วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

ผลของความหนาแน่นประชากรต่อผลผลิตเมล็ด และองค์ประกอบของกรดไขมันในเมล็ดกัญชง (*Cannabis sativa* L.)

Planting density populations affect seed yield and the composition of fatty acids in hemp (*Cannabis sativa* L.)

ปวริศา เประกันยา[1]*, ชานนท์ ลาภจิตร[1] และ คมสร ลมไธสง[2]

Pawarisa Perakunya[1]*, Chanon Lapjit[1] and Khomsorn Lomthaisong[2]

[1] *สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002*
[1] *Deprtment of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002*
[2] *สาขาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002*
[2] *Deprtment of Biochemical, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand*

บทคัดย่อ: ความหนาแน่นประชากรเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตเมล็ด และคุณภาพกรดไขมันในเมล็ดกัญชง อย่างไรก็ตาม ระดับความหนาแน่นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูก สภาพแวดล้อม และพันธุ์ที่ใช้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความหนาแน่นประชากรต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดกัญชงพันธุ์มอดินแดงเบอร์ 1 โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ทดสอบ 3 ระดับความหนาแน่น คือ 666, 1,000 และ 2,000 ต้น/ไร่ ผลการศึกษาพบว่า ที่ความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ กัญชงมีความสูง (245.25 เซนติเมตร) และผลผลิตเมล็ดต่อไร่ (355.45 กิโลกรัม/ไร่) สูงสุด เนื่องจากจำนวนต้นต่อพื้นที่มาก ในทางกลับกันความหนาแน่น 666-1,000 ต้น/ไร่ ให้ผลผลิตเมล็ดต่อต้นสูงกว่า (226.05-261.03 กรัม/ต้น) มีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักแห้งรวม และสัดส่วนกรด Alpha-linolenic acid (omega-3) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (15.93-16.79% เทียบกับ 12.80%) การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas Chromatography พบว่า ความหนาแน่นต่ำ (666-1,000 ต้น/ไร่) ส่งเสริมการสะสมกรดไขมันโอเมก้า-3 ซึ่งมีคุณค่าทางการแพทย์สูง ส่วนความหนาแน่นสูง (2,000 ต้น/ไร่) เหมาะสำหรับการผลิตเมล็ดเชิงปริมาณ จึงได้สรุปว่า สำหรับการผลิตเมล็ดเพื่อขาย แนะนำความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ แต่สำหรับการผลิตน้ำมันจากเมล็ดเพื่อการแพทย์ แนะนำความหนาแน่น 666-1,000 ต้น/ไร่ เพื่อให้ได้กรดไขมันโอเมก้า-3 ในสัดส่วนสูงสุด

คำสำคัญ: ความหนาแน่นของประชากรพืช; กรดไขมัน; ผลผลิตเมล็ดกัญชง

ABSTRACT: Population density significantly influences hemp growth, seed yield, and fatty acid composition. However, optimal planting density varies with location, environmental conditions, and cultivar characteristics. This study investigated the effects of planting density on growth parameters, yield components, and seed fatty acid profiles of hemp cultivar "Modindaeng No. 1" using a randomized complete block design (RCBD) with four replications. Three planting densities were evaluated: 666, 1,000, and 2,000 plants/rai. Results demonstrated that the highest density (2,000 plants/rai) produced maximum plant height (245.25 cm) and seed yield per rai (355.45 kg/rai) due to increased plant population per unit area. Conversely, lower densities (666 and 1,000 plants/rai) exhibited superior individual plant performance with higher seed yield per plant (226.05-261.03 g/plant), greater stem diameter, total dry weight, and significantly elevated alpha-linolenic acid (omega-3) content (15.93-16.79% vs. 12.80%). Gas chromatography analysis revealed that reduced planting density (666 and 1,000 plants/rai) enhanced

* Corresponding author: p.pawarisa@kkumail.com

Received: date; April 7, 2023 Revised: date; September 5, 2025

Accepted: date; September 5, 2025 Published: date; December 18, 2025

omega-3 fatty acid accumulation, which possesses high medicinal value, while high density (2,000 plants/rai) optimized quantitative seed production. No significant differences were observed in oil content, palmitic acid, or linoleic acid composition across treatments. In conclusion, for commercial seed production, a density of 2,000 plants/rai is recommended to maximize total yield. However, for medical-grade seed oil production, optimal densities are 666 and 1,000 plants/rai to maximize omega-3 fatty acid proportions, thereby enhancing the therapeutic value of hemp seed oil.

