น้ำกลั่น

Niacinamid

Glycerine

Sodium PCA

ส่วนที่ 2 น้ำมันเมล็ดกัญชง

TWEEN 20

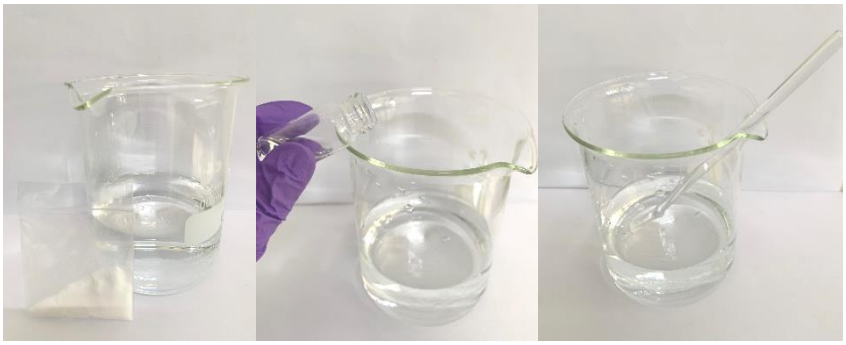
ส่วนที่ 3 Aquagel

Isododecane

Simugel

ขั้นตอนการทำ

- เตรียมสารส่วนที่ 1 โดยละลาย Niacinamid ในน้ำกลั่น เติม Glycerine และ Sodium PCA คนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

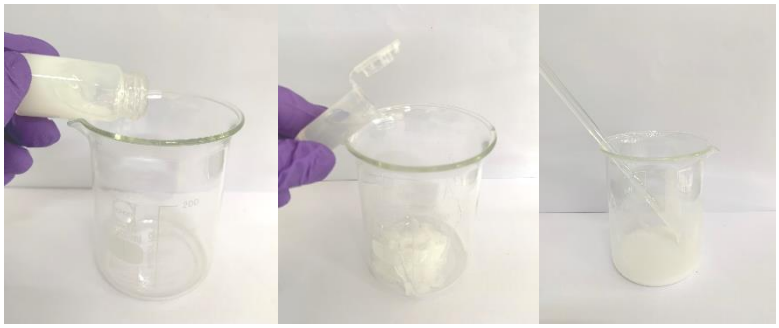


ภาพที่ 3.13 การเตรียมสารส่วนที่ 1 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

- เตรียมสารส่วนที่ 2 ส่วนของสารสกัดน้ำมันเมล็ดกัญชง โดยละลายน้ำมันเมล็ดกัญชงกับ TWEEN 20 ที่ความเข้มข้น 1%, 2% และ 3%

ภาพที่ 3.14 การเตรียมสารส่วนที่ 2 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

- เตรียมสารส่วนที่ 3 ได้แก่ Aquagel, Isododecane และ Simugel คนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน



ภาพที่ 3.15 การเตรียมสารส่วนที่ 3 ในการทำผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

- นำส่วนที่ 1 เทลงในส่วนที่ 3 คนให้ละลายเข้ากัน แล้วเติมส่วนที่ 2 คนผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้เนื้อครีมสีขาวครีม ออกเหลืองเล็กน้อยจากสีของน้ำมันเมล็ดกัญชง และมีความเงาเล็กน้อย บรรจุในบรรจุภัณฑ์เพื่อนำส่งตรวจวิเคราะห์

ภาพที่ 3.16 การเตรียมสารทั้งส่วนที่ 3 และบรรจุเพื่อนำส่งตรวจวิเคราะห์

- นำตัวอย่างต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง จำนวน 3 กระปุก (ความเข้มข้น 1%, 2% และ 3%) ทดสอบที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ระหว่างวันที่ 19 กรกฎาคม 2566 ถึง วันที่ 8 สิงหาคม 2566 หมายเลขทดสอบ 66/0159

3.3.2.2 การตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

การตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง ประกอบด้วยการตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด การตรวจจำนวนยีสต์และราทั้งหมด การตรวจความเป็นกรด-ด่าง การตรวจปริมาณสารละลายได้ทั้งหมด และการตรวจเชื้อสแตฟฟิโลค็อกคัส ออเรียส โดยมีตัวอย่างที่ส่งตรวจจำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง ที่มีความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%, 2% และ 3% ตรวจโดยศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ได้ผลการทดสอบ ดังนี้

ตารางที่ 3.6 รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

รายการทดสอบ	วิธีการทดสอบ	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง2%	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 3%	หน่วย
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	In-house methods: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF., 23rd ed.,2017 Part 9215 A	ND	ND	ND	CFU/g
จำนวนยีสต์และราทั้งหมด	FAD BAM Online, 2001, Chapter 18	ND	ND	ND	CFU/g
ความเป็นกรด-ด่าง	In-house method: WI-101-SCl-01 based on Standard Methods for	6.16	6.10	6.06	-

รายการทดสอบ	วิธีการทดสอบ	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง2%	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 3%	หน่วย
	the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA and WEF, 23rd ed., 2017.Part 4500-H+B				
ปริมาณสารละลายได้ทั้งหมด	In-house method: เครื่องวัดค่า TDS	3,324	3,226	3,156	Mg/L
สแตฟฟิโล-ค็อกคัสออเรียส (Staphylococcus aureus)	In-house methods: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF., 23rd ed.,2012	ND	ND	ND	CFU/g

หมายเหตุ: ND (not detected): ตรวจไม่พบ

3.4 โครงการย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง

3.4.1 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1.1 การเตรียมสารสกัดจากใบกัญชงแห้ง

เตรียมใบกัญชงเพื่อใช้ในการสกัดสารสำคัญในการทดสอบองค์ประกอบทางเคมี โดยเก็บใบกัญชงซึ่งได้จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา โดยใช้ใบมาผึ่งลมให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำมาบดด้วยเครื่องบดแบบละเอียด ขนาดของตะแกรงบดเบอร์ 80 จะได้ผงละเอียดของใบกัญชงเพื่อใช้ในการสกัดสารสำคัญในการทดสอบต่อไป สกัดสารจากใบกัญชงโดยใช้วิธีทางเคมี (Ethanolic Extract) นำผงละเอียดของใบกัญชงชั่งน้ำหนัก ปริมาณ 150 กรัม เพื่อนำมาหมักด้วย 95% เอทานอล ปริมาณ 1500 มิลลิลิตร (1:10 w/v) โดยแบ่งเป็น 3 ครั้ง ครั้งละ 500 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาให้สนิท ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน โดยคนให้เข้ากันทุกวัน เพื่อให้สกัดสารสำคัญได้มากที่สุด จากนั้นกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 นำกากที่ ได้จากการกรองมาทำการหมักซ้ำ 2 รอบ นำสารสกัดทั้งหมดที่ได้จากการกรอง นำมารวมกันและใช้เครื่อง Rotary Evaporator ในการแยก 95% เอทานอลออกจากตัวอย่าง ซึ่งจะได้สารลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ 95% เอทานอลระเหยออกจากตัวอย่าง จากนั้นทำการชั่งสารเพื่อคำนวณหาร้อยละของสารที่สกัดได้ และเก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

ภาพที่ 3.17 ขั้นตอนและกระบวนการในการเตรียมสารสกัดจากใบกัญชง

3.4.1.2 การทดสอบปริมาณสาร THC จากสารสกัดใบกัญชง

นำสารสกัดบริสุทธิ์ที่แยกสกัดได้มาเป็นสารมาตรฐานเพื่อศึกษาหาชนิดและอัตราส่วนที่เหมาะสมของ mobile phase ที่ใช้ในการแยกสารออกฤทธิ์ เช่น เมทานอล อะซิโตไน

ไตรท์ และน้ำ (การเลือกใช้ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ การทำงานของการแยกสารด้วยเครื่อง HPLC ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัดได้) การใช้เครื่อง HPLC สำหรับแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่างสารสกัดจากใบกัญชง โดยกระบวนการแยกสารประกอบในตัวอย่างเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือเฟสอยู่กับที่ (column) ซึ่งในการทดลองใช้ Inertsil ODS-3 (4.6 X 250 มิลลิเมตร , ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คืออะซิโตไนไตรท์ผสมกรดอะซิติกร้อยละ 0.1 สารในตัวอย่างจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน โดยสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ mobile phase หรือ stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับ mobile phase จะเคลื่อนที่ผ่าน column ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้เร็วสารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ stationary phase จะเคลื่อนที่ผ่าน column ได้ช้าก็จะถูกแยกออกมาหลัง สารที่ถูกแยกออกมาได้แล้วจะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด UV 284 nm

3.4.1.3 การตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบกัญชง

วิเคราะห์หาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยนำสาร DPPH มา 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยร้อยละ 99.9 แอบโซลูทเอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้โทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.0000, 0.0004, 0.0011, 0.0021, 0.0043 และ 0.0086 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เริ่มการทดลองโดยการเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ค่า 50% effective concentration หรือ EC_{50} ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อมิลลิลิตร ดังสมการ ดังนี้

ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) = $[(A_o - A_e) / (A_o - A_{bg})] \times 100$

A_o คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (ค่าเฉลี่ย Blank)

A_e คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

A_{bg} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ background

ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า EC_{50} คือ ปริมาตรของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

3.4.1.4 การตรวจหา Vitamin E จากสารสกัดใบกัญชง

วิธีการทดสอบ Vitamin E โดยอ้างอิงวิธีการทดสอบจาก In house method based on Asean Food Journal and J.of Food Composition and Analysis 18 (2005). Detected by HPLC

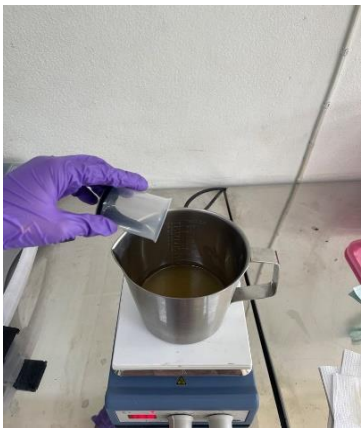
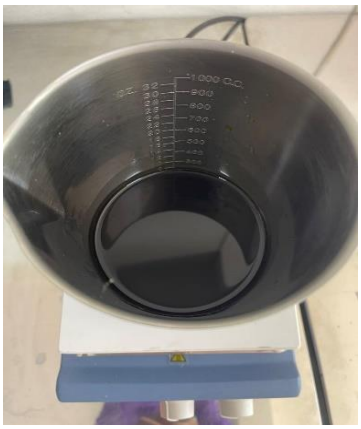
เตรียมสารมาตรฐานของ gamma Oryzanol ทั้งหมดและองค์ประกอบหลัก ได้แก่ y-oryzanol, cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate,และ campesteryl ferulate.โดยถูกทำให้บริสุทธิ์จากน้ำมันปาล์มที่มีความเข้มข้นและอุดมไปด้วย tocotrienol โดยใช้ C18 Sep-Pak Cartridges (น้ำ) และ C_{18} column ที่มีสัดส่วน (4.6 X 250 มิลลิเมตร. , ขนาดอนุภาค5 ไมโครเมตร , น้ำ) จากนั้นเติมตัวทำละลายอินทรีย์ของอะซิโตไนไตรล์: เมทานอล (4:1) ที่ตัวทำละลาย 1 มิลลิลิตร/น้ำมันปาล์ม 20 มิลลิกรัม เพื่อสกัด ให้ได้สารสกัด tocotrienol โดยทำการผสมให้เข้ากันด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของสารสกัดหรือการปั่นเหวี่ยง เป็นเวลา 5 นาที ในปริมาณ 750 กรัม โดย 1 มิลลิลิตร ของสารสกัดส่วนบนที่ถูกระเหยจะเกิดการอัดแน่นและถูกละลายในอะซีโตไนไตรล์ 100 % และบรรจุใน C18 Sep-Pak Cartridges ที่ถูกปรับสมดุลครั้งแรกด้วยอะซีโตไนไตรล์ 100 % จากนั้นชะล้าง T3s ด้วยอะซีโตไนไตรล์ 100 % 2 มิลลิลิตร ซึ่งขั้นตอนนี้จะช่วยกำจัด α-T มากกว่า 80% จากสารสกัด ซึ่งสารที่ถูกชะล้างจะถูกแยกอยู่บน C_{18} column ด้วยเฟสเคลื่อนที่เริ่มต้นที่ 75% อะซีโตไนไตรล์และ 25% เมทานอลเป็นเวลา 10 นาที แบะการไล่ระดับสีจะเพิ่มขึ้นเป็น 85% เมทานอลใน 9 นาที อัตราการไหลคือ 1.2 มิลลิลิตร/นาที โดย T3s ทั้งหมดจะถูกชะล้างออกก่อน 10 นาทีและสารประกอบแต่ละชนิดถูกรวบรวม ซึ่ง α-T ถูกชะออกไปที่นาทีที่ 18 ความบริสุทธิ์และความเสถียรของมาตรฐาน Ts และ T3s สามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงผ่าน RP-HPLC และค่ามาตรฐาน $E_{1cm}^{1\%}$ สามารถวัดได้โดยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer รุน VARIAN Cary 50 Conc ช่วงปริมาณของแต่ละมาตรฐานจะแสดงอยู่ในตารางที่ 1 ซึ่งการหาค่า Response factor ของสารนั้นๆ ค่า Response factor สามารถหาได้จากการฉีดสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอนและเท่ากันของสารที่ต้องการหาปริมาณทุกตัวในสารผสมแล้วนำมาหาอัตราส่วนของค่าที่นับได้ เทียบกับสารตัวใดตัวหนึ่งในสารมาตรฐานผสม จากนั้นวัดขนาดของ δ-T , γ-T3 และ α-T ในแต่ละพีค แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานโดยการพลอตระหว่างขนาดของพีค โดย γ-oryzanol ถูกหาปริมาตรเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งสัมพันธ์กับปริมาตร γ-oryzanolทั้งหมดกับพื้นที่พีกรวมของค่าการดูดกลืนแสง UV

3.4.1.5 การเตรียมทำผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มจากสารสกัดใบกัญชง

ชั่ง Candelilla wax, Carnauba wax, Microcrystalline wax, Bee wax, Shea butter, Castor oil และ Coconut oil ชั่งสารใส่รวมกันในบีกเกอร์ นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนที่ 100-125 องศาเซลเซียส บน Hot plate จนสารหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารสกัดใบกัญชงเติมลงไปในบีกเกอร์และคนให้เข้ากัน เมื่อเนื้อลิปบาล์มหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ลดอุณหภูมิ Hot plate ลง เมื่ออุณหภูมิลดลงอยู่ที่ 50-60 องศาเซลเซียส เติมสารที่เหลือลงไปในบีกเกอร์และคนเนื้อลิปบาล์มให้เข้ากัน จากนั้นนำลิปบาล์มที่ได้จากการหลอมเทลงในหลอดลิปบาล์ม โดยวางทิ้งไว้จนกว่าจะเซตตัวและอุณหภูมิเย็นลง แล้วนำไปตรวจคุณลักษณะทางเคมี ทางกายภาพและปริมาณเชื้อต่อไป

ตารางที่ 3.7 สูตรต้นแบบลิปบาล์ม

ชื่อทางการค้า	**INCI name**	**ปริมาณ (กรัม)**
1.Candelilla wax	Candelilla Wax	2.5
2.Carnauba wax	Carnauba Wax	2.5
3.Microcrystalline wax	Microcrystalline Wax	1.25
4.Beeswax	Beeswax	5.5
5.Shea Butter	Shea Butter (Butyrospermum Parkii) Butter	13.15
6.น้ำมันละหุ่ง	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	50
7.น้ำมันมะพร้าว	Cocos nucifera (Coconut) Oil	24
8.สารสกัดใบกัญชง	Cannabis sativa (Hemp) Leaf (Dried)	0.1

ภาพที่ 3.18 ขั้นตอนในการทำผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์ม

3.4.1.6 การตรวจคุณลักษณะทางเคมี ทางกายภาพและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา

ขั้นตอนและวิธีการทดสอบเป็นการประยุกต์จากตำราบริทิชฟาร์มาโคเปีย ฉบับ ค.ศ.2020 (British Pharmacopoeia 2020) และตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยฉบับปี พ.ศ. 2563 (Thai Herbal Pharmacopeia 2020)

1) การตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (Total Aerobic Microbial Count)

1.1) การตรวจสอบคุณสมบัติอาหารเพาะเชื้อและคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง

1.1.1) การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทดสอบแต่ละสายพันธุ์ในแต่ละหลอดของ fluid soybean casein digest medium (FSCDM) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเจือจางด้วย FSCDM ให้ได้จำนวนเชื้อมีชีวิตประมาณ 1,000 CFU/ml แล้วนำมาผสมกันโดยใช้ปริมาตรเท่ากันทุกสายพันธุ์

1.1.2) การตรวจสอบคุณสมบัติอาหารเพาะเชื้อ

เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 ในปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุ FSCDM หลอดละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ดูผลโดยดูความขุ่นของอาหารเพาะเชื้อ ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ

1.1.3) การตรวจสอบคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง

เติมตัวอย่าง 10 กรัม หรือ 10 มิลลิลิตร ลงใน FSCDM ให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดตัวอย่างซึ่งเจือจาง 1:10 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่บรรจุ FSCDM 9 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 ลงไปหลอดละ 0.4 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่น ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ ถ้าเชื้อไม่เจริญแสดงว่าตัวอย่างมีการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

2)การตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน

2.1) ตัวอย่างตรวจที่ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

เติมตัวอย่าง 10 กรัม หรือ 10 มิลลิลิตร ลงใน FSCDM ให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันได้เป็นตัวอย่างเจือจาง 1:10 แล้วนำมาเจือจางต่อใน FSCDM ให้ได้ความเข้มข้น 1:100 และ 1:1000 เตรียมหลอดที่บรรจุ FSCDM หลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 12 หลอด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 หลอด เติมตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น (1:10, 1:100, 1:1000) ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเพาะเชื้อแต่ละกลุ่ม เติม FSCDM 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเพาะเชื้อกลุ่มสุดท้ายที่เหลือ 3 หลอด ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่นนับจำนวนหลอดในแต่ละกลุ่มที่มีเชื้อเจริญ นำค่าที่ได้ไปหาจำนวนจุลินทรีย์ สำหรับกลุ่มสุดท้ายซึ่งเติม FSCDM ต้องไม่มีเชื้อเจริญ

2.2) ตัวอย่างตรวจที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

ทำวิธีเดียวกับข้อ 2.1 ตัวอย่างตรวจที่ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ แต่ใช้อาหารเพาะเชื้อคือ FSCDM ซึ่งมี soy lecithin 0.5% และ polysorbate 80 4.0% พร้อมทั้งทดสอบผลของ soy lecithin และ polysorbate 80 ในการยับยั้งฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง โดยเติมตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุ FSCDM ซึ่งมี soy lecithin และ polysorbate 80 9 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้ลงไปหลอดละ 0.4 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่น ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ

3.4.1.7 การตรวจสอบจำนวนของยีสต์และรา (Total Combined Yeast & Molds Count)

ดูดตัวอย่างความเข้มข้น 1:10 1:100 และ 1:1000 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ความเข้มข้นละ 2 จาน เท Sabouraud dextrose agar ซึ่งได้หลอมเหลวและทิ้งให้มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อ ผสมตัวอย่างให้เข้ากับอาหารเพาะเชื้อโดยหมุนจานเพาะเชื้อเบาๆแล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเพาะเชื้อแข็ง จึงนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ดูผลว่ามียีสต์และราเส้นใยเจริญขึ้นหรือไม่

3.4.1.8 การตรวจหาเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Clostridium* spp. , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus*

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (หรือ 10 กรัม ถ้าตัวอย่างเป็นของแข็ง) ใส่ลงอาหารเพาะเชื้อแต่ละชนิดให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ดังนี้

1) Fluid soybean casein digest medium
2) Fluid lactose medium
3) Cooked meat medium

ต้องอุ่นตัวอย่างที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 2-3 นาที และทิ้งให้เย็นก่อนเติมตัวอย่าง หลังเติมตัวอย่างแล้วต้องนำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที รอให้เย็นลงและเท sterile paraffin ลงบนอาหาร

Fluid soybean casein digest medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพร บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วถ่ายลงบนอาหาร ดังนี้

1. Manitol-salt agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญ สีเหลืองและมีโซนรอบสีเหลือง นำเชื้อที่เจริญมาย้อมสีกรัม ถ้าติดกรัมบวก รูปกลม เรียงตัวรูปพวงองุ่นและยืนยันผลโดยการทดสอบ coagulase test ให้ผลบวก แสดงว่าพบเชื้อ *Staphylococcus aureus*
2. Cetrimide agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญ ลักษณะโคโลนีสีเขียว และทดสอบต่อโดยเพาะลงบน Pseudomonas agar medium for detection of fluorescin และ Pseudomonas agar medium for detection of pyocyanin บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 3 วัน ดูการเจริญของเชื้อภายใต้แสง UV ถ้าเกิดการเรืองแสงและทดสอบ oxidase test ให้ผลบวกแสดงว่าพบเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ให้ทดลองยืนยันผลเปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน

Fluid lactose medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพรและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5-9 ชั่วโมง ดูดอาหารเพาะเชื้อนี้ใส่ลงในหลอดทดลองบรรจุ fluid selenite – cysteine medium 10 มิลลิลิตร และหลอดทดลองบรรจุ fluid tetrathionate medium 10 มิลลิลิตร หลอดละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 12-24 ชั่วโมง และถ่ายอาหารจากแต่ละหลอดลงเพาะในจานอาหารเพาะเชื้อแต่ละชุด คือ

ก) Brilliant green agar
ข) Xylose-lysine-deoxycholate agar
ค) Bismuth sulfide agar medium

บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญบน Brilliant green agar จะมีขนาดเล็กใส ไม่มีสีหรือสีชมพูล้อมรอบด้วยโซนสีแดงหรือชมพู Bismuth sulfile agar จะมีสีดำหรือสีเขียว Xylose-lysine-deoxycholate agar จะมีสีแดงที่อาจจะมีหรือไม่มีจุดดำอยู่ตรงกลางและยืนยันผลโดยการ streak และ stab ลงใน butt-slant triple sugar-iron agar medium ถ้าพบเชื้อเจริญและได้ผลเกิดด่าง (สีแดง) ที่ส่วน slants และกรด (สีเหลือง) ในส่วน butt โดยอาจจะมีหรือไม่มีสีดำจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟท์ แสดงว่าน่าจะพบเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* spp.

Fluid lactose medium ให้บ่มต่อข้ามคืนและเพาะบน Mac Conkey agar medium ในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง พบลักษณะโคโลนีสีชมพูหรือแดงล้อมรอบด้วยโซนของน้ำดีที่ตกตะกอนให้ทดสอบยืนยันผลโดยเพาะลงจานอาหารเพาะเชื้อที่มี Levine eosin-methylene blue agar และดูลักษณะโคโลนีภายใต้แสงไฟสะท้อน (refleted light) ถ้าโคโลนีมีลักษณะโลหะสะท้อน (metallic sheen) แสดงว่าเชื้อนี้ คือ *Escherichia coli*

Cooked meat medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพรข้างต้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทดสอบดูทุกชั่วโมง 4 วัน โดยเพาะลงบน defibrinated sheep blood agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยสภาวะ anaerobe นาน 48 ชั่วโมง ดูการเจริญของเชื้อและการสลายเม็ดเลือดแดง เขี่ยโคโลนีเชื้อลงใน defibrinated sheep blood agar ใหม่ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยสภาวะ anaerobe นาน 48 ชั่วโมง ดูผลการเจริญของเชื้อแล้วยืนยันผลโดยนำโคโลนีที่ได้เพาะลงใน defibrinated sheep blood agar ใหม่ 2 ชุด โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยสภาวะ anaerobe 1 ชุด และ anaerobe 1 ชุด นาน 24-48 ชั่วโมงและดูผล เชื้อต้องเจริญในสภาวะ anaerobe และไม่เจริญในสภาวะ aerobe นำเชื้อที่เจริญมาย้อมสีกรัม จะติดสีกรัมบวกรูปร่างเป็นแท่ง แสดงว่าเชื้อนี้คือ *Clostridium* spp.

3.5 โครงการย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

3.5.1 การเตรียมสารสกัดใบกัญชง

3.5.1.1 การอบใบกัญชง

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ขอความร่วมมือจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา ตำบลบ้านโคก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ (ภาพที่ 3.19) ที่ขายใบกัญชงสำหรับการศึกษาวิจัยจำนวน 5 กิโลกรัม ซึ่งส่วนใบกัญชงเป็นวัสดุเหลือใช้จากการปลูกกัญชง เพื่อเก็บเกี่ยวช่อดอก และเมล็ดไปใช้ประโยชน์เท่านั้น โดยนำใบกัญชงแบบสดไปผึ่งลมในห้องที่มีอุณหภูมิไม่ควรเกิน 20-40 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง เพื่อทำให้ใบกัญชงแห้ง และวัดความชื้นในใบกัญชงไม่เกินร้อยละ 10 (ภาพที่ 3.20)

ภาพที่ 3.19 ลักษณะต้นสดกัญชง (Hemp) ปลูกที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

Cannabis sativa L. subsp. Sativa

ภาพที่ 3.20 ใบกัญชง (Hemp) ที่ผ่านการอบแห้งแล้ว (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3.5.1.2 การลดขนาดและหมักผงใบกัญชง

เมื่อได้ใบกัญชงที่แห้ง และวัดความชื้นให้ไม่เกิน 10 % จากนั้นเข้าสู่การลดขนาดด้วยเครื่องบดผงสมุนไพรแบบละเอียด (ภาพ 3.21) แล้วนำไปร่อนผ่านแร่งเบอร์ 80 จนได้ผงใบกัญชงที่ละเอียด (ภาพ 3.22) จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 อัตราส่วนผงใบกัญชง 1 กรัมต่อเอทานอล 10 มิลลิลิตร ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้ผงใบกัญชงจำนวน 5 กิโลกรัม ใช้เอทานอล 50 ลิตร โดยชั่งผงใบกัญชงใส่ลงในหม้อสแตนเลส 2 ใบ ใบละ 2.5 กิโลกรัม และหมักกับเอทานอลรอบที่ 1 ใช้เอทานอล 10 ลิตร รอบที่ 2 ใช้เอทานอล 10 ลิตรและรอบที่ 3 ใช้เอทานอล 5 ลิตร ระยะเวลาในการหมักเอทานอล แบ่งออกเป็น 3 รอบๆ ละ 3 วัน (ภาพ 3.23) และหมั่นคนผงใบกัญชงที่หมักในเอทานอลร้อยละ 95 (ภาพ 3.24)

ภาพที่ 3.21 การลดขนาดใบกัญชง (Hemp) ด้วยเครื่องบดผงสมุนไพรแบบละเอียด
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.22 ผงใบกัญชง (Hemp) ที่ผ่านการบดแบบละเอียดเรียบร้อยแล้ว
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

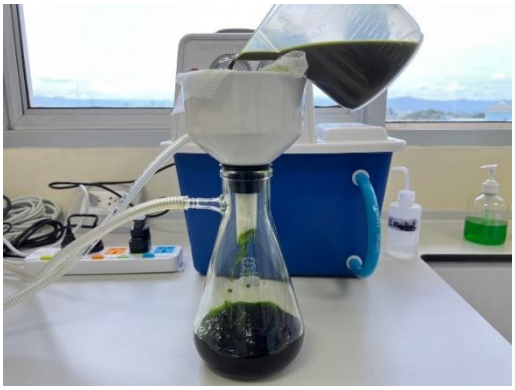
ภาพที่ 3.23 นำผงใบกัญชง (Hemp) เทลงหม้อสแตนเลสที่มีเอทานอล 95% ใช้ระยะเวลาหมัก 3 วัน
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.24 การคนผงใบกัญชง (Hemp) ที่หมักกับเอทานอล 95% หมั่นคนทุกวัน
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3.5.1.3 การกรองสารละลาย

หลังจากหมักผงใบกัญชงกับเอทานอลร้อยละ 95 ครบกำหนด 3 วันแล้ว ในแต่ละรอบนำผงใบกัญชงมากรอง โดยผ่านผ้าก็อซ (ภาพที่ 3.25) และกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 (ภาพ 3.26) โดยกรองใส่ขวด Duran สีชา (ภาพที่ 3.27) ส่วนกากใบกัญชงที่เหลือจากการกรองจะนำไปหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 รอบที่ 2 ปริมาณ 10 ลิตร หมักและกรองซ้ำ รอบที่ 3 เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาณ 5 ลิตรตามลำดับ (ภาพที่ 3.28) เพื่อให้ได้สารสำคัญจากสารสกัดใบกัญชงที่ครบถ้วนมากที่สุด (ภาพที่ 3.29)

ภาพที่ 3.25 ขั้นตอนการกรองสารละลายด้วยผ้าก๊อซเป็นการกรองรอบที่ 1
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)



ภาพที่ 3.26 ขั้นตอนการกรองสารละลายด้วยผ้าก๊อซและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 เป็นการกรองรอบที่ 2 (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.27 นำสารละลายที่กรองเรียบร้อยแล้ว เทใส่ขวด Duran สีชา
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.28 ขั้นตอนการหมักเอทานอลร้อยละ 95 กับกากใบกัญชงที่เหลือจากการกรอง ทำการหมักซ้ำจนครบ 3 รอบ (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.29 สารละลายใบกัญชงที่ผ่านการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 จำนวน 3 รอบ (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3.5.1.4 การระเหยตัวทำละลาย

เมื่อได้สารละลายใบกัญชงแล้ว นำมาระเหยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ออก ให้นำสารละลายใบกัญชงเทใส่ขวดแก้วกลม (ภาพที่ 3.30) และนำเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) (ภาพที่ 3.31) เพื่อระเหยเอทานอลร้อยละ 95 ออกโดยการกลั่นจนหนืดข้น จากนั้นนำเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนแบบแห้ง (Constant Temperature oven) ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยเอทานอลร้อยละ 95 ออกอีกรอบ (ภาพที่ 3.32) จนได้สารสกัดใบกัญชงที่เข้มข้นและมีน้ำหนักคงที่ (ภาพที่ 3.33)

ภาพที่ 3.30 นำสารละลายใบกัญชงเทใส่ขวดแก้วกลม เพื่อเตรียมเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.31 นำสารละลายใบกัญชงเทเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) เพื่อระเหยเอทานอล 95% ออก (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.32 สารสกัดใบกัญชงเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนแบบแห้ง (Constant Temperature oven) ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยเอทานอลร้อยละ 95 ออกอีกรอบ (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

ภาพที่ 3.33 ลักษณะของสารสกัดใบกัญชงที่เข้มข้นและมีน้ำหนักคงที่แล้ว
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3.5.2 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชง

3.5.2.1 วิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ

1) การทดสอบด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

วิเคราะห์หาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยนำ สาร DPPH มา 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยร้อยละ 99.9 แอบโซลูทเอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยมีกรดแอสคอร์บิคเป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เริ่มการทดลองจากการนำสารสกัดใบกัญชง ปริมาตร 20 ไมโครลิตรที่ความเข้มข้น 40, 80, 120, 160 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดใบกัญชง เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร แล้วนำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ ค่า 50% effective concentration หรือ EC_{50} ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิคต่อมิลลิลิตร ตามสมการ ดังนี้

ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) = $[(A_o - A_e)/ (A_o - A_{bg})] \times 100$

A_o คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (ค่าเฉลี่ย Blank)

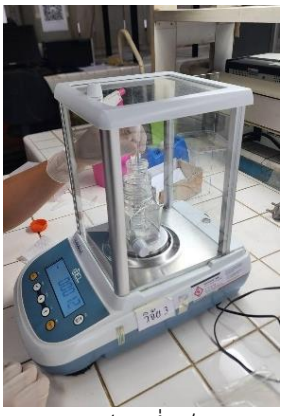
A_e คือ ค่าการดูดกลื่นแสงของสารละลายตัวอย่าง

