วารสารผลิตกรรมการเกษตร
MAEJO JOURNAL OF AGRICULTURAL PRODUCTION

การประเมินองค์ประกอบทางเคมี และผลของตัวทำละลายต่อสารสำคัญและการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF1

Evaluation of Chemical Composition and Various Solvent Extracts of Hemp Seed Strain RPF1 on its Active Compound and Antioxidant Activity

กนิษฐา สุขเกิด และ ลลิตา ศิริวัฒนานนท์*
Kanittha Sookkerd and Lalita Siriwattananon*

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110
Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi, Pathum Thani 12110

* Corresponding Authorl: Lalita_s@rmutt.ac.th

(Received: 15 June 2022; Revised: 24 January 2023; Accepted: 14 February 2023)

Abstract

In the past research and development related to hemp in Thailand mainly focuses on the utilization of stem and fiber quality while there is a few research on leaves, roots and seeds. The seeds obtained from cultivation can be classified into two types: seeds that can be used for breeding or cultivation, and seeds for consumption. The consumption seed type cannot be propagated therefore it was the agricultural wasted. So, this research interest has been paid to seeds for consumption and unprofitable. The research aims were to evaluate the nutritional values and effect of extractive solvents on the extraction efficiency of antioxidants in hemp seed (*Cannabis sativa* L.) strain RPF1. Different solvents including distilled water, ethanol (50%) and ethanol (99.99%) were used in the Soxhlet extraction method. The results showed that moisture content, water activity (aw), protein ash fiber carbohydrate and fat of hemp seed RPF 1 were 5.81% 0.65 36.87% 5.12% 12.04% 20.99% and 24.43%, respectively. Efficacy of antioxidant extraction from hemp seeds was compared by DPPH. It was found that ethanol (99.99%) extraction provided the highest antioxidant content (80.21 mg Trolox eq./g) ($p < 0.05$), while the phenolic compounds of hemp seed extract with distilled water showed the highest content (87.98 mg Gallic acid eq./g). According to the results, ethanol (99.99%) has highly efficient that can be used for the extraction with high antioxidant activity in hemp seeds. On the other hand, distilled water might be alternative option for phenolic compound extraction from hemp seeds.

Keywords: Hemp seed, antioxidant activity, phenolic compounds, extractive solvent

บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาที่เกี่ยวข้องกับกัญชงในประเทศไทยในช่วงที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะเน้นการศึกษาการใช้ประโยชน์จากส่วนของลำต้นและคุณภาพเส้นใยเป็นหลัก ในขณะงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับใบ ราก และเมล็ดนั้นยังมีน้อย โดยเมล็ดที่ได้จากการเพาะปลูกจำแนกได้ 2 ประเภท คือ เมล็ดที่สามารถนำไปทำพันธุ์เพาะขยายพันธุ์ได้ และเมล็ดพันธุ์เพื่อการบริโภค โดยเมล็ดพันธุ์เพื่อการบริโภคซึ่งเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้ ถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ กลุ่มสารสำคัญ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดกัญชง (*Cannabis sativa* L.) สายพันธุ์ RPF 1 ผลจากการทดลองพบว่า ในเมล็ดกัญชง RPF 1 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 5.81 ปริมาณน้ำอิสระ 0.65, โปรตีนร้อยละ 36.87 เถ้าร้อยละ 5.12, เส้นใยร้อยละ 12.04, คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 20.99 และไขมันร้อยละ 24.43 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเมล็ดกัญชงด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล (50%) และเอทานอล (99.99%) โดยใช้เทคนิคซอกเลต (Soxhlet extraction method) และวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าการสกัดเมล็ดกัญชงด้วยเอทานอล (99.99%) ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (80.21 mg Trolox eq./g) ปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในการสกัดด้วยน้ำกลั่น (87.98 mg Gallic acid eq./g) จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเอทานอล (99.99%) เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงที่สามารถนำไปใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดกัญชง แต่ในทางกลับกันหากต้องการสกัดสารฟีนอลิกให้ได้ปริมาณสูง น้ำกลั่นอาจเป็นตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพมากกว่า