Keywords: plant density; fatty acids; hemp seed yield

บทนำ

กัญชง (*Cannabis sativa* subsp. sativa) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชียกลางมากกว่า 3,000 ปี เป็นพืชที่ได้รับการบันทึกไว้ในเอกสารเก่าโบราณหลายเล่มว่ามีการปลูกเพื่อใช้ประโยชน์จากเส้นใยมาแต่ดึกดำบรรพ์ ในปัจจุบัน กัญชงไม่ได้เป็นเพียงพืชที่ใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตเส้นใยในการผลิตสิ่งทอ และอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ แต่เป็นพืชที่มีรายงานเกี่ยวกับความเป็นประโยชน์ต่อสภาพแวดล้อม และสามารถสร้างผลกำไรให้กับเกษตรกรได้อย่างยั่งยืน เป็นพืชที่มีคุณประโยชน์และวัตถุประสงค์ในการผลิตหรือการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกัญชงไปใช้อย่างหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการใช้ประโยชน์จากเส้นใยเพื่อการถักทอเสื้อผ้า เชือก เนื่องจากเป็นส่วนที่มีความเหนียวและทน ทำกระดาษ ฉนวนกันความร้อน เชื้อเพลิงชีวภาพ วัสดุคลุมดินอินทรีย์ และเครื่องนอนสำหรับสัตว์ การตลาดของกรดไขมันทั่วโลกเติบโตมากขึ้น ตลาดหลักของกรดไขมันในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ยุโรป ตะวันออกกลาง แอฟริกา และอเมริกาเหนือ โดยเฉพาะประเทศอินเดีย ประเทศจีน เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของกลุ่มผู้สูงอายุ และความต้องการคุณค่าทางอาหาร (Devi and Khanam, 2019) กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่ม Omega-3 และ Omega-6 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นที่ร่างกายของมนุษย์ต้องการ และไม่สามารถสร้างเองได้ ต้องได้รับจากภายนอกเท่านั้น (García-Tejero et al., 2014) นอกจากการใช้ประโยชน์จากเมล็ดแล้วกัญชงยังเป็นพืชมีผลออกฤทธิ์ยับยั้ง กระตุ้น ระบบประสาท ฮอร์โมน และระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย จึงนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ การผลิตเมล็ดเพื่อนำไปใช้สกัดน้ำมันนั้นในเมล็ดกัญชงมีคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และการผลิตอาหาร เมล็ดกัญชงมีโปรตีนประมาณ 20-25% คาร์โบไฮเดรต 20-30% และไฟเบอร์ที่ไม่ละลายน้ำ 10-15% ปริมาณกรดไขมันในน้ำมันกัญชงใกล้เคียงกับกรดไขมันจำเป็นกรดไลโนเลอิก: สมดุลที่ดีที่สุดของกรดอัลฟาไลโนเลนิก 3 : 1 ซึ่งมีรายงานว่าเป็นเอกลักษณ์ในน้ำมันพืชทั่วไป กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) ประกอบด้วย linoleic acid (C18:2) 54-60% linolenic acid (C18:3) 15-20% และ oleic acid (C18:1) 11-13% รวมถึงโทโคฟีรอล คลอโรฟิลล์ เอ และบี แคโรทีน และแคนนาบินอยด์ (Theimer and Mo̤lleken 1995; Theimer, 1996) และอุดมไปด้วยแร่ธาตุ โดยเฉพาะฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และแคลเซียม รวมถึงธาตุเหล็กและสังกะสีในปริมาณที่เหมาะสม (Jones, 1995; Wirtschafter, 1995) ซึ่งเป็นปัจจัยร่วมของเอนไซม์ที่สำคัญสำหรับการเผาผลาญกรดไขมันของมนุษย์ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของแคโรทีนซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ "วิตามินเอ" และเป็นส่วนสำคัญของเส้นใยอาหาร เมล็ดกัญชงส่วนใหญ่มีน้ำมันประมาณ 25-35% แม้ว่าพันธุ์หนึ่งที่ปลูกในรัสเซียเรียกว่า "olifera" มีรายงานว่ามีถึง 40% (Small, 1979; Mathieu, 1980) น้ำมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนสูงนี้มีการใช้งานคล้ายกับน้ำมันลินสีด เช่น เชื้อเพลิงสำหรับให้แสงสว่าง หมึกพิมพ์ น้ำยารักษาเนื้อไม้ แต่ยังถูกใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับสบู่และสารซักฟอก (Olschewski, 1995) และเป็นสารให้ความชุ่มชื้นในผลิตภัณฑ์ดูแลร่างกาย อย่างไรก็ตาม คุณภาพทางโภชนาการของน้ำมันนั้นมีความสำคัญเป็นพิเศษ ผลพลอยได้จากเมล็ดที่บดแล้วเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์และวัตถุดิบของมนุษย์ เนื่องจากสเปกตรัมของกรดแอมิโน ซึ่งรวมถึงกรดแอมิโนทั้ง 8 ชนิดที่จำเป็นต่ออาหารของมนุษย์ (Jones 1995; Wirtshafter, 1995) รวมถึงคาร์โบไฮเดรตและน้ำมันที่เหลืออยู่เล็กน้อย โปรตีนสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดกัญชง ได้แก่ edestin และ albumin ซึ่งเป็นโปรตีนคุณภาพสูง ย่อยง่าย เป็นชนิดที่พบในไข่ขาว และเลือดอย่างไรก็ตาม เมล็ดกัญชงที่ผ่านการอบด้วยความร้อนจะทำลายโปรตีนนี้และทำให้ไม่ละลายน้ำ ซึ่งอาจส่งผลต่อการย่อยได้ (Stockwell et al., 1964)

การปลูกกัญชงเพื่อใช้ประโยชน์จากเมล็ดมีความจำเป็นที่จะต้องมีการใช้ระยะเวลาในการปลูกที่มากกว่าการปลูกเพื่อต้องการเส้นใย เนื่องจากต้องรอให้กัญชงมีการผสมและการเจริญเติบโตของรังไข่เพื่อให้ได้เมล็ดแล้วค่อยเก็บเกี่ยวเมื่อเมล็ดมีการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์แล้ว ระบบการจัดการ วิธีการผลิต และระยะปลูกกัญชงจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการปลูก โดยความแตกต่างทาง