A_{bg} คือ ค่าการดูดกลื่นแสงของ background

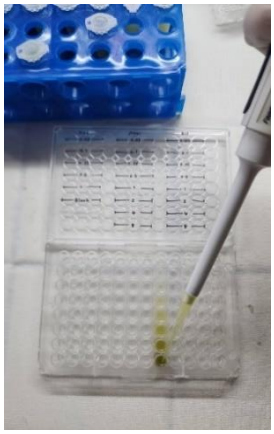
ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า EC_{50} คือ ปริมาตรของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

1. สารสกัดใบกัญชง

2. ละลายสาร DPPH จำนวน 1 มิลลิกรัม
ด้วยแอบโซลูทเอทานอล ร้อยละ 99.9 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร



3. ชั่งกรดแอสคอร์บิคซึ่งเป็นสารมาตรฐาน



4. เติมสารสกัดใบกัญชง ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงใน
ไมโครไตเตอร์เพลท

5. เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร
หลังจากนั้น นำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่
ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ภาพที่ 3.34 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชงด้วยวิธี DPPH
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

2) การทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

โดยมีสารละลาย FRAP reagent โดยเตรียมสารละลาย 0.25 โมลาร์ acetate buffer (pH 3,6), 10 mM 2,4,6-Tripyridyltriazine (TPTZ) และ 20 มิลลิโมลาร์ Femic chloride ในอัตราส่วน 10:1:1 โดยมีกรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เริ่มการทดลองจากการนำสารสกัดใบกัญชงปริมาตร 18 ไมโครลิตรที่ความเข้มข้น 20%, 40%, 60%, 80% และ 100% ของสารสกัดใบกัญชง เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 182 ไมโครลิตร แล้วตั้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรแล้วนำค่าที่ได้มาคำนวนในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิคต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัมของสารสกัด ตัวอย่าง

สูตรการคำนวณ $y = ax+b$

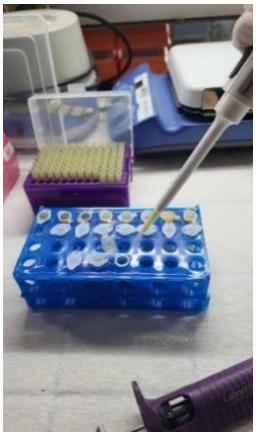
y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) = Blank - Sample - Control

a คือ Slop

x คือ ความเข้มข้นของ gallic acid ในหน่วย (ug/mL)

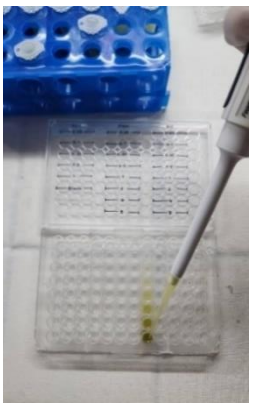
b คือ Intercept

1. สารสกัดใบกัญชง



2. นำสารสกัดใบกัญชงมาละลายให้ได้ความเข้มข้น 20%, 40%, 60%, 80% และ 100% ของสารสกัดใบกัญชง

3. เตรียมกรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



4. เติมสารสกัดใบกัญชง ปริมาตร 18 ไมโครลิตรลงในไมโครไตเตอร์เพลท

5. เตรียมสารละลาย FRAP reagent หลังจากนั้นเติมลงในหลุมปริมาตร 182 ไมโครลิตร ตั้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

ภาพที่ 3.35 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชงด้วย FRAP

(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3) สถิติใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้ ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (n=3) ต่อรายการทดสอบ จากการนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ S.D.) พร้อมทั้งนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS V.28

3.5.3 การทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

ตารางที่ 3.8 สารเคมีสำหรับทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

ส่วน	ชื่อทางการค้า	INCI name	ปริมาณ (g)
ส่วนที่ 1	1. DI water	กลั่นบริสุทธิ์	74.5
	2. Disodium EDTA	ช่วยให้สูตรมีความคงตัว สามารถเก็บได้ยาวนานขึ้น	0.1
	3. Allantoin	ลดการระคายเคือง ต่อต้านการแพ้ต่างๆ ของผิว และเสริมสร้างการสร้างเนื้อเยื่อ	0.4
	4. Butylene glycol	เป็นตัวทำละลาย มีความอ่อนโยนสูง ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวที่น้อยกว่า Propylene Glycol	3.5
	5. Glycerin	เป็นสารกักเก็บและดูดความชื้นสู่ผิว ที่ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนุ่มลื่นน่าใช้	3
	6. Vitamin B3	ช่วยลดริ้วรอย ลดรอยแดง/ดำ (hyperpigment) เพิ่มความชุ่มชื้น	2
	7. Vitamin B5	ให้ความชุ่มชื้น กักเก็บความชุ่มชื้น	2
ส่วนที่ 2	8. สารสกัดกัญชง	เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ	1
	9. Titanium Dioxide	เพิ่มความข้นหนืด ทำให้ผิวกระจ่างใส นุ่มลื่น และป้องกันแดดในเครื่องสำอาง	1
	10. น้ำมันมะพร้าว	ช่วยบำรุงผิวและผม	1
	11. Isopropyl Palmitate	ช่วยปรับผิวสัมผัส และให้สูตรเกลี่ยได้ง่าย	1
	12. Tween 20	สารประสานน้ำและน้ำมัน	1
	13. Isododecane	ทำให้เนื้อครีมนุ่มลื่น	3

ส่วน	ชื่อทางการค้า	INCI name	ปริมาณ (g)
	14. Viscolam AT 100P	สารประสานน้ำ-น้ำมัน	4
ส่วนที่ 3	15. Microcare PHC eq.	สารกันเสีย	1
	16. Vitamin E	ปกป้องผิวจากริ้วรอยและวัยที่เกิดขึ้นก่อนเวลา	0.5
	17. Tween 20	สารประสานน้ำและน้ำมัน	0.5
	18. น้ำหอม	Perfume	0.5
			100

1. DI water

2. Disodium EDTA

3. Allantoin

4. 1,3 butylene glycol

5. Glycerin

6. Vitamin B3

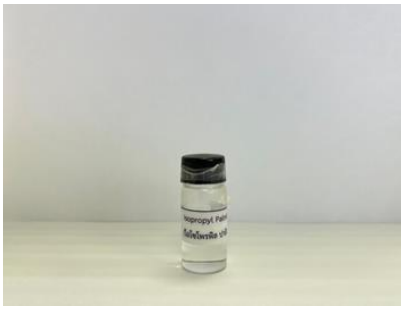
7. Vitamin B5

ภาพที่ 3.36 ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณ
จากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 1 (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

8. สารสกัดกัญชง

9. Titanium Dioxide

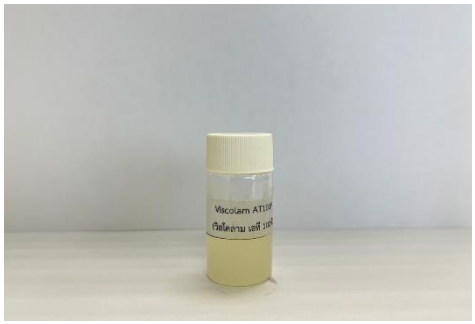
10. น้ำมันมะพร้าว



11. Isopropyl Palmitate

12. Tween 20

13. Isododecane

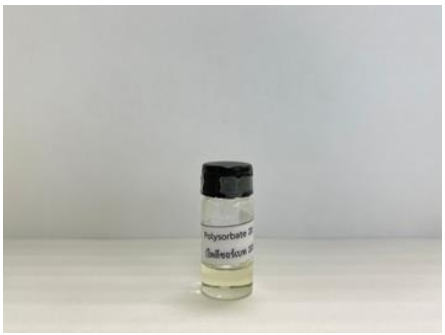


14. Viscolam AT 100P

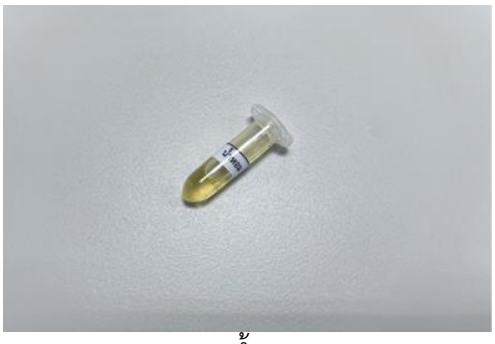
ภาพที่ 3.37 ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 2 (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

15. Microcare PHC eq.

16. Vitamin E



17. Tween 20



18. น้ำหอม

ภาพที่ 3.38 ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณ
จากสารสกัดใบกัญชง ส่วนที่ 3 (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

คุณสมบัติของส่วนประกอบ

1. DI water หรือ น้ำกลั่นบริสุทธิ์

2. Disodium EDTA สารจับประจุในน้ำ ป้องกันไม่ให้ประจุในน้ำ (ในกรณีที่ไม่ใช่น้ำกลั่น) มารบกวนส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บางตัวที่มีความอ่อนไหวต่อประจุ รวมถึงช่วยให้สูตรมีความคงตัว สามารถเก็บได้ยาวนานขึ้น

3. Allantoin ทำหน้าที่ ลดการระคายเคือง ต่อต้านการแพ้ต่างๆ ของผิว (soothing and anti-irritating) และเสริมสร้างการสร้างเนื้อเยื่อ (granulation tissue) ที่สมบูรณ์ขึ้นมาใหม่

4. Butylene glycol Solvent เป็นตัวทำละลาย มีความอ่อนโยนสูง ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวที่น้อยกว่า Propylene Glycol

5. Glycerin มีคุณสมบัติเป็นสารกักเก็บและดูดความชื้นสู่ผิว (Humectant), ตัวทำละลาย (solvent) และเป็นสารหล่อลื่น (emollient) ที่ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนุ่มลื่นน่าใช้

6. Vitamin B3 ช่วยลดริ้วรอย ลดรอยแดง/ดำ (hyperpigment) เพิ่มความชุ่มชื้น ด้วยการกระตุ้นให้ผิวสร้างคอลลาเจน และเซราไมด์ (ceramide) และยังทำให้ผิวแข็งแรง ต่อสู้กับการระคายเคือง (irritants) ต่างๆ ได้ดีขึ้น รวมถึงสามารถลดความมันบนใบหน้า (sebum excretion)

7. Vitamin B5 มีคุณสมบัติเป็น Humectant และ Moisturizer/ ให้ความชุ่มชื้น กักเก็บความชุ่มชื้น ทำหน้าที่เป็น humectant หรือสารกักเก็บความชื้นที่ดี ช่วยเป็นเกราะให้กับผิว (skin barrier) ป้องกันการสูญเสียความชื้น เหมาะอย่างยิ่งสำหรับผิวที่แห้ง โดยจะช่วยให้ความชุ่มชื้นปกป้องไม่ให้สูญเสียความชุ่มชื้น ให้ผิวนุ่มแล้วเพิ่มความยืดหยุ่นของผิว และบำรุงผิว ลดการอักเสบ ลดรอยแดง ลดอาการแพ้คัน ช่วยสมานแผล บรรเทาอาการคัน จากการแพ้ ลดรอยแดง ช่วยสมานแผลและเร่งการสร้างเนื้อเยื่อชั้นผิวใหม่ ลดการอักเสบของผิว เหมาะอย่างยิ่งสำหรับ ผิวที่เป็นสิว เป็นแผล เป็นผื่นคัน มีอาการแพ้ โดยจากผลการวิจัยพบว่า ช่วยยืดอายุของเซลล์ผิว (skin cell proliferation) ทำให้สมานแผลได้เร็วขึ้น และลดการเกิดแผลเป็น

8. สารสกัดใบกัญชง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ

9. Titanium Dioxide เพิ่มความข้นหนืด ทำให้ผิวกระจ่างใส นุ่มลื่น และป้องกันแดดในเครื่องสำอาง โดยมันปกป้องผิวจากรังสียูวีเอและบีและถือได้ว่าไม่ทำให้ผิวแพ้ระคายเคือง เนื่องด้วยความอ่อนโยนของสารดังกล่าว

10. น้ำมันมะพร้าว ช่วยบำรุงผิวและผม เป็นน้ำมัน Fractioned Coconut Oil มีน้ำหนักเบา สามารถซึมสู่ผิวได้ง่าย สามารถใช้ทาผิวโดยตรง และเหมาะสำหรับผสมร่วมกับน้ำมันสกัดธรรมชาติชนิดอื่นทุกชนิด รวมถึง essential oils และ fragrance oils โดยทำหน้าที่เป็นน้ำมันนำพา (carrier oil) ราคาไม่แพง และไม่เกิดการหืนหรือเสีย ให้ความรู้สึกดีต่อผิวเนื่องจากนุ่มลื่นชุ่มชื้น (smooth และ silky) แต่ไม่เหนอะหนะ (non-greasy) อ่อนโยนต่อผิวและรอบดวงตา (non-irritating)

11. Isopropyl Palmitate เป็น emollient ช่วยปรับผัวสัมผัส และให้สูตรเกลี่ยได้ง่าย

12. Tween 20 สารประสานน้ำและน้ำมัน

13. Isododecane เป็น Emollient ที่มีน้ำหนักเบาพิเศษ สามารถระเหยออกจากผิวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ไม่ทิ้งความเหนอะหนะไว้บนผิว และสามารถละลายได้ใน silicones, hydrocarbons, isoparaffin โดยไม่ละลายในน้ำ เหมาะสำหรับใช้แทนน้ำมันในสูตร oil-free ที่ต้องการความเบาเป็นพิเศษ

14. Viscolam AT 100P สารประสานน้ำ-น้ำมัน โดยมีลักษณะเป็นของเหลว ใช้งานง่าย สามารถใช้ประสานได้ทั้ง hot-process และ cold-process

15. Microcare PHC eq. สารกันเสียประสิทธิภาพสูง เหมาะสำหรับใช้ทดแทน สารกันเสียกลุ่มพาราเบน

16. Vitamin E ทำหน้าที่ปกป้องเนื้อเยื่อเซลล์จากอนุมูลอิสระ สามารถปกป้องผิวจากริ้วรอยและวัยที่เกิดขึ้นก่อนเวลาอันควร

17. น้ำหอม เพิ่มกลิ่นหอมตามความต้องการ

3.5.3.2 ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

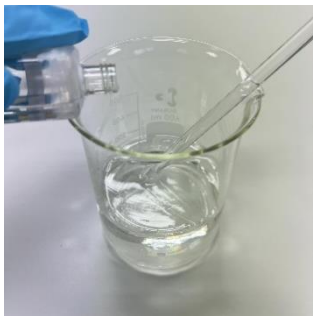
วิธีทำ

1. นำส่วนที่ 1 ใส่บีกเกอร์ จากนั้นเริ่มต้นการละลายข้อ 1 และ 2 คนให้ละลาย เติมข้อ 3 คนให้ละลาย ทำไปเรื่อย ๆ จนถึงข้อ 7 คนให้ละลาย
2. นำส่วนที่ 2 ตั้งแต่ข้อ 8-14 มาผสมให้เข้ากัน
3. นำส่วนที่ 1 เทลงในส่วนที่ 2 แล้วคนให้เข้ากัน
4. เติมส่วนที่ 3 คนให้เข้ากัน แล้วบรรจุขวด

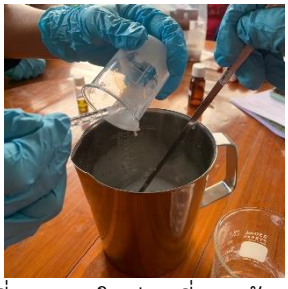
1. อุปกรณ์ในการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