คำสำคัญ: เมล็ดกัญชง สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลลิก ตัวทำละลาย

คำนำ

หลังเกิดสถานการณ์โควิด 19 ส่งผลให้พฤติกรรมของผู้บริโภคมีแนวคิดของการบริโภคในยุคใหม่ (new normal) ซึ่งตระหนักและคำนึงถึงความปลอดภัยของอาหาร ใส่ใจในเรื่องของสุขภาพและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย รวมถึงมีพฤติกรรมการใช้ชีวิตที่เปลี่ยนไป ต้องการทานอาหารแต่สามารถควบคุมในส่วนของน้ำหนักได้ ส่งผลให้แนวโน้มการบริโภคอาหารทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศมีกลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ที่เติบโตมากขึ้น ได้แก่ กลุ่มอาหารเพื่อสุขภาพและกลุ่มอาหารเสริมภูมิคุ้มกัน กลุ่มอาหารที่มีโภชนาการสูงแต่ควบคุมน้ำหนัก กลุ่มอาหารที่มีโปรตีนสูงและพลังงานสูง กลุ่มอาหารที่ช่วยในการผ่อนคลาย กลุ่มอาหารบำรุงสมองระบบประสาท ทำให้มีผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เหล่านี้มีแนวโน้มการเติบโตอย่างรวดเร็ว การปลดล็อกกัญชา

ในปีผ่านมา ประเทศไทยมีการปลดล็อกเสรีกัญชงเกิดขึ้น ส่งผลให้สามารถปลูกและแปรรูปกัญชงได้อย่างเสรีมากขึ้น เนื่องจากภาครัฐต้องการสนับสนุนให้เป็นพืชเศรษฐกิจในประเทศ ทำให้กัญชงได้รับความนิยมและมีความต้องการสูงขึ้น กัญชงสามารถจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพฤกษเคมีเป็นพืชในเขตอบอุ่นทวีปเอเชีย ต้นพืชประเภทนี้ในอดีตนิยมนำเส้นใยมาใช้ประโยชน์เป็นหลัก โดยสิ่งสำคัญที่ทำให้พืชชนิดนี้เป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากพบกลุ่มสารที่สำคัญที่เรียกว่า Cannabinoids ได้แก่ 1) Tetrahydrocannabinoids (THC) พบในปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 0.6 โดยจัดเป็นสารเสพติดออกฤทธิ์ทางจิตกระตุ้นระบบประสาทส่งผลต่อสมอง 2) Cannabidiol (CBD) พบปริมาณร้อยละ 0.824 เป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้ง THC ช่วยคลายกังวลบรรเทาอาการปวด อักเสบ คลื่นไส้อาเจียนนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และ 3) Cannabinol (CBN) เกิดจากการสลายตัวของ THC ต่อ CBD กัญชงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร เครื่องสำอางและการแพทย์ได้ ต้นกัญชงถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย ตั้งแต่ในส่วนเปลือกลำต้นนำมาใช้เป็นเส้นใยมีคุณสมบัติที่มีความเหนียวแต่ยืดหยุ่น น้ำหนักเบา แกนของลำต้นมีน้ำหนักเบานำมาผสมคอนกรีต เป็นฉนวนกันความร้อนและวัสดุทดแทนเนื้อไม้ ส่วนใบนั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะส่วนยอดใบนิยมนำมาพัฒนาเป็นสารสกัดหรือชา ในขณะที่ช่อดอกมีสารสำคัญที่เรียกว่า CBD นิยมนำไปสกัดใช้ในทางการแพทย์ สุดท้ายส่วนของเมล็ด เป็นส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ทั้งโปรตีน ไขมัน พบกรดไขมันอิ่มตัวโอเมก้า 6 ต่อโอเมก้า 3 ในสัดส่วนที่เหมาะสมกับร่างกายมนุษย์ จัดได้ว่าเมล็ดกัญชงมีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้ในการวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับอาหารได้ (Pinmanee, 2019)

การวิจัยและพัฒนาที่เกี่ยวข้องกับกัญชงในประเทศไทยในช่วงที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะเน้นการศึกษาการใช้ประโยชน์