สภาพแวดล้อม ระดับความหนาแน่นของประชากรต่อพื้นที่ปลูก ปริมาณธาตุอาหาร และอายุในการเก็บเกี่ยวผลผลิต มีผลต่อปริมาณ และคุณภาพผลผลิตของกัญชง (Salentijn et al., 2015) จากการศึกษาของ Campiglia et al. (2017) รายงานว่าการปลูกกัญชงจำนวนต้น 120 ต้น/ตารางเมตร เป็นความหนาแน่นที่เหมาะสมในการผลิตลำต้น เมล็ด และช่อดอก โดยมีระยะห่างระหว่างแถว 0.5 เมตร โดยทั่วไปแล้วอัตราความหนาแน่นและวิธีปลูกที่แนะนำนั้นแตกต่างกันไป เช่น ปลูกโดยใช้วิธีการหว่านเมล็ดโดยเว้นระยะห่างระหว่างแถวตั้งแต่ 7.6 ถึง 17.8 เซนติเมตร ปลูกที่ความหนาแน่น 50 ถึง 750 ต้น/ตารางเมตร (Dempsey, 1975) และมีรายงานที่แนะนำระยะห่างระหว่างต้นของกัญชงที่ปลูกเพื่อเส้นใยตั้งแต่ 20 ถึง 40 เซนติเมตร (Bócsa and Karus, 1998) การปลูกกัญชงที่มีระดับความหนาแน่นของต้นสูงจะกระตุ้นให้ความสูงต้นเพิ่มขึ้น และมีปริมาณการแตกตาดอกที่ลดลง ฉะนั้น การปลูกกัญชงที่มีวัตถุประสงค์เพื่อเส้นใยจะปลูกชิดกันเพื่อส่งเสริมการยืดของลำต้น และลดการแตกแขนงส่งผลให้เส้นใยยาว และแข็งแรง (Amaducci et al., 2002) อีกทั้งการปลูกระยะชิดสามารถลดการเกิดวัชพืชจึงช่วยลดต้นทุนการใช้สารกำจัดวัชพืชได้ ในทางกลับกันกัญชงที่ปลูกเพื่อผลิตเมล็ด และสารสำคัญ ควรเว้นระยะห่างระหว่างต้นอย่างเหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณการออกดอก และการแตกแขนง พืชกัญชงที่ปลูกเพื่อผลผลิตดอก เพื่อนำไปสกัดสาร Cannabidiol (CBD) จะได้ผลผลิตสูงสุดที่ระดับความหนาแน่นของต้นพืชอยู่ที่ 15 ต้น/ตารางเมตร โดยมีรายงานว่าระยะห่างระหว่างแถวในการปลูกกัญชงเพื่อผลิตดอกนั้นคล้ายกับการปลูกกัญชงเพื่อผลิตเมล็ด (Williams and Mundell, 2019) ระดับความหนาแน่นในการปลูกกัญชงเพื่อผลิตเมล็ดเริ่มที่ 30 ถึง 75 ต้น/ตารางเมตร (Hennink et al., 1994) จากการศึกษาเหล่านี้ระบุว่าระดับความหนาแน่นต้นกัญชงจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการปลูก และสภาพแวดล้อมของแต่ละพื้นที่ อย่างไรก็ตามความหนาแน่นที่เหมาะสมจำเป็นจะต้องมีการศึกษาอย่าเฉพาะเจาะจง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความหนาแน่นของประชากรกัญชงที่มีผลต่อการเจริญ เติบโต ผลผลิต คุณภาพเมล็ดพันธุ์ และองค์ประกอบของกรดไขมันของเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ มอดินแดงเบอร์ 1

วิธีการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design ; RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีระดับความหนาแน่นของประชากรกัญชง 3 ระดับ คือ

- ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ (ระยะปลูก 160 x 50 เซนติเมตร; PD1)
- ระดับความหนาแน่น 1,000 ต้น/ไร่ (ระยะปลูก 160 x 100 เซนติเมตร; PD2)
- ระดับความหนาแน่น 666 ต้น/ไร่ (ระยะปลูก 160 x 150 เซนติเมตร; PD3)

ดำเนินการศึกษาในสภาพแปลง ในช่วงเดือนมกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2565 ณ แปลงทดลองหมวดพืชผัก สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (อุณหภูมิเฉลี่ย 33.17 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 88.70% และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสะสม 122.9 มิลลิเมตร)

Figure 1 The plant density of hemp in experimental plots influenced growth, seed yield and fatty acid content in hemp seed; (a) PD1 is plant density were 2,000 plant/rai, (b) PD2 is plant density were 1,000 plant/rai and (c) PD3 is plant density were 666 plants/rai

การเตรียมต้นกล้า การปลูก และการเก็บเกี่ยว

เตรียมต้นกล้าโดยการนำเมล็ดพันธุ์กัญชงมอดินแดงเบอร์ 1 ที่ทำการคัดเลือกแล้วมาบ่มในกล่องบ่มประมาณ 3-4 วัน เมื่อเมล็ดเริ่มมีตุ่มรากให้ย้ายลงถาดเพาะกล้าขนาด 104 หลุม และเมื่อต้นกล้ามีอายุครบ 21 วัน จึงทำการย้ายปลูกตามระยะปลูกที่กำหนด คือ PD1, PD2 และ PD3 ร่วมกับการให้น้ำ และปุ๋ยด้วยระบบน้ำหยด ให้แสงด้วยหลอดไฟ LED 25 วัตต์ เป็นเวลา 30 วัน 16 ชั่วโมง/วัน รวมแสงธรรมชาติ นับตั้งแต่ทำการย้ายปลูก หลังจากนั้นเมื่อครบกำหนดหยุดให้แสง 1-2 สัปดาห์ต้นจะเริ่มแสดงเพศดอกในการศึกษาครั้งนี้จะทำการผสมแบบเปิด เมื่อต้นเพศผู้ปล่อยละอองผสมกับต้นเพศเมียจนหมดอายุขัย ต้นจะเริ่มเหลืองและเหี่ยว จากนั้นให้ตัดต้นเพศผู้ทิ้ง และเหลือไว้เฉพาะต้นเพศเมียให้โตจนถึงระยะเก็บเกี่ยวเมล็ด เริ่มเก็บเกี่ยวเมล็ดกัญชงได้เมื่อมีอายุ 90 วันหลังย้ายปลูก โดยสังเกตที่สีของกลีบเลี้ยงที่หุ้มเมล็ดอยู่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และเริ่มปริแตกออกจากกลีบเลี้ยงจึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต

การบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

บันทึกความสูงต้น และความกว้างทรงพุ่ม ที่อายุ 90 วันหลังปลูก โดยใช้หน่วยเป็นเซนติเมตร บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น โดยใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร และบันทึกจำนวนกิ่ง สุ่มจำนวนต้น 5 ต้น/หน่วยทดลอง และเว้นการเก็บข้อมูลแถวริม ชั่งน้ำหนักแห้งรวม ใช้หน่วยเป็นกรัม สุ่มเก็บตัวอย่างต้นจากหน่วยทดลอง จำนวน 5 ต้น มาแยกส่วนของ ใบ ลำต้น กิ่ง ราก และเมล็ด นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้งในแต่ละส่วนและนำค่าที่ได้มารวมกัน

การบันทึกข้อมูลผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต

เก็บบันทึกข้อมูลน้ำหนักผลผลิตเมล็ด/ต้น ผลผลิตเมล็ด/ไร่ และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด โดยใช้หน่วยเป็นกรัม ทำการชั่งน้ำหนักเมล็ดที่ทำการกะเทาะเมล็ดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้ว จากการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นจากหน่วยทดลอง จำนวน 5 ต้น โดยเว้นการเก็บข้อมูลแถวริม