2. นำส่วนที่ 1 ใส่บีกเกอร์ จากนั้นเริ่มต้นการละลายข้อ 1 และ 2 คนให้ละลาย

3. เติมข้อ 3 คนให้ละลาย ทำไปเรื่อยๆ



4. เติมข้อ 7 คนให้ละลาย



5. นำส่วนที่ 1 เทลงในส่วนที่ 2 แล้วคนให้เข้ากัน

6. ลักษณะเนื้อโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

ภาพที่ 3.39 ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

3.5.3.3 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

ภาพที่ 3.40 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

สถานที่ดำเนินงาน

1. อาคารเรียนรวมอเนกประสงค์ ชั้น 7 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
2. หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
3. ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
4. โรงตากพลังงานแสงอาทิตย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
5. ตึกบรรณราชนครินทร์ (ตึกสาขาวิชาการแพทย์แผนไทย) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ระยะเวลาดำเนินงาน

ระหว่าง มกราคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2566

บทที่ 4
ผลการวิจัย

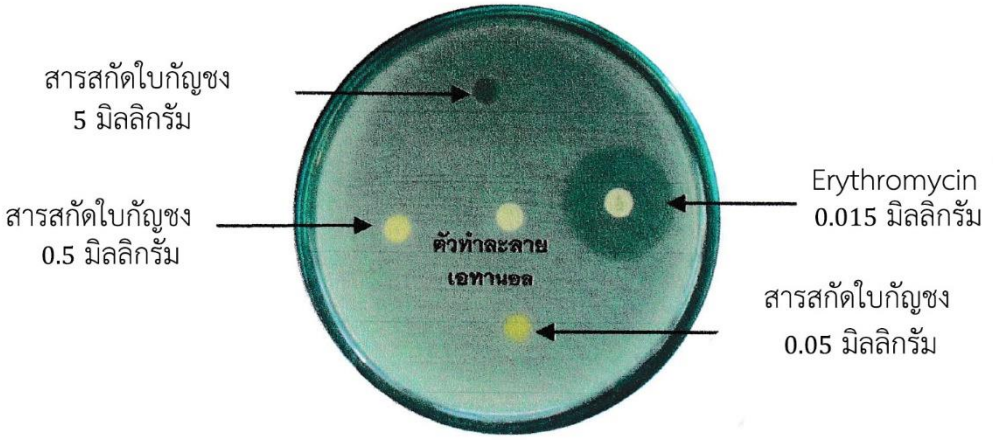
4.1 ผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

4.1.1 การสกัดใบกัญชง

เมื่อนำใบกัญชง มาบดด้วยเครื่องบดละเอียด จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก ปริมาณ 3000 กรัม จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน (ทำการแช่หมักซ้ำ 3 ครั้ง) ทำการกรองสารละลายโดยใช้ ผ้าก็อซและกระดาษกรอง Whatman No.1 ผ่านกรวยแก้ว จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบที่มีตัวทำละลายเป็น 95% เอทานอลโดยมีลักษณะทางกายภาพ คือเป็นของเหลว หนืดข้น สีเขียวเข้ม ซึ่งวัดปริมาตรหลังจากที่ได้ระเหยเอทานอลแล้ว จำนวน 600 มิลลิลิตร จากการหมักที่มีของเหลวปริมาตร 30 ลิตร เมื่อคำนวณค่าร้อยละผลผลิตจะได้ร้อยละ 20

4.1.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Disc Diffusion

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของตัวอย่างสารสกัดกัญชงในปริมาณ 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion (ภาพที่ 4.1) และมีขอบเขตยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ดังได้สรุปไว้ในตารางที่ 4.1 โดยตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin ในปริมาณ 0.015 มิลลิกรัม ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เท่ากับ 24.01 $\pm$ 0.81 มิลลิเมตร



ภาพที่ 4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion

ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ตัวอย่างจากสารสกัดใบกัญชง และยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion

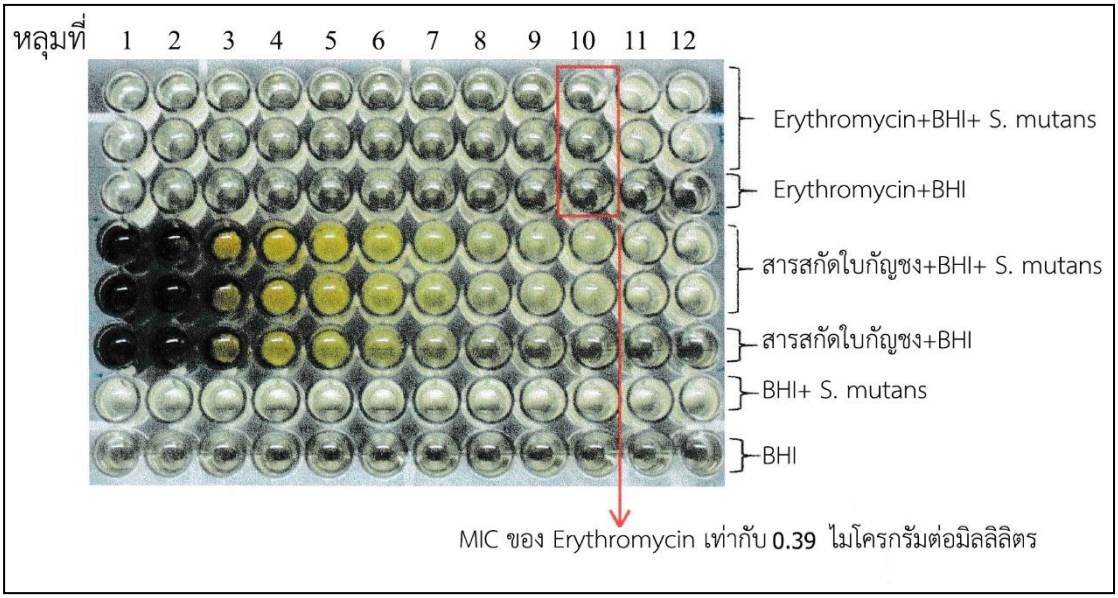
ตัวอย่าง	ปริมาณที่ทดสอบ (มิลลิกรัม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* (มิลลิเมตร)			
		Plate 1	Plate 2	Plate 3	ค่าเฉลี่ย ± SD
สารสกัดใบกัญชง	5	ND	ND	ND	ND
	0.5	ND	ND	ND	ND
	0.05	ND	ND	ND	ND
เอทานอล (negative Control)	10	ND	ND	ND	ND
Erythromycin (Positive Control)	0.015	24.89	23.31	23.82	24.01 + 0.81

หมายเหตุ : ND คือ Not Detected ไม่มีฤทธิ์ * แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD จากผลการทดลอง 3 ซ้ำ

จากผลการทดสอบ พบว่าตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*

4.1.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans*

ตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง ไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อเทียบกับ MIC ยามาตรฐาน Erythorimycin ซึ่งได้เท่ากับ 0.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยแสดง ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยวิธี Broth microdilution ของตัวอย่างสารสกัดใบกัญชง และยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin

4.1.4 ยาสีฟัน

เนื่องจากผลจากการตรวจเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ พบว่า สารสกัดใบกัญชง ไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันแบคทีเรีย *S. mutans* ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ปรับสูตรยาสีฟัน โดยเพิ่มสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นและปรับสูตรเพื่อให้ยาสีฟันนี้คุณสมบัติ ป้องกันการเกิดฟันผุได้เมื่อมีฟลูออไรด์เป็นส่วนประกอบ นอกจากนี้ ในชุดการศึกษาวิจัยนี้มีการตรวจหาการต้านอนุมูลอิสระ และพบว่าสารสกัดใบกัญชงนี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถเพิ่มสารสกัดลงในยาสีฟันเพื่อให้สามารถเพิ่มคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้

NATURAL
HEMP LEAVE EXTRACT
TOOTHPASTE
NATURAL PROTECTION
FOR YOUR TEETH
AND GUM

4.2 ผลการทดลองโครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม การวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ผลดังนี้

4.2.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์ใบกัญชงส่วนยอด ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกรวมส่วนใบเพสลาด มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.5491±0.0034 มากที่สุด รองลงมาส่วนใบอ่อน ใบแก่ และยอดมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.4255±0.0032, 0.3720±0.0050 และ 0.3250±0.0032 ตามลำดับ และปริมาณฟลาโวนอยด์ ใบอ่อนมีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 1.2226±0.0054 มากที่สุด รองลงมาส่วนยอด ใบเพสลาด และใบแก่ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ 1.2149±0.0057, 0.9465±0.0226 และ 0.4259±0.0019 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, $P > 0.05$)

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์

ตัวอย่าง	Phenolic content (mgGE/gDw)	Flavonoid content (mgQE/gDw)
ยอด	0.3250±0.0032	1.2149±0.0057
ใบอ่อน	0.4255±0.0032	1.2226±0.0054
ใบเพสลาด	0.5491±0.0034	0.9465±0.0226
ใบแก่	0.3720±0.0050	0.4259±0.0019

4.2.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ส่วนของใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนใบเพสลาด ใบอ่อน และยอด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.01, 1.86 และ 1.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า ใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนใบเพสลาด ใบอ่อน และยอด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.18, 0.15 และ 0.14 ตามลำดับ ความสามารถในการ

ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ส่วนใบอ่อน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนของยอด ใบเพสลาด และใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.13, 1.02 และ0.80 ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, $P > 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงผลวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP

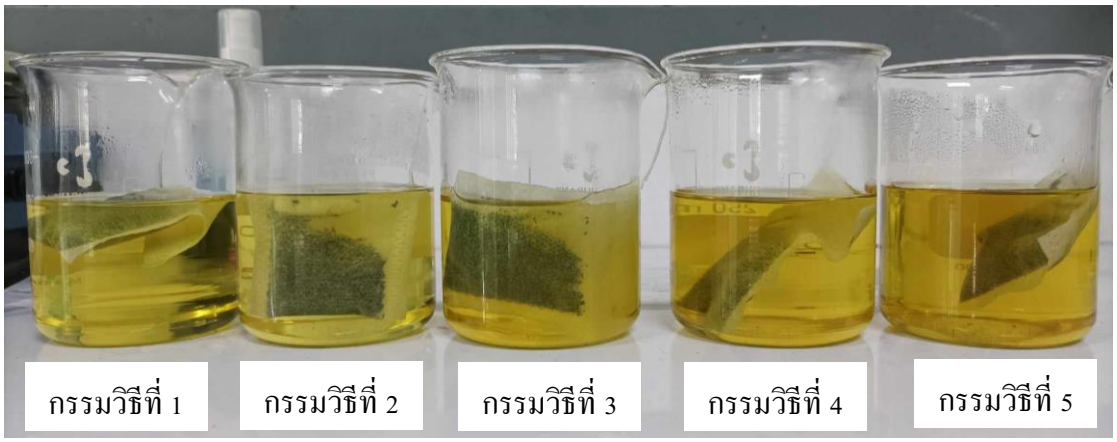
ตัวอย่าง	DPPH IC_{50} mg/mL	ABTS IC_{50} mg/mL	FRAP mgTE/gDw
ยอด	1.8024±0.0210	0.1433±0.0016	1.1365±0.0163
ใบอ่อน	1.8601±0.1176	0.1501±0.0013	1.4597±0.0341
ใบเพสลาด	2.0182±0.0470	0.1869±0.0006	1.0263±0.0296
ใบแก่	2.2882±0.0143	0.1959±0.0006	0.8043±0.0133
Ascorbic acid	0.0063±.0001	0.0061±0.0001	-
Trolox	0.0107±0.001	0.0177±0.0001	-

4.2.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง

4.2.2.1 ลักษณะทางกายภาพของชาใบกัญชง โดยการบรรจุลงในซองเยื่อกระดาษ ซองละ 1 กรัม แล้วบรรจุลงซองพลาสติกปิดให้สนิท เก็บในกล่อง ดังภาพที่ 4.3

ภาพที่ 4.3 แสดงผลิตภัณฑ์ชาจากใบกัญชง

4.2.2.2 ลักษณะสีและกลิ่นของชาใบกัญชง ชาใบกัญชงที่ผ่านการชงด้วยความร้อน มีสีเหลืองอ่อนและกลิ่นหอม ดังภาพ



ภาพที่ 4.4 แสดงสีของชาใบกัญชง

4.2.2.3 ปริมาณความชื้น การควบคุมปริมาณความชื้นของชาใบกัญชง ไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งแต่ละวิธีมีปริมาณความชื้น พบว่า กรรมวิธีการผลิตชาโดยภาพรวมมีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 พบว่า กรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง มีความชื้นร้อยละ 8.84 น้อยที่สุด และกรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชงตามคำแนะนำของกระทรวงสาธารณสุข มีความชื้นร้อยละ 9.28 มีความชื้นมากที่สุด ดังนี้

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณความชื้นกรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชง

กรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชง	**ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)**
1. กรรมวิธีการผลิตของกระทรวงสาธารณสุข	9.28
2. กรรมวิธีการผลิตชาเขียว	8.84
3. กรรมวิธีการผลิตชาฝรั่ง	8.62
4. กรรมวิธีการผลิตชาจีน	10.87
5. กรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง	8.47

4.3 ผลการทดลองโครงการย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง “ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง” ผู้วิจัยได้ศึกษาโดยตรวจวิเคราะห์น้ำมันเมล็ดกัญชง ก่อนนำพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้า แล้วนำผลิตภัณฑ์ต้นแบบไปตรวจวิเคราะห์ เพื่อนำมาสรุปและอภิปรายผล ได้ผลการศึกษาดังนี้

4.3.1 ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำมันเมล็ดกัญชง

4.3.1.1ผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน

ตารางที่ 4.5 กลุ่มของกรดไขมันของตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

Fatty acids in Crocodile Oil	**% Fat (of total fat)**
Saturated Fatty Acids (SAFA)	**น้ำมันจากเมล็ดกัญชง**
C16:0-Palmitic acid	8.75±0.06
C18:0-Stearic acid	2.54±0.004
C20:0-Arachidic acid	0.78±0.001
Monounsaturated Fatty Acids (MUFA)	
C20:1 (n-9)-cis-11-Eicosenoic acid	1.10±0.004
C18:1 (n-9)-Oleic acid (ω9FA)	0.52±0.001
Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)	
C18:2 (n-6)-Linoleic acid (ω6FA)	63.60±0.07
C18:3 (n-6)-γ-Linolenic acid	1.98±0.001
C18:3 (n-3)-α-Linolenic acid (ALA)	20.74±0.019
Saturated Fatty Acids (SAFA)	**12.07±0.059**
Monounsaturated Fatty Acids (MUFA)	**1.62±0.004**

Fatty acids in Crocodile Oil	% Fat (of total fat)
Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)	86.31±0.055
Total	100.00

จากตาราง 4.5 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันจากเมล็ดกัญชงพบกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ร้อยละ 12.07±0.059 ประกอบด้วย กรดปาล์มมิติก ร้อยละ 8.75±0.06, กรดสเตียริก ร้อยละ 2.54±0.004 และ กรดอะราคิดิก ร้อยละ 0.78±0.001 พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ร้อยละ1.62±0.004 ประกอบด้วย กรดอีโคซิโนอิก ร้อยละ 1.10±0.004 และกรดโอเลอิก ร้อยละ 0.52±0.001 และพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ร้อยละ 86.31±0.055 ประกอบด้วย กรดลิโนเลอิก ร้อยละ 63.60±0.07, กรดไลโนเลนิกแกมมา ร้อยละ 1.98±0.001 และกรดไลโนเลนิกอัลฟา ร้อยละ 20.74±0.019

4.3.1.2 การวิเคราะห์ Iodine Value และ Saponification number

ตารางที่ 4.6 ผลการทดลองของ Iodine Value และ Saponification number

ตัวอย่างน้ำมัน	Iodine Value (g I_2/100g oil)	Saponification number (mg KOH/g oil)
น้ำมันจากเมล็ดกัญชง	180.84±0.14	201.11±0.34

จากตาราง 4.6 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ Iodine Value (จำนวนกรัมของไอโอดีนต่อน้ำมันจำนวน 100 กรัม) พบว่า น้ำมันจากเมล็ดกัญชง 100 กรัม มีค่า Iodine Value 180.84±0.14 g I_2 และพบค่า Saponification number (จำนวนมิลลิกรัมของด่างที่ใช้ในทำปฏิกิริยากับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันอย่างสมบูรณ์ จำนวน 1 กรัม) 201.11±0.34 mg KOH/g oil