จากส่วนของลำต้นและคุณภาพเส้นใยเป็นหลัก งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับใบ ราก และเมล็ดนั้นยังมีน้อย โดยเมล็ดที่ได้จากการเพาะปลูกจำแนกได้ 2 ประเภท คือ เมล็ดที่สามารถนำไปทำพันธุ์เพาะขยายพันธุ์ได้ และเมล็ดพันธุ์เพื่อการบริโภค ซึ่งเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้ ถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ โดยงานวิจัยที่ผ่านมาพบสารต้านอนุมูลอนุมูลอิสระ สารกลุ่มโพลีฟีนอลและกรดไขมันในเมล็ดกัญชง (Elfadil *et al*., 2021) งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาคุณค่าโภชนาการและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดกัญชงที่ปลูกจากเกษตรกรในประเทศไทยและทำการเลือกสายพันธุ์ RPF1 ซึ่งเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ที่สถาบันวิจัยบนพื้นที่สูง (องค์กรมหาชน) ได้ปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณ CBD สูง และ THC ต่ำ อีกทั้งสายพันธุ์ RPF1 ทางสถาบันวิจัยบนพื้นที่สูง (องค์กรมหาชน) สนับสนุนให้เกษตรกรเพาะปลูกสำหรับการบริโภคเนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตเมล็ดได้ปริมาณมากเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ได้ขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร คาดว่าผลจากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป รวมถึงช่วยเพิ่มโอกาสการใช้ประโยชน์และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเมล็ดกัญชงได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบและการเตรียมตัวอย่าง

เมล็ดกัญชง (hemp seeds) สายพันธุ์ RPF1 จากสถาบันวิจัยบนพื้นที่สูง (องค์กรมหาชน) จังหวัดเชียงใหม่ ช่วงเพาะปลูกกัญชงเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม พ.ศ. 2563 โดยกัญชงจะมีเวลาเจริญเติบโตทางลำต้นประมาณ 3 เดือน และจะออกดอกประมาณปลายกันยายนถึงตุลาคม ระยะการปลูก 1 × 1 เมตร การเก็บเกี่ยวใช้แรงงานคนในการตัดช่อเมล็ดที่สุกเป็นสีน้ำตาลประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ มัดเป็นกำตากแดดลดความชื้น แล้วหวด นวดฝัด ทำความสะอาดเมล็ด ตากแดด 1 วัน เพื่อลดความชื้นจนต่ำกว่าร้อยละ 10 จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า 1 นาที เพื่อเตรียมทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดกัญชงและการสกัดในขั้นตอนต่อไป

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดกัญชง

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดกัญชงอ้างอิงมาจาก AOAC (Feldsine *et al*., 2002) ได้แก่ โปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl รุ่น KT Series ยี่ห้อ Foss ประเทศอินเดีย (ค่าconversion factor = 6.25) ไขมันใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ รุ่น ST243 Soxtec ยี่ห้อ Foss ประเทศอินเดีย ความชื้นด้วยตู้อบลมร้อน รุ่น UN110 ยี่ห้อ Memmert รุ่น UN110 ประเทศเยอรมนี เถ้าด้วยตู้เผาความร้อนสูง รุ่น ELF11/6 ยี่ห้อ Carbolite ประเทศจีน เส้นใยได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1.25 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.25 คาร์โบไฮเดรตคำนวณจากผลต่างจากการลบด้วยองค์ประกอบทั้งหมด ส่วนปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องอัตโนมัติ รุ่น 4TE ยี่ห้อ AQUA ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการสกัด

การสกัดสารแบบหยาบด้วยซอกห์เลต (Soxhlet Extraction)

สกัดตัวอย่างด้วยเครื่องอัตโนมัติตามวิธีการสกัดสารแบบหยาบด้วยซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) โดยใช้น้ำกลั่น เอทานอล (50 เปอร์เซ็นต์) และเอทานอล (99.99 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที สารละลายที่สกัดได้นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60±5 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาการวัดปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocaltue assay และการวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูล ด้วยวิธี Radical scavenging assay (DPPH) ต่อไปเลยทันที

การวัดปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocaltue assay

การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกรวมทั้งหมดของสารสกัด ด้วยการเติมสารละลายโฟลิน ซิโอแคลทูรีเอเจนต์ที่อ้างอิงมาจาก (Kahkonen *et al*., 1999) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายโฟลิน ซิโอแคลทูรีเอเจนต์ 2.5 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต จำนวน 2.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ รุ่น SP830 ยี่ห้อ Metertech ประเทศไต้หวัน นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของการสกัดจาก

เมล็ดกัญชงด้วยซอกห์เลต มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid equivalent; GAE) แล้วนำมาคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม หน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของแกลลิกต่อพืชแห้ง 1 กรัม (mg GAE/g)

การวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลด้วยวิธี Radical scavenging assay (DPPH)

การวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลด้วย 2,2- ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (ดัดแปลงวิธีการจาก Duan *et al*., 2007) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ เข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 0-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่าง จำนวน 1.0 มิลลิลิตร เติม 2,2- ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล จำนวน 1.0 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ รุ่น SP830 ยี่ห้อ Metertech ประเทศไต้หวัน นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของการสกัดจาก มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (trolox) แล้วนำมาคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ หน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อพืชแห้ง 1 กรัม (mg trolox/g)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

งานวิจัยนี้ทำการทดลอง 3 ครั้ง ข้อมูลแสดงในรูปแบบของค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป R ข้อมูลถูกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way analysis of variance; ANOVA) และทดสอบภายหลังจากการวิเคราะห์โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่ม ที่ค่า $p \leq 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีแสดงในดัง Table 1 โดยจากผลการทดลองพบว่าเป็นเมล็ดกัญชงมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าในไข่ไก่ (ร้อยละ 12.5) (Rhault-Godbert *et al*., 2019) ในเมล็ดถั่วบราซิล (ร้อยละ 14.47) (Lima *et al*., 2021) ในเมล็ดอัลมอนด์ (ร้อยละ 24.95) (Lima *et al*., 2021) และในเมล็ดถั่ว (ร้อยละ 14.8) (Voleka *et al*., 2018) ผลจากการวิจัยพบว่า หากต้องการโปรตีนสูง เมล็ดกัญชงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นโปรตีนมาจากพืช หากเปรียบเทียบกับต้นทุนโปรตีนที่มีจากการเลี้ยงสัตว์มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่า รวมทั้งมีปริมาณไขมันสูง ซึ่งส่วนมากจัดอยู่ในกลุ่มไขมันที่ไม่อิ่มตัวประกอบด้วยโอเมก้า 6 ต่อโอเมก้า 3 ในสัดส่วน 3 ต่อ 1 ที่เหมาะกับร่างกาย (Pinmanee, 2019) รวมทั้งเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นจากเมล็ดกัญชงไม่เกินร้อยละ 10 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 425 ว่าด้วยคุณภาพเมล็ดกัญชงที่เป็นอาหาร จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน ทำให้ได้ทราบข้อมูลเบื้องต้นหาแนวโน้มกลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารที่จะแปรรูปต่อไปในอนาคต

Table 1 Chemical compositions of hemp seed

Parameter	Contain in Hemp seed (%)
Moisture	5.81±0.25
Ash	5.12±0.08
Protein	36.87±0.75
Fat	24.43±0.15
Fiber	12.04±2.06
Carbohydrate	20.99±2.44
aw	0.65±0.00

Remarks: * The results are presented as the mean ± standard deviation (n = 3)

ผลของตัวทำละลายต่อการวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลอิสระในเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1

จากการศึกษาการวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธี Radical scavenging assay (DPPH) ของสารสกัดเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 สกัดด้วยวิธี Soxhlet Extraction พบว่าการสกัดด้วย 99.99 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ตามด้วยน้ำกลั่น และ 50 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล (Table 2) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Elfadil *et al*., 2021) ที่พบสารต้านอนุมูลอิสระ 18.37 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำในสัดส่วน 80:20 โดยปริมาตร และงานวิจัยของ (Alon Estebanso *et al*., 2022) พบสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 8 สายพันธุ์อยู่ในช่วง 19.1-33.7 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม โดยคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากงานวิจัยที่ผ่านมาใช้เมล็ดกัญชงสายพันธุ์จากต่างประเทศใช้ตัวทำละลายสกัดที่แตกต่างกัน แต่การวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลโดยวิธี Radical scavenging assay (DPPH) เดียวกัน จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในการศึกษาครั้งต่อไป รวมถึงเป็นข้อมูลในการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