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการบันทึกผลการทดลองไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ STATISIC 10

การเตรียมตัวอย่างน้ำมันจากเมล็ดกัญชง

ตัวอย่างเมล็ดกัญชงที่กะเทาะเอากลีบเลี้ยงออกหมดแล้วนำมาปั่นละเอียด และชั่งตัวอย่างที่ปั่นแล้วตัวอย่างละ 1.0000 กรัม ลงในหลอดทดลองฝาเกลียว เติมเฮกเซนปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (New Brunswick™ Innova® 40 Series Benchtop Incubator Shakers, เยอรมัน) ที่ความเร็ว 200 รอบ/วินาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นแยกสารละลายด้วยการนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman™ Filter paper No 1, อังกฤษ) ลงในขวดทดลองขวดใหม่ แล้วนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นชั่งน้ำหนักของน้ำมันที่อยู่ในขวดแล้วเติมเฮกเซนลงไป 1,000 ไมโครลิตร เพื่อละลายน้ำมันกลับคืน และทำการคำนวณหาปริมาณน้ำมัน 500 ไมโครลิตร

การเตรียม Fatty acid methyl esters (FAMEs)

นำสารละลายที่มีน้ำมันปริมาณ 500 ไมโครลิตร มาเติม Internal standard คือ C17:0 ปริมาณ 80 ไมโครกรัม จากนั้นนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นเติมเฮปเทนปริมาณ 500 ไมโครลิตร และเติม Ruiz's solution (Ruiz-Lopez et al., 2003) **(Table 1)** ลงไป 1,000 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารที่ได้มาปรับอุณหภูมิที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม 0.9% NaCl ปริมาณ 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge; ยี่ห้อ Hettich รุ่น model rotina 380R) ที่ 2,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นดูด Supernatant มาปริมาณ 200 ไมโครลิตร แล้วเติมเฮปเทนลงไป 300 ไมโครลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค gas chromatography

การเตรียมสารละลาย Ruiz's solution

Table 1 Ruiz's solution preparation

สารเคมีที่ใช้	Methanol	Toluene	2,2-Dimethoxypropane	Conc. Sulfuric acid
(ml)	60.00	20.00	5.00	2.00

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค gas chromatography

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Agilent Technologies, 7890B GC System, สหรัฐอเมริกา) พร้อมเครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ (Agilent Technologies, 7693 Autosampler, สหรัฐอเมริกา) คอลัมน์ชนิด Capillary column Restek Stabilwax®-MS (30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร, สหรัฐอเมริกา) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟตั้งอุณหภูมิของส่วนฉีดสารที่ 230 องศาเซลเซียส ปริมาตรการฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร โปรแกรมอุณหภูมิของตู้อบเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 210 องศาเซลเซียส คงที่ไว้เป็นเวลา 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิต่อไปจนถึง 230 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียส/นาที คงที่ไว้เป็นเวลา 4 นาที เครื่องตรวจวัดมีอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส โดยมีแก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา (Carrier gas) ที่อัตราการไหลของแก๊สคือ 1 มิลลิลิตร/นาที วิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันโดยเทียบกับเวลาการน่วง (Retention time) ของกรดไขมันมาตรฐาน

ผลการศึกษา

ความหนาแน่นของจำนวนประชากรกัญชงต่อลักษณะการเจริญเติบโต

จากการศึกษา พบว่า เมื่อปลูกกัญชงที่ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ ต้นกัญชงมีความสูงมากที่สุด (245.25 เซนติเมตร) **(Table 2)** ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความหนาแน่น 1,000 และ 666 ต้น/ไร่ (218.00 และ 209.20 เซนติเมตร ตามลำดับ) ในขณะที่ลักษณะเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นที่ความหนาแน่น 666 ต้น/ไร่ มีค่าเท่ากับ 34.93 มิลลิเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันกับความหนาแน่นที่ 1,000 ต้น/ไร่ (31.13 มิลลิเมตร) แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความหนาแน่นที่ 2,000 ต้น/ไร่ (29.62 มิลลิเมตร) นอกจากนี้ยังพบว่า ลักษณะความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแขนงของทั้งสามความหนาแน่นนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ความหนาแน่นของจำนวนประชากรกัญชงต่อลักษณะผลผลิต

จากผลการทดลอง พบว่า การปลูกกัญชงที่ระดับความหนาแน่น 666 และ 1,000 ต้น/ไร่ ทำให้มีน้ำหนักสดรวมต่อต้นมากที่สุด (1,771.70 และ 1,684.80 กรัม/ต้น ตามลำดับ) **(Table3)** ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติจากระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ (1,376.60 กรัม/ต้น) เช่นเดียวกับน้ำหนักสดกิ่งต่อต้นที่มีน้ำหนักมากที่สุดเมื่อปลูกที่ระดับความหนาแน่น 666 และ1,000 ต้น/ไร่ (783.80 และ 720.00 กรัม/ต้น) อย่างไรก็ตาม น้ำหนักสดใบ ลำต้น และราก ของต้นกัญชงที่ปลูกในความหนาแน่นทั้ง 3 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในส่วนน้ำหนักแห้งใบที่ปลูกที่ระดับความหนาแน่น 666 ต้น/ไร่ (217.20 กรัม/ต้น) มีค่าไม่แตกต่างจากความหนาแน่นที่ 1,000 ต้น/ไร่ (197.65 กรัม/ต้น) **(Table 4)** แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความหนาแน่นที่ 2,000 ต้น/ไร่ (155.15 กรัม/ต้น) อีกทั้งการตอบสนองของลักษณะน้ำหนักแห้งรวมต่อต้นต่อความหนาแน่นของจำนวนประชากรกัญชงยังตอบสนองไปทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักแห้งใบ นอกจากนี้แล้วน้ำหนักแห้งกิ่งมีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 457.90 กรัม/ต้น ที่ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความหนาแน่น 666 และ 1,000 ต้น/ไร่