4.3.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี (Tocopherol) ในน้ำมันเมล็ดกัญชง

ตารางที่ 4.7 ปริมาณของโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

ตัวอย่างน้ำมัน	Tocopherol (µg/g oil)			
	δ-	β-+γ-	α-	Total
น้ำมันจากเมล็ดกัญชง	ND	ND	1156.42±2.70	1156.42±2.70

หมายเหตุ ND = not detected

จากตาราง 4.7 แสดงผลการการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี (Tocopherol) ในน้ำมันเมล็ดกัญชง ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำมันจากเมล็ดกัญชงไม่พบโทโคฟีรอลชนิดเดลตา (δ-), บีตา (β-) และแกมมา (γ-) ตรวจพบโทโคฟีรอลชนิดแอลฟา (α-) 1156.42±2.70 µg/g oil

4.3.2 ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชงเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ พบว่ามีลักษณะเป็นเนื้อครีม สีขาวครีมออกเหลืองจากสีของน้ำมันเมล็ดกัญชง มีความเงาเล็กน้อย มีกลิ่นเฉพาะจากสารสกัดที่ผสมคือน้ำมันเมล็ดกัญชง ไม่มีการแยกชั้น เนื้อครีมมีความละเอียด มีความหนืดพอเหมาะ ไม่มีกลิ่นหืน ความรู้สึกเมื่อทาลงบนผิวพบว่ามีความเหนอะหนะเล็กน้อย

ภาพที่ 4.5 ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

4.3.2.1 การตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

ตารางที่ 4.8 รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

รายการทดสอบ	วิธีการทดสอบ	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง2%	ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 3%	หน่วย
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	In-house methods: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF., 23rd ed.,2017 Part 9215 A	ND	ND	ND	CFU/g
จำนวนยีสต์และราทั้งหมด	FAD BAM Online, 2001, Chapter 18	ND	ND	ND	CFU/g
ความเป็นกรด-ด่าง	In-house method: WI-101-SCl-01 based on Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA and WEF, 23rd ed., 2017. Part 4500-H+B	6.16	6.10	6.06	-
ปริมาณสารละลายได้ทั้งหมด	In-house method: เครื่องวัดค่า TDS	3,324	3,226	3,156	Mg/L

รายการทดสอบ	วิธีการทดสอบ	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง2%	ผลการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 3%	หน่วย
สแตฟฟิโล-ค็อกคัสออเรียส (Staphylococcus aureus)	In-house methods: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF., 23rd ed.,2012	ND	ND	ND	CFU/g

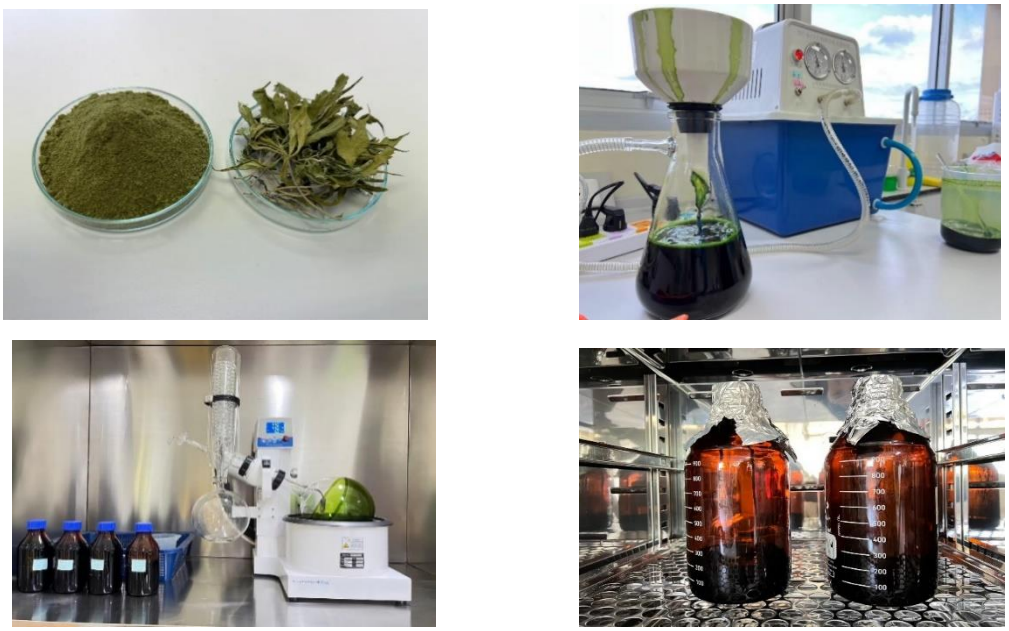
หมายเหตุ: ND (not detected): ตรวจไม่พบ

จากตารางที่ 4.8 รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ต้นแบบผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง จำนวน 3 ตัวอย่างคือ ต้นแบบผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดกัญชง 1%, 2% และ 3% ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบยีสต์, รา, เชื้อสแตฟฟิโลค็อกคัส ออเรียสและจุลินทรีย์ทั้ง 3 ตัวอย่าง มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.16, 6.10 และ 6.06 ตามลำดับ และพบปริมาณสารละลายได้ทั้งหมด 3,324, 3,226 และ3,156 Mg/L ตามลำดับ

4.4 ผลการทดลองโครงการย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง

4.4.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากใบกัญชง

การสกัดสารสำคัญจากใบกัญชงเพื่อนำไปใช้ในการทดสอบองค์ประกอบทางเคมี โดยเก็บใบกัญชงซึ่งได้จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา โดยใช้ใบมาผึ่งลมให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำมาบดด้วยเครื่องบดแบบละเอียด ขนาดของตะแกรงบดเบอร์ 80 จะได้ผงละเอียดมีสีเขียวเข้ม สกัดสารจากใบกัญชงโดยใช้วิธีทางเคมี (Ethanolic Extract) นำผงของใบกัญชงชั่งน้ำหนักปริมาณ 150 กรัม เพื่อนำมาหมักด้วย 95% เอทานอล ปริมาณ 1500 มิลลิลิตร (1:10 w/v) โดยแบ่งเป็น 3 ครั้ง ครั้งละ 500 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาให้สนิท ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน โดยคนให้เข้ากันทุกวัน เพื่อให้สกัดสารสำคัญได้มากที่สุด จากนั้นกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 นำกากที่ ได้จากการกรองมาทำการหมักซ้ำ 2 รอบ นำสารสกัดทั้งหมดที่ได้จากการกรอง นำมารวมกันและใช้เครื่อง Rotary Evaporator ในการแยก 95% เอทานอลออกจากตัวอย่าง ซึ่งจะได้สารลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ 95% เอทานอลระเหยออก จากนั้นทำการชั่งสารเพื่อคำนวณหาร้อยละของสารที่สกัดได้ โดยสารสกัดชั่งน้ำหนักได้ 18 กรัม คำนวณเป็นร้อยละได้เท่ากับ ร้อยละ 12 ของน้ำหนักผงใบกัญชงและเก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.6 แสดงขั้นตอนการสกัดสารจากใบกัญชง

4.4.2 ผลการทดสอบปริมาณ THC จากสารสกัดใบกัญชง

การทดสอบปริมาณ THC จากสารสกัดใบกัญชง ภายใต้วิธีการและสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้เครื่อง HPLC สำหรับแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่างของสารสกัดจากใบกัญชง พบว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีปริมาณ THC อยู่ที่ 2.859 กรัม/กิโลกรัม

4.4.3 ผลการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (Total Antioxidant) จากสารสกัดใบกัญชง

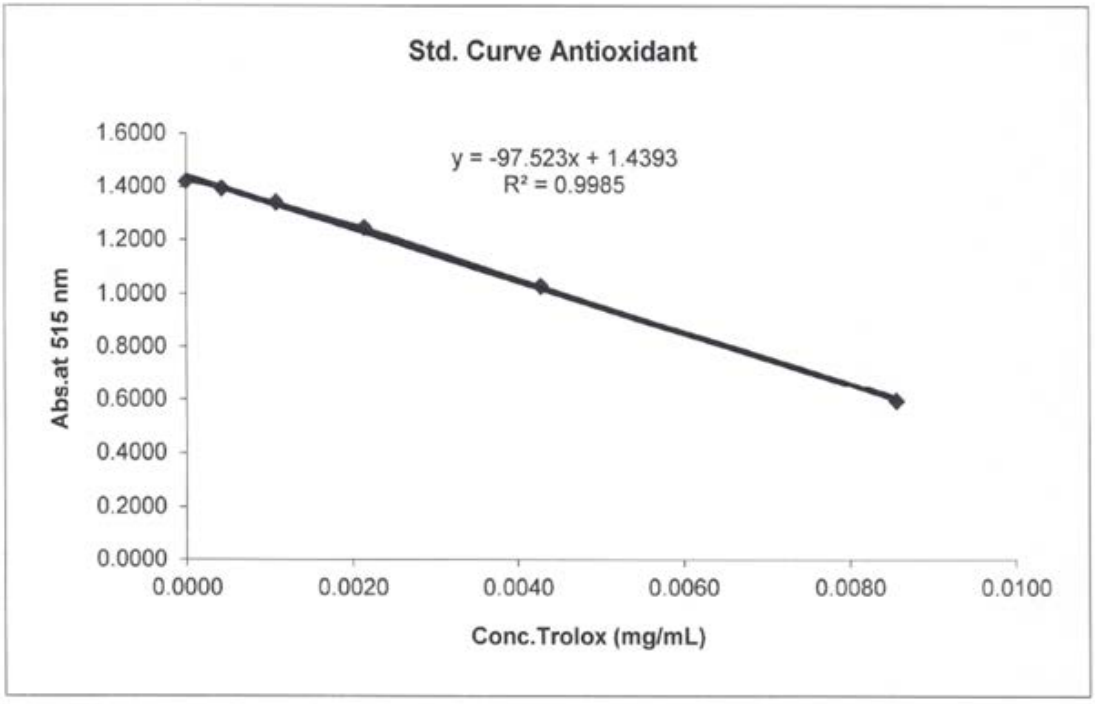
วิเคราะห์หาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยนำสาร DPPH มา 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยร้อยละ 99.9 แอบโซลูทเอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้โทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.0000, 0.0004, 0.0011, 0.0021, 0.0043 และ 0.0086 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.9 จากนั้นเริ่มการทดลองโดยการเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ซึ่งผลการทดสอบจะแสดงดังตาราง ที่ 4.10 และกราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐานและช่วงความยาวคลื่นในการทดสอบ

Conc.Trolox (mg/mL)	Abs. at 515 nm
0.0000	1.4212
0.0004	1.3945
0.0011	1.3414
0.0021	1.2465
0.0043	1.0289
0.0086	0.5964

ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณสารที่ใช้ทดสอบและผลจากการทดลองซ้ำ 3

Vol. in reac. (µL)	Abs. at .515 nm	mg/mL	mg/4mL	g eq Trolox/100 g	Report
20	0.7911	0.0066	0.0266	130.3262	130.1734
10	0.8053	0.0065	0.0260	130.0206	
	%RPD	0.2348	Mean	130.1734	



ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ทีความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

4.4.4 ผลการทดสอบปริมาณ Vitamin E จากสารสกัดใบกัญชง

วิธีการทดสอบ Vitamin E จากสารสกัดใบกัญชง โดยอ้างอิงวิธีการทดสอบจาก In house method based on Asean Food Journal and J.of Food Composition and Analysis 18 (2005) . Detected by HPLC จากการทดสอบพบว่ามีปริมาณของ Vitamin E (α-Tocopherol) อยู่ที่ 0.02 mg/100g

4.4.5 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มจากสารสกัดใบกัญชง

ชั่ง Candelilla wax, Carnauba wax, Microcrystalline wax, Bee wax, Shea butter, Castor oil และ Coconut oil ชั่งสารใส่รวมกันในบีกเกอร์ นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนที่ 100-125 องศาเซลเซียส บน Hot plate จนสารหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารสกัดใบกัญชงเติมลงไปในบีกเกอร์และคนให้เข้ากัน เมื่อเนื้อลิปบาล์มหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ลดอุณหภูมิ Hot plate ลง เมื่ออุณหภูมิลดลงอยู่ที่ 50-60 องศาเซลเซียส เติมสารที่เหลือลงไปในบีกเกอร์และคนเนื้อลิปบาล์มให้เข้ากัน จากนั้นนำลิปบาล์มที่ได้จากการหลอมเทลงในหลอดลิปบาล์ม ซึ่งลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มที่ได้เป็นเนื้อลิปบาล์มสีเขียว มีความแข็งที่ดี มีความชุ่มชื้น มีกลิ่นอ่อนๆของสารสกัดจากกัญชง

4.4.6 ผลการทดสอบคุณลักษณะทางเคมี ทางกายภาพและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา

ขั้นตอนและวิธีการทดสอบเป็นการประยุกต์จากตำราบริทิชฟาร์มาโคเปีย ฉบับ ค.ศ.2020 (British Pharmacopoeia 2020) และตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยฉบับปี พ.ศ. 2563 (Thai Herbal Pharmacopeia 2020) ผลการทดสอบดังตาราง ดังนี้

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD
Clostridium spp.	Not Detected	in 1 g	-
Escherichia coli	Not Detected	in 1 g	-
Pseudomonas aeruginosa	Not Detected	in 1 g	-
Staphylococcus aureus	Not Detected	in 1 g	-
Total Aerobic Microbial Count	< 10	CFU/g	-
Total Combined Yeast & Molds Count	< 10	CFU/g	-

จากตารางผลการทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Clostridium* spp. , *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* จากผลตารางข้างต้นจะเห็นได้ว่าไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมลิปสติก พ.ศ. 2560 และผลการทดสอบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา จากผลการทดสอบพบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราน้อยกว่า 10 CFU/g (< 10)

4.5 ผลการทดลองโครงการย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

4.5.1 สารสกัดหยาบจากใบกัญชง

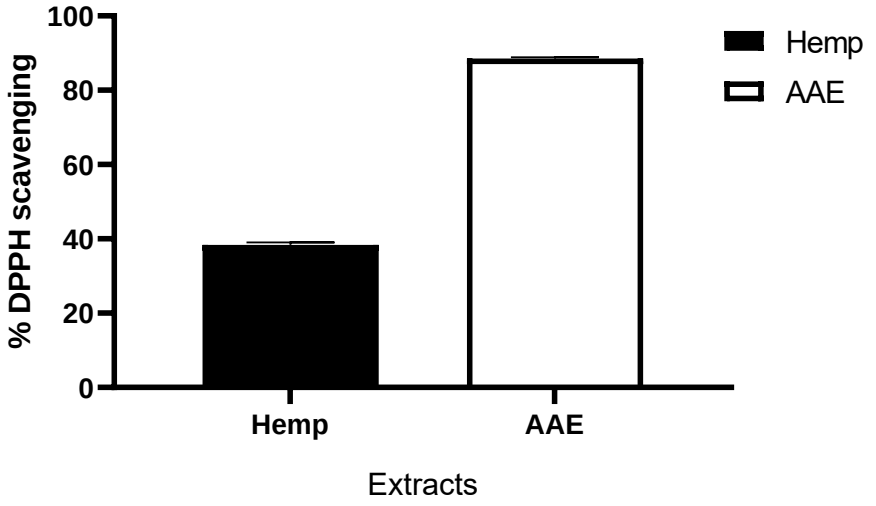
การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้รับความมือจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชน สมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา ตำบลบ้านโคก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นกลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่ปลูกต้นกัญชงเพื่อเก็บเกี่ยวช่อดอก และเมล็ดไปใช้ประโยชน์เท่านั้น จึงทำให้ใบกัญชงเป็นเศษวัสดุเหลือใช้หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว ซึ่งกระบวนการสกัดหยาบใบกัญชง เริ่มจากนำใบกัญชงแบบสดไปผึ่งลมให้แห้ง และวัดความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 จากนั้นนำไปบดละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 80 จะได้ผงใบกัญชงที่ละเอียด และนำผงใบกัญชงเข้าสู่กระบวนการหมักโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 หมักนาน 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 01 จากนั้นนำกากใบกัญชงที่เหลือไปหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 อีกครั้ง ทำซ้ำ 3 รอบ นำสารละลายใบกัญชงเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายสุญญากาศบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Rotary evaporator) เพื่อระเหยเอทานอลร้อยละ 95 ออกโดยการกลั่นจนหนืดข้น แล้วนำเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนแบบแห้ง (Constant Temperature oven) ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เป็นการระเหยเอทานอล 95% ออกอีกรอบจนได้สารสกัดใบกัญชงที่เข้มข้นและมีน้ำหนักคงที่ ซึ่งจากการสกัดสารสกัดใบกัญชงในงานวิจัยนี้ ใช้ใบกัญชง 5 กิโลกรัม เมื่อผ่านกระบวนการสกัดแล้วได้สารสกัดใบกัญชง ปริมาตร 600 มิลลิลิตร คำนวณร้อยละน้ำหนักของผงแห้งใบกัญชงได้ ร้อยละ 12 ซึ่งจะนำสารสกัดใบกัญชงที่ได้เข้าสู่ขั้นตอนทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