Table 2 Antioxidant activity of various solvent extracts of hemp seed in DPPH radical scavenging assay

Solvent extract	Antioxidant content (mg Trolox eq./g)
99.99% Ethanol	80.21±1.35 [a]
50% Ethanol	72.95 ±0.29 [c]
water	78.35±0.22 [b]

Remarks: * The results are presented as the mean ± standard deviation (n = 3)
* Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$) between groups

ผลของตัวทำละลายต่อสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมดในเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1

จากการศึกษาหาปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocaltue assay ของสารสกัดเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 พบว่าสารสกัดโดยวิธี Soxhlet Extraction โดยใช้น้ำกลั่น เอทานอล (50 เปอร์เซ็นต์) และเอทานอล (99.99 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 พบว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมดสูงที่สุด (Table 3) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Elfadil *et al*., 2021) ที่พบสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมด 16.67±0.01 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอลต่อน้ำในสัดส่วน 80:20 โดยปริมาตร และงานวิจัยของ (Alon Estebanso *et al*., 2022) พบสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมด 8 สายพันธุ์อยู่ในช่วง 0.66-1.25 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากงานวิจัยที่ผ่านมาใช้เมล็ดกัญชงสายพันธุ์จากต่างประเทศใช้ตัวทำละลายสกัดที่แตกต่างกัน แต่การปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocaltue assay เดียวกัน ปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ทำการสกัดด้วยวิธี Soxhlet Extraction ภายใต้สภาวะควบคุมเดียวเท่านั้น จากผลการทดลองพบว่าสารประกอบฟีนอลลิกมีความไม่คงตัวหากมีการปรับเปลี่ยนระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัด สัดส่วนตัวทำละลายหรือชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดอาจจะให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นตรงกับงานวิจัยที่ผ่านมา (Toma *et al*., 2001) และ (Alon Estebanso *et al*., 2022) อีกทั้งสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลของกัญชงไม่กะเทาะเปลือก 8 สายพันธุ์และกัญชงกะเทาะเปลือกทางการค้า 8 สายพันธุ์ พบว่าเปลือกของกัญชงมีผลต่อกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (Shen *et al*., 2020) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของงานวิจัยที่ออกมาเนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ใช้เมล็ดกัญชงที่ไม่กะเทาะเปลือกในการทดลอง

Table 3 Total phenolic content of various extract of hemp seed

Solvent extract	Total phenolic content (mg Gallic acid eq./g)
99.99% Ethanol	28.87±0.00 [c]
50% Ethanol	78.87±0.00 [b]
water	87.98±0.54 [a]

Remarks: * The results are presented as the mean ± standard deviation (n = 3)
* Different letters in the same line indicate significant differences ($p < 0.05$) between samples

สรุปผลการวิจัย

จากการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนและไขมันเมื่อเปรียบเทียบในอาหารชนิดอื่น ๆ จากการวิเคราะห์สารสำคัญเบื้องต้น ได้พบกลุ่มสารประกอบฟีนอลลิก และพบว่ามีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชั่นเมื่อทำการการวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธี Radical scavenging assay (DPPH) จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ RPF 1 ทั้ง 3 ชนิดพบปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลลิกแตกต่างกัน โดยสารประกอบกลุ่มฟีนอลลิกทั้งหมดที่สกัดด้วยน้ำให้ปริมาณที่สูงที่สุด (87.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม) และพบว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในการขจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่สกัดด้วยเอทานอล (99.99 เปอร์เซ็นต์) ให้ปริมาณที่สูงที่สุด (80.21 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม) จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเอทานอล (99.99 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงที่สามารถนำไปใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดกัญชง แต่ในทางกลับกันหากต้องการสกัดสารฟีนอลิกให้ได้ปริมาณสูง น้ำกลั่นอาจเป็นตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพมากกว่า ซึ่งผลจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นประกอบเพื่อการสกัดสารสำคัญ รวมถึงการใช้ประโยชน์เมล็ดกัญชงต่อทั้งการวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการแปรรูปเมล็ดเพื่อการบริโภคต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่สนับสนุนงบประมาณ เครื่องมือ และสถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2564. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 425) พ.ศ. 2564 เรื่องเมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง โปรตีนจากเมล็ดกัญชง และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของเมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง หรือโปรตีนจากเมล็ดกัญชง. แหล่งข้อมูล https://ockt.dtam.moph.go.th/index.php/law/216-425-2564-2522 (29 มีนาคม 2565).