ความหนาแน่นของจำนวนประชากรกัญชงต่อผลผลิตเมล็ด

จากผลการทดดลอง พบว่า ผลผลิตเมล็ดกัญชงต่อต้นที่ความหนาแน่น 1,000 และ 666 ต้น/ไร่ ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงที่สุด (226.05 และ 261.03 กรัม/ต้น ตามลำดับ) **(Table 5)** มากกว่าความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ (177.73 กรัม/ต้น) ในทางตรงกันข้ามกับผลผลิตเมล็ดกัญชงต่อไร่ที่ความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 355.45 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความหนาแน่น 1,000 และ 666 ต้น/ไร่ (226.05 และ 173.85 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ) ในขณะที่น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทั้งสามระดับความหนาแน่น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 38.53 – 41.77 กรัม ซึ่งแสดงให้เก็นว่าขนาดเมล็ดไม่ได้รับผลกระทบจากความหนาแน่นการปลูก

ความหนาแน่นของจำนวนประชากรกัญชงต่อองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ด

จากการศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดกัญชงด้วยเทคนิค Gas Chromatography พบว่า ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ มีปริมาณกรด Oleic acid (โอเมก้า-9) สูงที่สุดเท่ากับ 18.32% ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับความหนาแน่น 666 และ 1,000 ต้น/ไร่ (15.99 และ 14.12% ตามลำดับ) **(Table 6)** ในทางกลับกัน ที่ระดับความหนาแน่น 666 และ 1,000 ต้น/ไร่ ให้ปริมาณ Alpha-linolenic acid (โอเมก้า-3) สูงที่สุดเท่ากับ 16.79 และ 15.93% ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ (12.80%) อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำมันรวม (Oil content) มีค่าอยู่ในช่วง 92.25-94.50 มิลลิกรัม โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับปริมาณ Palmitic acid (9.56-9.86%) และ Linoleic acid (โอเมก้า-6) (57.36-60.39%) ที่ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติในทั้งสามระดับความหนาแน่น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นการปลูกมีผลเฉพาะต่อกรดไขมันประเภท Oleic acid และ Alpha-linolenic acid เท่านั้น

ผลการวิเคราะห์ Gas Chromatography ในเมล็ดกัญชง

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas Chromatography แสดงให้เห็นรูปแบบการกระจายตัวของกรดไขมันแต่ละชนิดอย่างชัดเจน **(Figure 3, 4 และ 5)** โดย Chromatogram ของแต่ละ Treatment แสดงค่า retention time ที่แตกต่างกันสำหรับกรดไขมันแต่ละชนิด ซึ่งพบว่า พีคของ Alpha-linolenic acid มีขนาดใหญ่ที่สุดใน Treatment PD2 และ PD3 (ความหนาแน่น 1,000 และ 666 ต้น/ไร่) ในขณะที่พีคของ Oleic acid มีขนาดใหญ่กว่าใน Treatment PD1 (ความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่รายงานไว้

Table 2 The effect of planting density on the plant height, plant canopy, stem diameter and number of nodes of hemp at Khon Kaen Province between January to April 2022

Treatment	Plant height (cm)	Plant canopy (cm)	Stem diameter (mm)	Number of nodes (node)
PD1-2,000 (plant/rai)	245.25 A	121.15	29.618 B	10.41
PD2-1,000 (plant/rai)	218.00 B	134.85	31.130 AB	9.735
PD3-666 (plant/rai)	209.50 B	151.00	34.927 A	8.735
F-test	*	ns	*	ns
C.V. (%)	5.65	10.6	6.94	10.55

Mean in the same column followed by the different letters are significantly different by LSD (P<0.05, *)

ns; not significantly different (P>0.05)

Table 3 The effect of planting density on fresh weight (g/plant) of hemp at Khon Kaen Province between January to April 2022

Treatments	Fresh weight (g/plant)				Total Fresh weight
	Leave	Branch	Stem	Root	
PD1-2,000 (plant/rai)	317.75	507.79 B	363.45	187.65	1376.6 B
PD2-1,000 (plant/rai)	352.75	720.00 A	385.35	226.65	1684.8 A
PD3-666 (plant/rai)	342.3	783.80 A	397.1	248.5	1771.7 A
F-test	ns	**	ns	ns	*
C.V. (%)	13.15	8.95	16.21	19.27	9.94

Mean in the same column followed by the different letters are significantly different by LSD (P<0.05, *)

ns; not significantly different (P>0.05)

Table 4 The effect of planting density on dry weight (g/plant) of hemp at Khon Kaen Province between January to April 2022

Treatments	Dry weight (g/plant)				Total dry weight
	Leave	Branch	Stem	Root	
PD1-2,000 (plant/rai)	155.15 B	266.85 B	151.35	78.55	651.90 B
PD2-1,000 (plant/rai)	197.65 AB	341.20 B	154.4	90.60	783.85 AB
PD3-666 (plant/rai)	217.20 A	457.90 A	173	108.95	957.05 A
F-test	*	**	ns	ns	*
C.V. (%)	13.37	16.03	20.86	15.4	14.21

Mean in the same column followed by the different letters are significantly different by LSD (P<0.05, *)

ns; not significantly different (P>0.05)

Table 5 The effect of planting density on seed yield of hemp at Khon Kaen Province between January to April 2022

Treatments	Seed Yield (g./plant^{-1})	Seed Yield (kg./rai^{-1})	1000 seed Weight (g)
PD1-2,000 (plant/rai)	177.73 B	355.45 A	41.77
PD2-1,000 (plant/rai)	226.05 A	226.05 B	38.94
PD3-666 (plant/rai)	261.03 A	173.85 C	38.53
F-test	**	*	ns
cv.%	10.23	6.84	4.9

Mean in the same column followed by the different letters are significantly different by LSD (P<0.05, *)

ns; not significantly different (P>0.05)

Table 6 Content of fatty acid composition (% of total oil) of hemp seed at Khon Kaen Province between January to April 2022