4.5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง

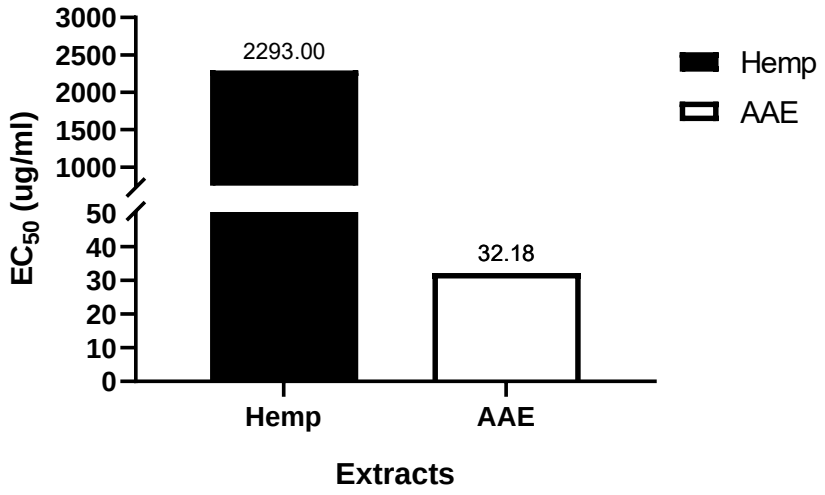
4.5.2.1 การทดสอบด้วยเทคนิค 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

การตรวจด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง โดยหลักการของ DPPH เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง เมื่อเติมตัวอย่างแล้วผสมให้เข้ากันทันทีแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นสารละลายมาตรฐาน

จากการตรวจวัด พบว่าสารสกัดใบกัญชงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ร้อยละ 38.39± 0.63 โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (EC_{50}) อยู่ที่ 2.239 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.8 ความสามารถของสารสกัดใบกัญชงและสารมาตรฐานในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)



ภาพที่ 4.9 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบกัญชงและสารมาตรฐานที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50})
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

4.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{2+}$ ซึ่งมีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ$[Fe(III)(TPTZ)_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในภาพ FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

โดยจากการทดสอบ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกัญชงที่ทดสอบด้วยเทคนิค ferric reducing power (FRAP) พบว่าในสารสกัดกัญชง 1 มิลลิกรัม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ 22.19 ± 1.485 ไมโครกรัม ของสารมาตรฐาน Ascorbic acid (AAE) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกัญชง ทดสอบโดยเทคนิค FRAP

ชนิดสารสกัด	**ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบโดยวิธี FRAP (ไมโครกรัมของสารมาตรฐานต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักตัวอย่าง)**
ใบกัญชง	22.19 ± 1.485

จากผลการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค DPPH และ FRAP พบว่าสารสกัดใบกัญชงสามารถต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี ซึ่งเหมาะที่จะนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง เนื่องจากกิจกรรมต่างๆ ในการใช้ชีวิตประจำวันทำให้เซลล์ในร่างกาย รวมถึงเซลล์ผิวหนังถูกทำลายจากสารอนุมูลอิสระอยู่ตลอดเวลา ซึ่งสาเหตุการเกิดสารอนุมูลอิสระมาจากปัจจัยภายนอก เช่น แสงแดด ฝุ่น/ควัน มลพิษในอากาศ การรับประทานยาบางประเภท เป็นต้น และปัจจัยภายใน เช่น กระบวนการเผาผลาญอาหาร การหายใจ อาการอักเสบในร่างกาย เป็นต้น เมื่อเซลล์ผิวหนังถูกทำลายจากสารอนุมูลอิสระจึงเกิดความเสื่อมสภาพ ทำให้เกิดปัญหาต่อสภาพผิว ผิวแห้ง เหี่ยว เกิดริ้วรอย และผิวไม่กระชับตามมา ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารที่ช่วยปกป้องผิวจากสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นได้ โดยสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น จากมลพิษต่าง ๆ รอบตัว และสามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ด้วยการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่ช่วยชะลอความเสื่อมของผิว ลดการสูญเสียน้ำช่วยรักษาความชุ่มชื้นในผิวช่วยให้ผิวสุขภาพดี ลดการเกิดริ้วรอย เพราะสารต้าน

อนุมูลอิสระจะช่วยรักษาคอลลาเจนและอิลาสติน ซึ่งเป็นโครงสร้างโปรตีนที่สำคัญช่วยให้ผิวมีความยืดหยุ่น ลดการอักเสบของเซลล์ผิว และลดการระคายเคืองของผิวได้

4.5.2 การถ่ายทอดเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชงสู่ชุมชน

4.5.2.1 โครงการ: การถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมเพื่อนำผลงานวิจัยทางพืชกัฐชา กัญชง และพืชสมุนไพร ไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น วันที่ 21 สิงหาคม 2566 กลุ่มเป้าหมาย: สถาบันเศรษฐกิจพอเพียงเครือข่ายเกษตรอินทรีย์วิถีไทย

ภาพที่ 4.10 ประชาชนเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง (ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

4.5.2.2 โครงการ: การถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมเพื่อนำผลงานวิจัยทางพืชกัฐชา กัญชง และพืชสมุนไพร ไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น วันที่ 23 สิงหาคม 2566 ณ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนฟาร์มฮักตัวบ้านในเมือง

ภาพที่ 4.11 สมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนฟาร์มฮักตัวบ้านในเมืองเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

4.5.2.3 โครงการ: การถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมเพื่อนำผลงานวิจัยทางพืชกัฐชา กัญชง และพืชสมุนไพร ไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น วันที่ 25 สิงหาคม 2566 ณ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา

ภาพที่ 4.12 สมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮาเข้าร่วมกิจกรรมทำผลิตภัณฑ์จากใบกัญชง
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

4.5.2.4 กิจกรรมเฉลิมฉลองครบรอบ 50 ปี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ภายใต้ชื่องาน 50th Innovation Next Expo 2023 Think Global Work Local: นำท้องถิ่นสู่สากล วันที่ 22-26 พฤศจิกายน 2566 ณ หอประชุมประกายเพชร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ภาพที่ 4.13 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชงได้จัดแสดงภายในงาน 50th Innovation Next Expo 2023 Think Global Work Local: นำท้องถิ่นสู่สากล

(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2023)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลองโครงการย่อยที่ 1 ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

5.1.1 ผลการทดลอง

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารจากใบกัญชงโดยใช้วิธีทางเคมี (Ethanolic Extract) ในการสกัด และนำสารสกัดที่ได้จากใบกัญชงมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุ โดยงานวิจัยมีวัตถุประสงค์ดังนี้ 1) เพื่อทดสอบฤทธิ์สารสกัดจากใบกัญชงในการต้านแบคทีเรียในช่องปากที่เป็นสาเหตุของฟันผุ 2) นำสารสกัดจากใบกัญชง ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากต้นแบบ ได้แก่ ยาสีฟันสมุนไพรที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบกัญชง

เมื่อนำใบกัญชงมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล จะได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะทางกายภาพ คือเป็นของเหลว หนืดข้น สีเขียวเข้ม เมื่อคำนวณค่าร้อยละผลผลิตจะได้ร้อยละ 20 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของตัวอย่างสารสกัดกัญชงในปริมาณ 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion จากผลการวิจัยพบว่าสารสกัดกัญชงไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน Erythromycin ในปริมาณ 0.015 มิลลิกรัม ซึ่งจากการศึกษางานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า สารสกัดที่สามารถยับยั้งฤทธิ์เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ผลดีคือ น้ำมันเมล็ดกัญชงและน้ำมันหอมระเหยซึ่งได้จากดอกของต้นกัญชง นอกจากนี้พบว่าการสกัดสารสำคัญจากใบของ กัญชงนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการใช้ยา Erythromycin ซึ่งเป็นยามาตรฐาน โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ต่ำกว่ายามาตรฐานถึง 17 เท่า ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดสารจากใบกัญชงนั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ *S. mutans* ได้แต่จากการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่าสารสกัดสารจากใบกัญชงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูง รวมถึงสามารถยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนสที่สลายคอลลาเจน ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส รวมถึงยับยั้งเอนไซม์อิลาสเทส ดังนั้นการใช้สารสกัดจากใบกัญชงจึงเหมาะสมกับการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งการทำลายไทโรซิน ยับยั้งการทำลายคอลลาเจน และ

ยับยั้งการทำลายอิลาสติน ซึ่งสารสกัดจากใบกัญชงเหมาะสมที่จะพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมและเวชสำอางได้

5.1.2 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1) ควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมด้านการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระของใบกัญชงเพื่อเป็นข้อมูลในด้านการต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรือเวชสำอาง
2) ควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมด้านเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น เอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเม็ดสีผิว หรือ เอนไซม์คอลลาจิเนส ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสลายคอลลาเจน เป็นต้น
3) ควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางอื่น ๆ เช่น แชมพูลดการหลุดร่วงของเส้นผม ครีมนวดผมขจัดรังแค ครีมต่อต้านริ้วรอย ครีมทำให้ผิวกระจ่างใส เป็นต้น
4) ควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในส่วนอื่น ๆ ของกัญชงที่เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ก้านกัญชง ช่อดอกที่ต้องมีการตัดแต่งทิ้งเพื่อให้ต้นมีช่อดอกที่สมบูรณ์ ลำต้นของกัญชง รวมถึงรางของกัญชงเพื่อหาสารสำคัญที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพิ่มรายได้ เพิ่มมูลค่าให้กับกลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่ปลูกกัญชง

5.2 สรุปผลการทดลองโครงการย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชงวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชง

5.2.1 สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชง เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชง โดยเก็บใบกัญชงจากพื้นที่ตำบลดงมูลเหล็ก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ เก็บใบกัญชง 4 ส่วน คือ ยอด ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสร พบว่า ใบเพสลาด มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 0.5491±0.0034 มากที่สุด รองลงมาส่วนของใบอ่อน ใบแก่ และยอดมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.4255±0.0032, 0.3720±0.0050 และ 0.3250±0.0032 ตามลำดับ และปริมาณฟลาโวนอยด์ ใบอ่อนมีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 1.2226±0.0054 มากที่สุด รองลงมาส่วนยอด ใบเพสลาด และใบแก่ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ 1.2149±0.0057, 0.9465±0.0226 และ 0.4259±0.0019 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ส่วนของใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนใบเพสลาด ใบอ่อน และยอด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.01, 1.86 และ 1.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า ใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนใบเพสลาด ใบอ่อน และยอด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.18, 0.15 และ 0.14 ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ส่วนใบอ่อน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนของยอด ใบเพสลาด และใบแก่ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.13, 1.02 และ 0.80 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, $P > 0.05$)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชง โดยใช้ส่วนของยอด ใบอ่อน และใบเพสลาดมาพัฒนากรรมวิธีการผลิต โดยแบ่งออกเป็น 5 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีการผลิตของกระทรวงสาธารณสุข กรรมวิธีการผลิตชาเขียว กรรมวิธีการผลิตชาฝรั่ง กรรมวิธีการผลิตชาจีน และกรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง โดยการควบคุมปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งพบว่า กรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง มีความชื้นร้อยละ 8.47 น้อยที่สุด กรรมวิธีการผลิตชาฝรั่ง กรรมวิธีการผลิตชาเขียว กรรมวิธีการผลิตของกระทรวงสาธารณสุข และกรรมวิธีการผลิตชาจีน หลง มีความชื้นร้อยละ 8.62, 8.84, 9.28 และ 10.87 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (One-factor ANOVA-Duncan, $P > 0.05$)

5.2.2 อภิปรายผล

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชากัญชงจากใบกัญชง ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากการทำเส้นใยกัญชงและการตัดตกแต่งกิ่ง ซึ่งมีปริมาณมาก เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบกัญชงและลดขยะจากการทิ้งใบกัญชง ผู้วิจัยจึงได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกัญชงส่วนยอด ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ ซึ่งพบว่าใบทุกส่วนของกัญชงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น การเลือกใช้ใบกัญชงมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ชาชงสามารถใช้ใบได้ทุกส่วน กรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชงได้ ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ผู้วิจัยได้ดัดแปลงกรรมวิธีการผลิตชาจากกระทรวงสาธารณสุข และจารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง (2559) [8] โดยคำนึงถึงปริมาณความชื้นของสมุนไพรเป็นหลัก ซึ่งต้องมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 โดยกรรมวิธีการผลิตชากัญชงของกระทรวงสาธารณสุขเป็นกรรมวิธีการทำง่าย ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก แต่มีข้อควรระวังในเรื่องระยะเวลาการทำให้ใบกัญชงแห้ง ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ กรรมวิธีการผลิตชาเขียว เป็นกรรมวิธีที่ใช้วิธีการลวกก่อนอบซึ่งนิยมทำในชาใบหม่อน ดังเช่นการเตรียมชาใบหม่อนของ ณชกนก เมธาอัครเดชา และอนงค์ ศรีโสภา (2563) [9] เพื่อทำให้สมุนไพรมีสีที่สวยและชงชาแล้วน้ำชามีสีที่สวยมากขึ้น จากนั้นนำไปผึ่งให้หมาดๆ แล้วคั่วและอบ กรรมวิธีการผลิตชาฝรั่ง มีวิธีการทำเช่นเดียวกับการผลิตชาเขียว แตกต่างที่ไม่ใช้วิธีการลวกใบกัญชง กรรมวิธีการผลิตชาจีน ใช้วิธีการคั่วใบกัญชงเพียงอย่างเดียว ดังนั้น การทำชาวิธีนี้ต้องควบคุมอุณหภูมิขณะที่คั่วให้มีความสม่ำเสมอ ซึ่งพบว่าวิธีนี้จะมีความชื้นเกินที่กำหนด เนื่องจากระยะเวลาในการคั่วและอุณหภูมิที่ใช้ไม่สูงมาก จึงต้องระวังเรื่องความชื้นและการเก็บรักษา และกรรมวิธีการผลิตชาอู่หลง เป็นการทำชาใบกัญชง ที่มีวิธีการคั่วและอบที่ใช้ระยะเวลานาน จึงทำให้ปริมาณความชื้นไม่เกินที่กำหนด กรรมวิธีการผลิตชาใบกัญชงตามที่กล่าวมา ระยะเวลาและอุณหภูมิในการอบใบกัญชง มีผลต่อปริมาณความชื้น ซึ่งหากผู้ประกอบการไม่สารมารถควบคุมอุณหภูมิได้ สามารถเพิ่มระยะเวลาการตากให้นานขึ้น เพื่อให้ความชื้นไม่เกินที่กำหนด ตลอดจนการเก็บรักษาชาใบกัญชงควรเก็บในภาชนะหรือบรรจุภัณฑ์ที่มิดชิดก็จะช่วยให้คุณภาพของชาใบกัญชงมีคุณภาพมากขึ้น