Alonso-Esteban, J.I., Pinela, J. Ćirić, A. Calhelha, R.C. Soković, M. Ferreira, I.C.L, Barros. E.T. Isasa. and de Cortes Sánchez-Mata, M. 2022. Chemical composition and biological activities of whole and dehulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. Food Chemistry 374: 131754. Available: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131754.

Babiker, E.E., N. Uslu, F.A. Juhaimi, I.A.M. Ahmed, K. Ghafoor, Mehmet M.Ö and I.A. Almusallam. 2021. Effect of roasting on antioxidative properties polyphenol profile and fattay acid composition of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed. Journal LWT-Food Science Technology 139: 110537. Available: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110537.

Babiker, E.E., N. Uslu, F.A. Juhaimi, I.A.M. Ahmed, K. Ghafoor, M.M. Özcan and I.A. Almusallam. 2021. Effect of roasting on antioxidative properties polyphenol profile and fattay acid composition of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed. Journal LWT-Food Science Technology

139: 110537. Available: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110537.

Duan, X., Y. Jiang, X. Su, Z. Zhang, and J. Shi. 2007. Antioxidant properties of anthocyanins Extracted from litchi (*Litchi chinenesis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. Food Chemistry 101(4): 1365-1371. Available: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.057.

Feldsine, P., C. Abeyta, and W.H. Andrews. 2002. AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis. Journal of AOAC International 85: 1187-1200. Available: https://doi.org/10.1093/jaoac/85.5.1187.

Kahkonen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.K. Reuha, K. Pihlaja, T.S. Kujala and M. Heinonen. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. Journal of agricultural and food chemistry 47(10): 3954-3962. Available: https://doi.org/10.1021/jf990146l.

Lima, D.S., M.B. Egea, I.C.C. Cabassa, T.L. Sousa, A.B. Almeida, T.M. Lima, R.A. Loss, L.G. Vasconcelos, E.L. Dalloglio, T. Hernandes, and K.P. Takeuchi. 2021. Technological quality and sensory acceptability of nutritive bars produced with Brazil nut and baru almond coproducts. Journal LWT-Food Science Technology 137: 110467. Available: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110467.

Pinmanee, S., 2019. The Highland Research and Development Institute (Public Organization) Thailand. Available: https://www.hrdi.or.th/articles/detail/47 (March 5, 2022).

R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available: https://www.R-project.org/ (March 9, 2022).

Rehault-Godbert, S., N. Guyot, and Y. Nys. 2019. The Golden Egg: Nutritional Value, Bioactivities, and Emerging Benefits for Human Health. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30909449 (March 30, 2022).

Shen, P., Z. Gao, M. Xu, J.B. Ohm, J. Rao, and B. Chen. 2020. The impact of hempseed dehulling on chemical composition, structure properties and aromatic profile of hemp protein isolate. Food Hydrocolloids 106: 105889. Available: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105889.

Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L. and Mason, T. J. 2021. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissures during solvent extraction. Ultrasonics sonochemistry 8(2): 137-142. Available: https://doi.org/10.1016/S1350-4177(00)00033-X.

Voleka, Z., T.A. Ebeidb and L. Uhlirova. 2018. The impact of substituting soybean meal and sunflower meal with a mixture of white lupine seeds and rapeseed meal on rabbit doe milk yield and composition, and the growth performance and carcass traits of their litters. Animal feed science and technology 236: 187-195. Available: https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.011.