Treatments	Oil content (mg)	Palmitic acid (C16:0)	Oleic acid (C18:1)	Linoleic acid (18:2)	α-Linolenic acid (18:3)
PD1-2,000 (plant/rai)	93.00	9.86	18.32 a	59.02	12.80 b
PD2-1,000 (plant/rai)	92.25	9.56	14.12 b	60.39	15.93 a
PD3-666 (plant/rai)	94.500	9.86	15.99 ab	57.36	16.79 a
F-test	ns	ns	**	ns	**
CV%	10.65	5.58	10.89	4.44	9.40

Mean in the same column followed by the different letters are significantly different by LSD (P<0.05, *)

ns; not significantly different (P>0.05)

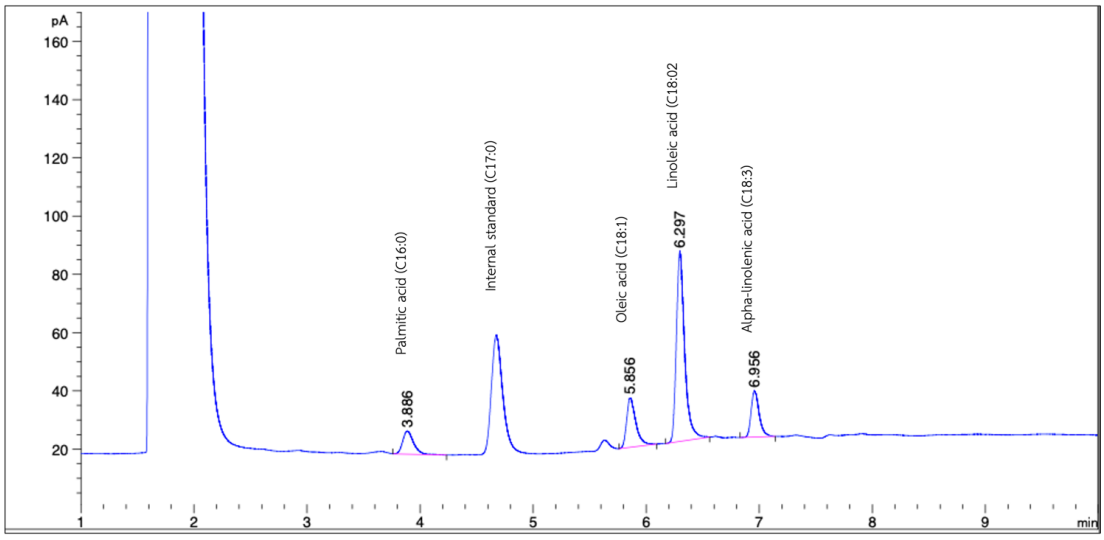

Figure 2 Gas chromatogram for fatty acid analysis of hemp seed oil from PD1

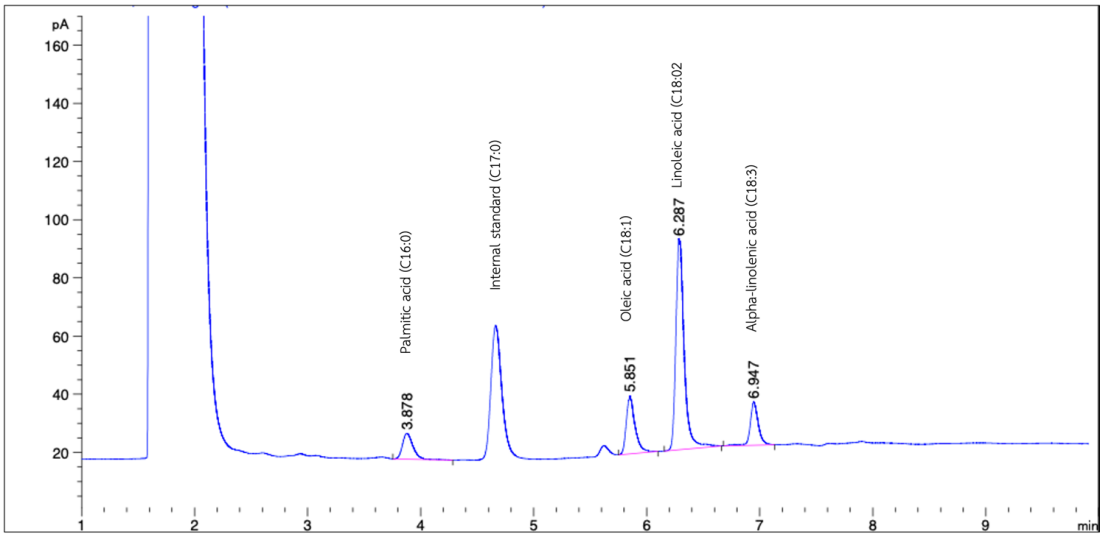

Figure 3 Gas chromatogram for fatty acid analysis of hemp seed oil from PD2

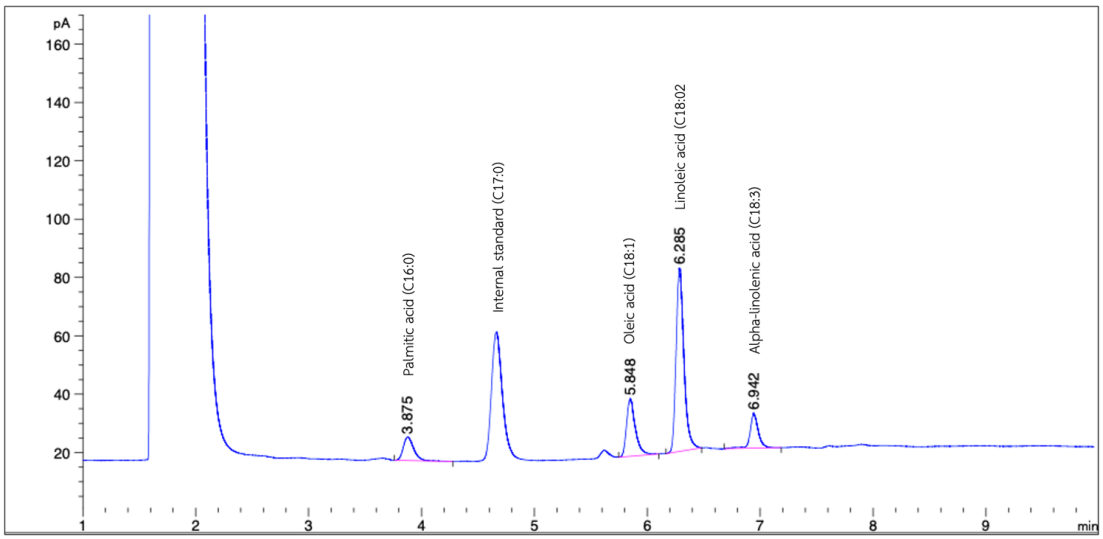

Figure 4 Gas chromatogram for fatty acid analysis of hemp seed oil from PD3

วิจารณ์

ความหนาแน่นของการปลูกกัญชงมีผลกระทบที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตเมล็ด และคุณภาพองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดกัญชง ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงปฏิสัมพันธ์ที่ซับซ้อนระหว่างความหนาแน่นของประชากรกับลักษณะต่าง ๆ ของกัญชง ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ดังนี้

ผลต่อลักษณะการเจริญเติบโต การที่กัญชงที่ปลูกในความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ มีความสูงมากที่สุด (245.25 เซนติเมตร) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นที่ต่ำกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Amaducci et al. (2008) และ Ranalli (1999) ซึ่งได้อธิบายว่าเป็นผลจากการแข่งขันระหว่างต้นพืชในการยืดหาแสง หากมีความหนาแน่นสูง อาจทำให้พืชเกิดปรากฏการณ์ "shade avoidance response" ซึ่งกระตุ้นให้ลำต้นยืดตัวเพื่อหลีกเลี่ยงการถูกบดบังจากแสงแดด การตอบสนองนี้เป็นกลไกทางสรีรวิทยาพืชที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชที่ต้องการแสงแดดสูง ในทางกลับกัน เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของกัญชงที่ปลูกในความหนาแน่นต่ำ (666

ต้น/ไร่) มีขนาดใหญ่กว่า (34.93 มิลลิเมตร) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นสูง (29.62 มิลลิเมตร) แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีพื้นที่เพียงพอ พืชจะมุ่งเน้นการพัฒนาโครงสร้างที่แข็งแรงมากกว่าการแข่งขันด้านความสูง (Amaducci et al., 2008)

ผลต่อการผลิตชีวมวลและผลผลิต น้ำหนักแห้งรวมต่อต้นของกัญชงที่ปลูกในความหนาแน่นต่ำ (666-1,000 ต้น/ไร่) มีค่าสูงกว่าต้นที่ปลูกในสภาพความหนาแน่นสูงอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นผลจากการได้รับแสงแดดและทรัพยากรอื่น ๆ อย่างเพียงพอ การศึกษาของ Danziger and Bernstein (2021) ได้อธิบายว่าแสงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและการสะสมชีวมวล เมื่อพืชได้รับแสงเพียงพอจะสามารถดำเนินการสังเคราะห์ด้วยแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตและการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น