5.2.3 ข้อเสนอแนะ

ควรตรวจวิเคราะห์ปริสาร THC ของชาใบกัญชง และควรตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในชาใบกัญชงในกระบวนการชงที่ใช้เวลาแตกต่างกัน

5.3 สรุปผลการทดลองโครงการย่อยที่ 3 ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าจากน้ำมันเมล็ดกัญชง

5.3.1 สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากข้อมูลการตรวจวิเคราะห์น้ำมันเมล็ดกัญชง พบกรดไขมันหลายชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อผิว ได้แก่ กรดปาล์มมิติก ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเนื้อครีม ช่วยปรับผิวให้มีความเรียบเนียน กรดสเตียริก ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิว ป้องกันการสูญเสียน้ำทางผิวหนัง ทำให้ผิวแข็งแรง และจะค่อยๆปรับให้ผิวเกิดความเรียบเนียน ทั้งยังทำให้เนื้อครีมมีความวาว เกลี่ยง่าย กรดลิโนเลอิก ช่วยยับยั้งเอนไซม์ที่เร่งการผลิตเม็ดสี ทำให้ผิวกระจ่างใสขึ้น กรดโอเลอิกสามารถซึมลงผิวได้ดี ไม่ก่อให้เกิดการอุดตันรูขุมขน ไม่ก่อให้เกิดสิว ช่วยเติมน้ำให้ผิว และช่วยลดอาการอักเสบที่ผิวได้ แต่หากกรดไขมันเหล่านี้มีปริมาณสูงจะทำให้เกิดความรู้สึกเหนอะหนะผิวได้ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี (Tocopherol) ในน้ำมันเมล็ดกัญชง พบโทโคฟีรอลชนิดแอลฟา (α) มีคุณสมบัติช่วยปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระ ลดการเกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร เพิ่มความชุ่มชื้นและลดการอักเสบของผิวหนัง ดังนั้น เมื่อนำน้ำมันเมล็ดกัญชงมาเป็นส่วนผสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้า จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบนี้มีคุณสมบัติในการดูแลผิวหน้า โดยเฉพาะการป้องกันริ้วรอยก่อนวัย อันเกิดจากสภาวะแวดล้อมหรือปัจจัยอื่นๆ ทั้งยังช่วยให้ผิวชุ่มชื้น กระจ่างใส ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ มีลักษณะเป็นครีม ชนิด Oil in Water (O/W Emulsion) เนื้อสีขาวครีมออกเหลืองคล้ายสีของน้ำมันเมล็ดกัญชง มีความเงาเล็กน้อย กลิ่นเฉพาะตัวเกิดจากสารสกัดที่ผสมคือน้ำมันเมล็ดกัญชง ไม่มีการแยกชั้น เนื้อครีมมีความเนียนละเอียด ความรู้สึกเมื่อทาลงบนผิวจะรู้สึกเย็นเล็กน้อย มีความเหนอะหนะเนื่องจากมีน้ำมันเป็นส่วนผสม เมื่อนำผลิตภัณฑ์ต้นแบบไปตรวจวิเคราะห์ไม่พบจุลินทรีย์หรือเชื้อที่ก่ออันตราย ทั้ง 3 ตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.16, 6.10 และ 6.06 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่มีความเหมาะสมเนื่องจากผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในกลุ่มครีมบำรุงหรือมอยส์เจอไรเซอร์ ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5 – 7

5.3.2 ข้อสรุป

เมล็ดกัญชงซึ่งเป็นส่วนที่เหลือใช้จากการนำต้นกัญชงไปใช้ประโยชน์ เมื่อนำมาบีบหรือสกัดเอาน้ำมันได้เป็นน้ำมันเมล็ดกัญชงแล้ว สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย การศึกษานี้ นำน้ำมันเมล็ดกัญชงมาเป็นส่วนผสมในการผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยบนใบหน้าพบว่าเป็นส่วนผสมที่มีคุณสมบัติเหมาะสม เนื่องจากน้ำมันเมล็ดกัญชงมีส่วนช่วยในการลดการเกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร ช่วยให้ผิวชุ่มชื้นเปล่งปลั่ง ทั้งยังมีส่วนช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยให้ผิวกระจ่างใสจากการยับยั้งเอนไซม์ที่เร่งการทำงานของเม็ดสีและลดการอักเสบของผิว การศึกษาครั้งนี้เป็นการสนับสนุนการใช้

ประโยชน์จากน้ำมันเมล็ดกัญชงในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหรือเครื่องสำอาง เป็นการต่อยอดผลผลิตทางการเกษตรในเชิงพาณิชย์ เพิ่มคุณค่าและมูลค่าแก่ผลิตภัณฑ์ และเป็นแนวทางขับเคลื่อนการใช้พืชสมุนไพรกัญชงให้เกิดประโยชน์ในมิติที่หลากหลายต่อไป

5.4 สรุปผลการทดลองโครงการย่อยที่ 4 ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากจากสารสกัดใบกัญชง

5.4.1 สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากใบกัญชงที่สกัดได้มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ 95% เอทานอลระเหยออกแล้วทำการชั่งสารเพื่อคำนวณหาร้อยละของสารที่สกัดได้ โดยสารสกัดชั่งน้ำหนักได้ 18 กรัม คำนวณเป็นร้อยละได้เท่ากับ ร้อยละ 12 ของน้ำหนักผงใบกัญชงและเก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดจากใบกัญชงไปทำการทดสอบหาปริมาณของ THC จากการทดสอบภายใต้วิธีการและสภาวะการทดสอบที่กำหนดโดยใช้เครื่อง HPLC สำหรับแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่างของสารสกัดจากใบกัญชง พบว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีปริมาณ THC อยู่ที่ 2.859 กรัม/กิโลกรัม ในส่วนของการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยนำสาร DPPH มา 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยร้อยละ 99.9 แอบโซลูทเอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้โทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.0000, 0.0004, 0.0011, 0.0021, 0.0043 และ 0.0086 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ 130.1734 มิลลิกรัมต่อโทรล็อกซ์100กรัม การทดสอบปริมาณ Vitamin E โดยเครื่อง HPLC ซึ่งติดตั้งคอลัมน์ C_{18} column ที่มีสัดส่วน (4.6 X 250 มิลลิเมตร. , ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) ด้วยเฟสเคลื่อนที่เริ่มต้นที่ 75% อะซีโตไนไตรล์และ 25% เมทานอลเป็นเวลา 10 นาที แบะการไล่ระดับสีจะเพิ่มขึ้นเป็น 85% เมทานอลใน 9 นาที อัตราการไหลคือ 1.2 มิลลิลิตร/นาที และปริมาตรการฉีดตัวอย่างคือ 20 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัดแบบ Fluorescent Detector ตั้ง excitation ที่ 298 นาโนเมตร และ emission 328 นาโนเมตร ใช้เวลาในการแยก 10 นาที ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบกัญชงมีปริมาณ Vitamin E (α-Tocopherol) อยู่ที่ 0.02 mg/100g เมื่อเทียบกับปริมาณ Vitamin E (α-Tocopherol) ในน้ำมันเมล็ดกัญชงจากการวิจัยของ Paz. S. Montserrat de la (2014) [10] ที่มีปริมาณ Vitamin E อยู่ที่ 3.22 mg/100g จะเห็นได้ว่าปริมาณ Vitamin E (α-Tocopherol) จากสารสกัดใบกัญชงมีปริมาณน้อยกว่าสารสกัดจากน้ำมันเมล็ดกัญชง แต่ทั้งนี้การทดสอบปริมาณ Vitamin E (α-Tocopherol) จากสารสกัดจากใบกัญชงยังไม่มีการนำไปศึกษาวิจัยจึงทำให้ไม่สามารถ

เปรียบเทียบกับสารสกัดที่เป็นใบกัญชงเหมือนกันได้ ในส่วนของการทำผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มพบว่า ลิปบาล์มที่ได้เป็นเนื้อสีเขียวอ่อน มีความแข็งที่ดี มีความชุ่มชื้น มีกลิ่นอ่อนๆของสารสกัดจากกัญชง และการนำผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มบำรุงริมฝีปากที่ผลิตขึ้นนำไปทดสอบ ตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราจากได้แก่ *Clostridium* spp. , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมลิปสติก พ.ศ. 2560 และผลการทดสอบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา จากผลการทดสอบพบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราน้อยกว่า 10 CFU/g (< 10)

5.4.2 ข้อเสนอแนะ

1) ควรมีสูตรตำรับในการทำผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มต้นแบบหลาย ๆ สูตรเพื่อทำการเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

2) จัดทำแบบสำรวจความพึงพอใจในอาสาสมัครที่ได้ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในรูปของลิปบาล์มต้นแบบ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสูตรตำรับต่อไป

3) ควรมีการทดสอบความคงตัว จุดหยดของลิปบาล์มเพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทลิปสติก

5.5 สรุปผลการทดลองโครงการย่อยที่ 5 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง

5.5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่า การสกัดใบกัญชงที่เป็นส่วนเหลือใช้จากการปลูกกัญชงของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา ตำบลบ้านโคก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 5 กิโลกรัม ทำการสกัดได้น้ำหนักของผงแห้งใบกัญชงร้อยละ 12 เมื่อนำมาตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สารสกัดใบกัญชงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ร้อยละ 38.39±0.63 โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (EC_{50}) อยู่ที่ 2.239 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และวิธี FRAP พบว่าในสารสกัดใบกัญชง 1 มิลลิกรัม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ 22.19±1.485 ไมโครกรัม ของสารมาตรฐาน Ascorbic acid (AAE) แสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบกัญชงมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยของประภัสสร (2566) [11] จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบเมทานอลของใบกัญชงทั้ง 4 สายพันธุ์ ผลการตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อยู่ในช่วง 40.06±0.57 ถึง 88.02±2.10 และผลการตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 79.37±4.38 ถึง 153.99±5.92 ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์กัญชงที่ปลูก ลักษณะการปลูก รวมถึงสถานที่การปลูก จะเห็นได้ว่าสถานที่ปลูกอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน คือ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประกอบด้วย พื้นที่ในการปลูกอยู่ในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง อำเภอขุนวาง จังหวัดเชียงใหม่ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยน้ำริน อำเภอเวียงป่าเป่า จังหวัดเชียงราย และสถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีผู้เชี่ยวชาญในการปลูกพืช ดูแลพืชแต่ละชนิดเป็นอย่างดี นอกจากนั้นปัจจัยที่ทำให้ผลตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ วิธี FRAP ในการศึกษาวิจัยมีผลน้อยกว่างานวิจัยข้างต้น ใช้เมทานอลเป็นตัวทำลายในการสกัดสารสำคัญในใบกัญชง ทำให้ลักษณะองค์ประกอบสารสำคัญของสารสกัดใบกัญชงมีความแตกต่างกัน จึงส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชงได้เช่นกัน

ดังนั้นจากการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกัญชง เห็นว่ามีความเหมาะสมที่จะนำพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของผิว ลดการสูญเสียน้ำช่วยรักษาความชุ่มชื้นในผิวช่วยให้ผิวสุขภาพดี ลดการเกิดริ้วรอย ลดการอักเสบของเซลล์ผิว และลดการระคายเคืองของผิวได้ ซึ่งการนำสารสกัดใบกัญชงมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณ เพื่อเป็นการเพิ่ม

มูลค่าของส่วนที่เหลือใช้ของกัญชง และสามารถเป็นต้นแบบในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้อย่างหลากหลายมากยิ่งขึ้น

5.5.2 องค์ความรู้ใหม่จากการวิจัย

เมื่อนำใบกัญชงที่เป็นส่วนเหลือใช้จากการปลูกของกลุ่มวิสาหกิจชุมชน เข้าสู่กระบวนการสกัดให้ได้สารสำคัญในใบกัญชง และนำสารสกัดใบกัญชงไปตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ FRAP/DPPH ซึ่งมีความเหมาะสมที่นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบโลชั่นบำรุงผิวพรรณที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบกัญชง ซึ่งช่วยชะลอความเสื่อมของผิว ลดการสูญเสียน้ำช่วยรักษาความชุ่มชื้นให้ผิว ลดการเกิดริ้วรอย ลดการอักเสบของเซลล์ผิว และลดการระคายเคืองของผิวได้ นอกจากนั้นยังนำองค์ความรู้ไปถ่ายทอดทางด้านเทคโนโลยี ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชงสู่ชุมชน

5.5.3 ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

1) ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยนี้ได้ไปถ่ายทอดเทคโนโลยี ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชงสู่ชุมชน

2) ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

2.1) ควรมีแบบประเมินวัดความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวพรรณจากสารสกัดใบกัญชง โดยเริ่มจากกลุ่มเป้าหมายที่หลากหลายก่อน เพื่อเป็นการวัดความพึงพอใจหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ และนำข้อเสนอแนะมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

2.2) เพิ่มเติมการตรวจวิเคราะห์ด้านการกักเก็บความชุ่มชื้นของผิว การต่อต้านริ้วรอย (anti-aging) และพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้วยการเพิ่มสารป้องกันรังสียูวี เพื่อเพิ่มคุณประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ และพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับการบำรุงผิว และปกป้องผิวจากมลภาวะภายในและภายนอกร่างกายให้ครบถ้วนมากที่สุด

2.3) เพิ่มเติมการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้านการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังและประสิทธิผลของฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาข้างต้นในสัตว์ทดลอง เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ และสร้างความน่าเชื่อถือให้กับผู้บริโภคต่อไป

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. (2564). คู่มือสำหรับเกษตรกร การผลิตพืชสกุลกัญชา (Cannabis sativa L.) เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมวิชาการเกษตร. (2564). คู่มือสำหรับเกษตรกร การผลิตพืชสกุลกัญชา (Cannabis sativa L.) เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร. (2566). การขออนุญาตผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากกัญชา-กัญชง. [ออน์ไลน์].

กัญชง กับประโยชน์และสรรพคุณที่คุณอาจจะยังไม่รู้. เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก การขายโดยตรง. กรงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จารุวรรณ ภูฆัง และขวัญดาว แจ่มแจ้ง.(2559). การผลิตชาต้านอนุมูลอิสระจากรางจืดและใบ

ณชกนก เมธาอัครเดชา และอนงค์ ศรีโสภา. 2563. ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนและชาผงใบหม่อนชนิดละลายน้ำ. Thai Journal of Science and Technology. 9(2), 230-242.

บริษัท เดอร์มา อินโนเวชั่นจำกัด. (2565). น้ำมันเมล็ดกัญชงกับประโยชน์และสรรพคุณที่เลือกได้. เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก https://url.in.th/upKfS.

บริษัท ทีเอ็นพี คอสเมซูติคอล . (28 เมษายน 2566). *เจาะลึก "กัญชง" ส่วนผสมมหัศจรรย์ของเครื่องสำอางยุคใหม่*. เรียกใช้เมื่อ 9 กรกฎาคม 2566 จาก https://www.tnpoem.com/content/5319/insidehempbeauty.

แบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดเมทานอลจากใบกัญชงไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 65 ฉบับที่ 3 (145-168): กรกฎาคม - กันยายน 2566.

ประภัสสร ทิพย์รัตน์ และคณะ. (2566). ฤทธิ์ต้านอักเสบต่อเซลล์ผิวหนังและฤทธิ์ต้านเชื้อ

ประภัสสร ทิพย์รัตน์. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์เชียงใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2023

พรชนก เจนศิริศักดิ์. (2564). กัญชา และกัญชงในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. วารสารการคุ้มครองผู้บริโภคด้านสุขภาพ (Online), 2(1), 7-10.

พรชนก เจนศิริศักดิ์. กัญชา และกัญชงในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. วารสารการคุ้มครองผู้บริโภคด้านสุขภาพ, 2021; 1(2): 7-10

บรรณานุกรม (ต่อ)

มนทิรา สุขเจริญ, และ พันธวัศ สัมพันธ์พานิช. (2562). จุดเริ่มต้นว่าด้วยเรื่องของ “เฮมพ์” หรือ “กัญชง” ที่ไม่ใช่ “กัญชา”. วารสารสิ่งแวดล้อม, 23(3), 1-12.

มัญชุนินทร วงษาธรรม, และ ปองศิริ คุณงาม. (2562). การศึกษาประสิทธิผลในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตาของครีมสารสกัดจากใบบัวบกสำหรับหญิงไทย. สุทธิปริทัศน์, 33(107), 51-62.

ย่านาง. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 3 กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร. 599 – 607.

ย่านาง.รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 3 กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.599 – 607.

รัชนี วัฒนเรืองรอง. (2564). การพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดแบบกายภาพผสมสารสกัดบัวบก. วารสารควบคุมโรค, 47(4), 1051 - 1062.

วราภรณ์ รัศมีผะกาย. (2559). การทดสอบหาชนิดของกรดไขมันในน้ำมันพืชและไขมันสัตว์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตร. วารสารวิชาการ ปขมท, 51 - 62.

วราภรณ์ รัศมีผะกาย. (2559). การทดสอบหาชนิดของกรดไขมันในน้ำมันพืชและไขมันสัตว์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตร. วารสารวิชาการ ปขมท, 9(3), 51 - 62.

วิกิพีเดีย. (27 มกราคม 2566). กัญชง. เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี: https://th.wikipedia.org/wiki/กัญชง

วิเชียร โรจนสิงห์สวัสดิ์. (2529). การศึกษาการจัดการด้านการตลาดของเครื่องสำอางที่ใช้ระบบ

วิภาดา อ่อนจิตร, และ อัจฉรา ใจดี. (2564). การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวด้วยสารสกัดฟีนอลจากเปลือกกล้วยไข่. การประชุมวิชาการระดับชาติสำหรับนักศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 1, (หน้า 882 - 888). กำแพงเพชร. เรียกใช้เมื่อ 2 ตุลาคม 2566

วิไลลักษณ์ สุกใส, สถาพร สัตย์ซื่อ, ฉัตรดนัย อุประวรรณา, ทวินตา เทศไทย, ณัทชลิดา นฤภัทรธนกิจ , และ กัลยรัตน์ พรหมพลจร. (2565). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงมือจากสารสกัดหญ้าหวานและการประเมินความพึงพอใจต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลกลางใหญ่ อำเภอบ้านผือ จังหวัดอุดรธานี. เวชบันทึกศิริราช, 15(2), 86 - 92.

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). (2564). สารสกัดกัญชง (CBD Hemp oil). เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก https://hrdi.or.th/Articles/Detail/1478.

บรรณานุกรม (ต่อ)

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). (2564). *สารสกัดกัญชง (CBD Hemp oil)*. เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก https://hrdi.or.th/Articles/Detail/1478.

สมชาย สัมพันธ์วิวัฒน์. (2542). เคมีเครื่องสำอาง. ราชบุรี : สถาบันราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง. แหล่งเข้าถึง media.php (moph.go.th) [24 มกราคม 2567]

Agrawal R, Yusufsaheb Y G, Narasimhamurthy N, Itagi A.B.H, Kulshrestha R, Patil S.R.

Al Khoury, A.; Sleiman, R.; Atoui, A.; Hindieh, P.; Maroun, R.G.; Bailly, J.-D.; El Khoury, A. Antifungal and anti-aflatoxigenic properties of organs of Cannabis sativa L.: Relation to phenolic content and antioxidant capacities. Arch. Microbiol. 2021, 203, 4485–4492.

Anjum, M. 35. Evaluation of antimicrobial activity and ethnobotanical study of Cannabis sativa L. Pure Appl. Biol. (PAB) 2018, 7, 706–713.

Baban, B., Khodadadi, H., Salles, É. L., Costigliola, V., Morgan, J. C., Hess, D. C., Yu, J. C. (2021). Inflammaging and Cannabinoids. *HHS Public Access, 72*, 101487.

Baban, B., Khodadadi, H., Salles, É. L., Costigliola, V., Morgan, J. C., Hess, D. C., Yu, J. C. (2021). Inflammaging and Cannabinoids. *HHS Public Access, 72*, 101487.

Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Arch Oral Biol. 2005;50(7):645-51.

Ban SH, Kim JE, Pandit S & Jeon JG (2012) Influences of Dryopteris crassirhizoma Extract on the Viability, Growth and Virulence Properties of Streptococcus mutans. Molecules17: 9231-9244.

Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. Crit Rev Oral Biol Med. 2003;14(2):89-99.

Baral, P., Bagul, V., and Gajbhiye, S. (2020). Hemp seed oil for skin care (non-drug cannabis sativa L): A review. World J. Pharm. Res. 9, 2534–2556.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Baswan, S. M., Klosner, A. E., Glynn, K., Rajgopal, A., Malik, K., Yim, S., et al. (2020). Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) for skin health and disorders. Clin. Cosmet. investigational dermatology 13, 927–942. doi:10.2147/CCID. S286411

Bowen WH, Koo H. Biology of Streptococcus mutans-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. Caries Res. 2011;45(1):69-86.

Callaway, J. C. (2004). Hempseed as a nutritional resource: An overview. Euphytica 140, 65–72. doi:10.1007/s10681-004-4811-6

Callaway, J., Schwab, U., Harvima, I., Halonen, P., Mykkänen, O., Hyvönen, P., & Järvinen, T. (2005). Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment, 16*(2), 87-94.

Callaway, J., Schwab, U., Harvima, I., Halonen, P., Mykkänen, O., Hyvönen, P., & Järvinen, T. (2005). Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment, 16*(2), 87-94.

Coetzee, C.; Levendal, R.-A.; Van de Venter, M.; Frost, C. Anticoagulant effects of a Cannabis extract in an obese rat model. Phytomedicine 2007, 14, 333–337.

Crini, G., Lichtfouse, E., Chanet, G., and Morin-Crini, N. (2020). Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: A review. Environ. Chem. Lett. 18, 1451–1476. doi:10.1007/s10311-020-01029-2

De Vita, S., Finamore, C., Chini, M. G., Saviano, G., De Felice, V., De Marino, S., et al. (2022). Phytochemical analysis of the methanolic extract and essential oil from leaves of industrial hemp futura 75 cultivar: Isolation of a new cannabinoid derivative and biological profile using computational approaches. Plants 11, 1671. doi:10.3390/ plants11131671

บรรณานุกรม (ต่อ)

Figueiredo NL, de Aguiar SRMM, Falé PL, Ascensão L, Serralheiro MLM & Lino ARL (2010) The inhibitory effect of Plectranthus barbatus and Plectranthus ecklonii leaves on the viability, glucosyltransferase activity and biofilm formation of Streptococcus sobrinus and Streptococcus mutans.119: 660- 668.

Figuerêdo, J. S. D., Santos, F. P., Furtado, P. V., Andrade, T. J., Júnior, J. S., Lima, N. M., et al. (2022). “Natural products from plants with antimicrobial action,” in Promising antimicrobials from natural products (Cham, Switzerland: Springer).

Frassinetti, S.; Gabriele, M.; Moccia, E.; Longo, V.; Di Gioia, D. Antimicrobial and antibiofilm activity of Cannabis sativa L. seeds extract against Staphylococcus aureus and growth effects on probiotic Lactobacillus spp. Lwt 2020, 124, 109149.

Gerasymchuk, M., Robinson, G. I., Groves, A., Haselhorst, L., Nandakumar, S., Stahl, C., Kovalchuk, I. (2022). Phytocannabinoids Stimulate Rejuvenation and Prevent Cellular Senescence in Human Dermal Fibroblasts. *Cells, 11*, 3939.

Gerasymchuk, M., Robinson, G. I., Groves, A., Haselhorst, L., Nandakumar, S., Stahl, C., Kovalchuk, I. (2022). Phytocannabinoids Stimulate Rejuvenation and Prevent Cellular Senescence in Human Dermal Fibroblasts. *Cells, 11*, 3939.

Greg Green, The Cannabis Breeder's Bible, Green Candy Press, 2005, pp. 15-16

Hanna MN, Ferguson RJ, Li YH, Cvitkovitch DG. uvrA is an acid-inducible gene involved in the adaptive response to low pH in Streptococcus mutans. J Bacteriol. 2001;183(20):5964-73.

Hillman JD, Chen A, Snoep JL. Genetic and physiological analysis of the lethal effect of L-(+)-lactate dehydrogenase deficiency in Streptococcus mutans: complementation by alcohol dehydrogenase from Zymomonas mobilis. Infect Immun. 1996;64(10):4319-23.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Hillman JD. Genetically modified Streptococcus mutans for the prevention of dental caries. Antonie Van Leeuwenhoek. 2002;82(1-4):361-6.

Hourfane S, Mechqoq H, Bekkali AY, Rocha JM, El Aouad N. A Comprehensive Review on Cannabis sativa Ethnobotany, Phytochemistry, Molecular Docking and Biological Activities. Plants (Basel). 2023;12(6).

Ikarashi, N., Shiseki, M., Yoshida, R., Tabata, K., Kimura, R., Watanabe, T., Kamei, J. (2021). Cannabidiol Application Increases Cutaneous Aquaporin-3 and Exerts a Skin Moisturizing Effect. *Pharmaceuticals, 14*, 879.

Ikarashi, N., Shiseki, M., Yoshida, R., Tabata, K., Kimura, R., Watanabe, T., Kamei, J. (2021). Cannabidiol Application Increases Cutaneous Aquaporin-3 and Exerts a Skin Moisturizing Effect. *Pharmaceuticals, 14*, 879.

in 1 3 Cold-Pressed Vegetable Oils Extracted from the Mini Screw Press Model T3 by RP-HPLC/FLD. Science & Technology Asia, 27(3), 27 - 36.
ISBN 9781931160278

Islam B, Khan SN, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. Med Sci Monit. 2007;13(11):RA196-203.

Karas, J. A., Wong, L. J., Paulin, O. K., Mazeh, A. C., Hussein, M. H., Li, J., et al. (2020). The antimicrobial activity of cannabinoids. J. Antibiotics 9, 406. doi:10.3390/ antibiotics9070406

Knoll-Kohler E, Stiebel J. Amine fluoride gel affects the viability and the generation of superoxide anions in human polymorphonuclear leukocytes: an in vitro study. Eur J Oral Sci. 2002;110(4):296-301.

Martinelli, G., Magnavacca, A., Fumagalli, M., Dell'Agli, M., Piazza, S., & Sangiovanni, E. (2021). Cannabis sativa and Skin Health: Dissecting the Role of Phytocannabinoids. Planta Medica, 88, 492–506.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Michailidis, D., Angelis, A., Nikolaou, P. E., Mitakou, S., & Skaltsounis, A. L. (2021). Exploitation of Vitis vinifera, Foeniculum vulgare, Cannabis sativa and Punica granatum By-Product Seeds as Dermo-Cosmetic Agents. *Molecules, 26*, 731.

Michalak, M. (2023). Plant Extracts as Skin Care and Therapeutic Agents. *International Journal of Molecular Sciences, 24*, 15444.

Mnekin, L., & Ripoll, L. (2021). Topical Use of Cannabis sativa L. Biochemicals. *Cosmetics, 8*, 85.

Panpraneecharoen, S., & 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.

Panpraneecharoen, S., & 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.

Perez, E., Fernandez, J. R., Fitzgerald, C., Rouzard, K., & Tamura, M. (2022). In Vitro and Clinical Evaluation of Cannabigerol (CBG) Produced via Yeast Biosynthesis: A Cannabinoid with a Broad Range of Anti-Inflammatory and Skin Health-Boosting Properties. *Molecules, 27*, 491.

RS Mall. (2564). *กัญชง กับประโยชน์และสรรพคุณที่คุณอาจจะยังไม่รู้*. เรียกใช้เมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2566 จาก https://www.rsmall.com/blog/health_benefits_of_hemp.

S Montserrat-de la Paz, F Marín-Aguilar, M D García-Giménez, M A Fernández-Arche

Şeker, M., & Esen, Ö. (2021). The Effect of Hemp Seed Oil on Skin and Soap Performance. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 4*(3), 420 - 438.

Wronski,A., Jarocka-Karpowicz, I., Stasiewicz, A., & Skrzydlewska, E. (2023). Phytocannabinoids in the Pharmacotherapy of Psoriasis. *Molecules, 28*(3), 1-21.

Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Ziemlewska, A., & Nizioł-Łukaszewska, Z. (2021). Positive Effect of Cannabis sativa L. Herb Extracts on Skin Cells and Assessment of Cannabinoid-Based Hydrogels Properties. Molecules, 26, 802.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

หลักฐานการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วจ. ๐๐๓-๑

แบบฟอร์มรับรองการนำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์

๑. ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารจากกัญชง
Development of cosmetic and food products from Hemp.

๒. ชื่อนักวิจัย/นักประดิษฐ์ นางสาวศุมาลิณ ดีจันทร์, นางสาวนวรัตน์ มีชัย,
นางสาวผกามาศ ปะระทัง

๓. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

๔. ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท ทุนอุดหนุนการวิจัย ด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

๕. ปีที่งานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ดำเนินการเสร็จ ...2567.....

๖. ปีที่นำไปใช้ประโยชน์ .....2566.....

๗. การนำไปใช้ประโยชน์

๗.๑ ชื่อหน่วยงาน .....วิสาหกิจชุมชนสมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา.....
.....

๗.๒ ที่อยู่หน่วยงาน ...เลขที่ 146 หมู่ที่ 17 ตำบลบ้านโคก อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์.....
.....

ขอรับรองว่าได้นำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ ดังนี้

☐ ๑. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์และพัฒนาชุมชนในเชิงสาธารณะ (โปรดระบุรายละเอียด)
.....
.....
.....

☐ ๒. การนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาชุมชนในเชิงนโยบาย (โปรดระบุรายละเอียด)

.....

.....

.....

☑ ๓. การนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาชุมชนในเชิงพาณิชย์ (โปรดระบุรายละเอียด)

ผลิตนวัตกรรมสมุนไพรของชุมชน เพื่อผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ที่สามารถนำไปใช้ในครัวเรือน และเพิ่มศักยภาพต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถจำหน่ายเพื่อเพิ่มรายได้ให้กับสมาชิกในชุมชน

☐ ๔. การนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาชุมชนอื่นๆ (โปรดระบุรายละเอียด)

.....

.....

.....

ผลลัพธ์/ผลกระทบการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์และพัฒนาเป็นอย่างไร

เพื่อให้กิจการวิสาหกิจชุมชนใช้ประโยชน์ในการต่อยอดในอนาคต เช่น ผลิตภัณฑ์สมุนไพร ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ที่สามารถจำหน่ายต่อไป

.....

ประเทือง แก้วหล่อ

(นายประเทือง แก้วหล่อ)

ผู้นำไปใช้ประโยชน์

ตำแหน่ง ประธานกลุ่มวิสาหกิจชุมชน

สมุนไพรเพื่อสุขภาพบ้านเฮา

วันที่ให้ข้อมูล .....

หมายเหตุ

การใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณะ เช่น ผลงานวิจัยที่นำไปใช้ให้เกิดประโยชน์แก่สาธารณะในเรื่องต่างๆ ที่ทำให้คุณภาพชีวิตและเศรษฐกิจของประชาชนดีขึ้น ได้แก่ การใช้ประโยชน์ด้านสาธารณสุข ด้านการบริหารจัดการ สำหรับวิสาหกิจขนากกลางและขนาดย่อม (SME) ด้านการส่งเสริมประชาธิปไตย ภาคประชาชน ด้านศิลปะและวัฒนธรรม ด้านวิถีตามหลักปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง เป็นต้น

การใช้ประโยชน์เชิงนโยบาย เช่น ใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยเชิงนโยบายในการนำไปประกอบเป็นข้อมูลการประกาศใช้กฎหมาย หรือกำหนดมาตรการกฎเกณฑ์ต่างๆ โดยองค์กร หรือหน่วยงานภาครับและเอกชน เป็นต้น

การใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ เช่น งานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ที่นำไปสู่การพัฒนาสิ่งประดิษฐ์ หรือผลิตภัณฑ์ซึ่งก่อให้เกิดรายได้ หรือนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต เป็นต้น