ดังแสดงให้เห็นด้วยการที่พืชมีผลผลิตเมล็ดต่อต้นที่สูงกว่าการปลูกภายใต้ความหนาแน่นต่ำ (261.03 และ 226.05 กรัม/ต้น สำหรับ 666 และ 1,000 ต้น/ไร่ ตามลำดับ) และ (177.73 กรัม/ต้น สำหรับ 2,000 ต้น/ไร่) สะท้อนถึงการได้รับปัจจัยการผลิตต่างๆที่ส่งเสริมต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพียงพอสำหรับการผลิตช่อดอก อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาผลผลิตรวมต่อไร่ กัญชงที่ปลูกภายใต้ความหนาแน่นสูง (355.45 กิโลกรัม/ไร่) ให้ผลผลิตสูงกว่าเนื่องจากจำนวนต้นต่อพื้นที่มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับหลักการ "compensation effect" ที่พบในการผลิตพืชหลายชนิด (Danziger and Bernstein, 2021)

ผลต่อองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ด การที่ความหนาแน่นต่ำ (666-1,000 ต้น/ไร่) ให้สัดส่วนกรด Alpha-linolenic acid (omega-3) สูงกว่า (15.93-16.79%) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นสูง (12.80%) เป็นผลการค้นพบที่มีความสำคัญทางการแพทย์และโภชนาการอย่างยิ่ง การศึกษาของ Singer et al. (2016) ได้รายงานว่าคุณภาพและปริมาณน้ำมันในเมล็ดพืชได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม โดยพืชที่เจริญเติบโตในสภาพเครียด เช่น การแข่งขันสูง อาจมีการเปลี่ยนแปลงในการสังเคราะห์กรดไขมัน กลไกที่เป็นไปได้ในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันอาจเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ fatty acid desaturase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่รับผิดชอบในการสร้างพันธะคู่ในกรดไขมัน สภาพแวดล้อมที่เครียดน้อยกว่า (ความหนาแน่นต่ำ) อาจส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ **Δ**15-desaturase ที่แปลง Linoleic acid (18:2) เป็น Alpha-linolenic acid (18:3) ได้ดีขึ้น การที่ปริมาณ Oleic acid สูงขึ้นในความหนาแน่นสูง (18.32%) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นต่ำ (14.12-15.99%) อาจเป็นผลจากการลดลงของกิจกรรม **Δ**12-desaturase ภายใต้สภาพเครียด ซึ่งทำให้การแปลง Oleic acid เป็น Linoleic acid ลดลง **(Table 6 และ Figure 3, 4 และ 5)**

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สำหรับการผลิตเมล็ดเพื่อจำหน่ายเชิงปริมาณ การปลูกกัญชงในสภาพความหนาแน่น 2,000 ต้นต่อไร่ เป็นทางเลือกที่เหมาะสม เนื่องจากให้ผลผลิตรวมสูงสุด อย่างไรก็ตาม สำหรับการผลิตน้ำมันจากเมล็ดเพื่อการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์หรือเป็นอาหารเสริม การปลูกกัญชงที่ความหนาแน่น 666-1,000 ต้น/ไร่ จะเป็นทางเลือกที่เหมาะสม เนื่องจากให้สัดส่วนกรดไขมัน omega-3 ที่สูงกว่า ซึ่งมีคุณค่าทางการแพทย์สูง การเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Campiglia et al. (2017) ที่แนะนำความหนาแน่น 120 ต้น/ตารางเมตร (ประมาณ 1,920 ต้น/ไร่) สำหรับการผลิตเมล็ด แสดงให้เห็นว่าผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยสากล

สรุป

การปลูกกัญชงสายพันธุ์มอดินแดงเบอร์ 1 ที่ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ มีความสูงต้น และปริมาณผลผลิตเมล็ดต่อไร่สูงที่สุด (355.45 กิโลกรัม/ไร่) ซึ่งมากกว่าผลผลิตเมล็ดกัญชงที่ปลูกในระดับความหนาแน่น 1,000 ต้น/ไร่ และ666 ต้น/ไร่ แต่กัญชงที่ปลูกในระดับความหนาแน่น 1,000 และ 666 ต้น/ไร่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักแห้งรวม ปริมาณผลผลิตต่อต้น และสัดส่วนปริมาณกรดไขมันโอเมก้า 3 [Alpha-linolenic acid (C18:3)] สูงกว่าระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ อย่างมีนัยสำคัญ (15.93-16.79% เทียบกับ 12.80%) ดังนั้น หากต้องการปริมาณผลผลิตเมล็ดกัญชงควรปลูกกัญชงที่ระดับความหนาแน่น 2,000 ต้น/ไร่ แต่หากต้องการปลูกกัญชงเพื่อนำเมล็ดมาสกัดน้ำมันเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แนะนำให้ใช้ระดับความหนาแน่นประชากร 666 ถึง 1,000 ต้น/ไร่ เนื่องจากปริมาณโอเมก้า 3 ที่สูงซึ่งมีคุณค่าทางการแพทย์และโภชนาการมากกว่า

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากโปรแกรมวิจัย (Research Program) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอบคุณสาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ และสาขาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนสถานที่ทำวิจัย และสถานที่ในการวิเคราะห์กรดไขมันในเมล็ดกัญชง

เอกสารอ้างอิง

Amaducci, S., M. Errani, and G. Venturi. 2002. Plant population effects on fiber hemp morphology and production. Journal of Industrial Hemp. 7: 33-60.

Amaducci, S., A. Zatta. F. Pelatti, and G. Venturi. 2008. Influence of agronomic factors on yield and quality of hemp (*Cannabis sativa* L.) fibre and implication for an innovative production system. Field Crops Research. 107: 161-169.

Bócsa, I., and M. Karus. 1998. The Cultivation of Hemp: Botany, Varieties, Cultivation and Harvesting. Hemptech, Sabastopol, CA.

Campiglia, E., E. Radicetti, and R. Mancinelli. 2017. Plant density and nitrogen fertilization affect agronomic performance of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) in Mediterranean environment. Industrial Crops and Products. 100: 246–254.

Danziger, N., and N. Bernstein. 2021. Light matters: effect of light spectra on cannabinoid profile and plant development of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). Industrial Crops and Products. 164: 113351.

Dempsey, J. M. 1975. Fiber Crops. University of Florida Press, Gainesville, FL.

Devi, V., and S. Khanam. 2019. Study of ω-6 linoleic and ω-3 α-linolenic acids of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil extracted by supercritical CO_2 extraction: CCD optimization. Journal of Environmental Chemical Engineering. 7: 1-10.

García-Tejero, I. F., V. H. Durán-Zuazo, R. Pérez-Álvarez, A. Hernández, S. Casano, M. Morón, and J. L. Muriel-Fernández. 2014. Impact of plant density and irrigation on yield of hemp (*Cannabis sativa* L.) in a mediterranean semi-arid environment. Journal of Agricultural Science and Technology. 16: 887-895.

Hennink, S., E. P. M. De Meijer, and H. M. G. van der Werf. 1994. Fiber hemp in the Ukraine. P. 261-278. In: E. Rosenthal. Hemp Today. Quick American Archives, Oakland, CA.

Jones, K. 1995. Nutritional and medicinal guide to hemp seed. Rainforest Botanical Laboratory, Gibsons, B.C.

Mathieu, J.-P., 1980. Chanvre (hemp). Techniques Agric*oles.* 5: 1-10.

Olschewski, M. 1995. Umweltvertragliche Tenside fur Wasch- und Reingungsmittel auf Naturstoffbasis. P. 562-567. In: Bioresource Hemp. 2nd Edition. nova-Institute, Cologne.

Ranalli, P. 1999. Agronomical and Physiological Advances in Hemp Crops. P. 61-84. In: Advances in Hemp Research.

Ruiz-Lopez, N., E. Martinez-Force, and R. Garcés. 2003. Sequential one-step extraction and analysis of triacylglycerols and fatty acids in plant tissues. Analytical Biochemistry. 317: 247–254.

Salentijn, E. M. J., Q. Zhang, S. Amaducci, M. Yang, and L. M. Trindade. 2015. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. Industrial Crops and Products. 68: 32–41.

Singer, S. D., J. Zou, and R. J. Weselake. 2016. Abiotic factors influence plant storage lipid accumulation and composition. Plant Science. 243: 1-9.

Small, E. 1979. Practical and natural taxonomy for Cannabis. P. 171-211. In: E. Small. The species problem in Cannabis. Corpus, Toronto.

Stockwell, D. M., J. M. Dechary, and A. M. Altschul. 1964. Chromatography of edestin at 50 degrees. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. 82: 221-230.

Theimer, R. R. 1996. Personal communication.

Theimer, R. R., and H. Mö̲lleken. 1995. Analysis of the oil from different hemp cultivars - perspectives for economical utilization. P. 536-543. In: Bioresource Hemp. 2nd Edition. nova-Institute, Cologne.

Williams, D. W., and R. Mundell. An introduction to industrial hemp and hemp agronomy. Available: http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/ID/ID250/ID250.pdf. Accessed Dec. 23, 2019.

Wirtshafter, D. 1995. Nutrition of hemp seeds and hemp seed oil. P. 546-555. In: Bioresource Hemp. 2nd Edition. nova-Institute, Cologne.