การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม

Extraction antioxidant and lipids using high pressure technique from Hemp, Turmeric and Split gill for serum product

จันทรรัตน์ พิภักดี

Jantarat Pipakdee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Applied Chemistry
Prince of Songkla University
2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม

Extraction antioxidant and lipids using high pressure technique from Hemp, Turmeric and Split gill for serum product

จันทรรัตน์ พิภักดี

Jantarat Pipakdee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Applied Chemistry
Prince of Songkla University
2566
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม

ผู้เขียน นางสาวจันทรรัตน์ พิภักดี

สาขาวิชา เคมีประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ยุทธนา พิมลศิริผล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณยู ใคลคลาย)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เถกิง วงศ์ศิริโชติ)
รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ .....
(นางสาวจันทรรัตน์ พิภักดี)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ .....
(นางสาวจันทรรัตน์ พิภักดี)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม

ผู้เขียน นางสาวจันทรรัตน์ พิภักดี

สาขาวิชา เคมีประยุกต์

ปีการศึกษา 2565

บทคัดย่อ

การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูง และพัฒนาเซรั่มจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง สารสกัดเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ระยะเวลา 60 นาที มีปริมาณสารสกัดสูงสุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.47$\pm$0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การสกัดใบกัญชงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.23$\pm$0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ 120 นาที ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.53$\pm$0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ 120 นาที ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.34$\pm$0.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสูตรพื้นฐานของห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์จากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ประสบความสำเร็จและผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรที่ 1 มีระดับคะแนนความชอบโดยรวม เท่ากับ 8.32 คะแนน จัดจำหน่ายราคา 250 บาทต่อผลิตภัณฑ์ 30 มิลลิลิตร

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, กัญชง, ขมิ้นชัน , เห็ดแครง, เทคนิคความดันสูง

Thesis Title Extraction antioxidant and lipids using high pressure technique from Hemp, Turmeric and Split gill for serum product

Author Ms. Jantarat Pipakdee

Major Program Applied Chemistry

Academic Year 2022

ABSTRACT

A study on extraction antioxidant and lipids with high pressure technique and development of serum from hemp, turmeric and split gill. The extraction of split gill with subcritical water technique at 121 ℃, 15 psi for 60 minute obtained the maximum antioxidant by DPPH assay with IC_{50} value of 2.47$\pm$0.32 mg/ml. The supercritical carbon dioxide extraction of hemp leaves at 60 ℃, 160 bar for 60 minute was showed the highest DPPH assay with IC_{50} value of 0.23$\pm$0.07 mg/ml. Hemp seed extraction with supercritical carbon dioxide at 30 ℃, 160 bar for 120 min gave the maximum with IC_{50} value of 3.53$\pm$0.12 mg/ml and Turmeric extraction with supercritical carbon dioxide at 30 ℃, 160 bar for 120 min obtained the maximum with IC_{50} value of 1.34$\pm$0.49 mg/ml. The development serum from hemp, turmeric and split gill based on the formula of JKP Consumer Products with was successfully and accepted by panel of serum products 1 formulae showed the overall acceptability 8.32, at a price of 250 baht per 30 ml of product.

Keyword: Antioxidant, Hemp, Turmeric, Split gill, High pressure technique

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ผู้ซึ่งประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตรวจสอบข้อมูล ตลอดจนแก้ไขปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการทำโครงงานวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ยุทธนา พิมลศิริผล คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประธานกรรมการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณยู ใคลคลาย กรรมการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ให้ความกรุณาสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ซึ่งให้คำแนะนำงานวิจัยฉบับนี้จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และอาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาเคมีประยุกต์ ที่สอนวิชาเคมีในส่วนของเนื้อหา ปฏิบัติการเคมี และการใช้เครื่องมือขั้นสูง เพื่อปลูกฝังให้ผู้วิจัยเป็นนักวิทยาศาสตร์มีความรู้ในภาคทฤษฎี และภาคปฏิบัติวิชาอย่างดี ตลอดจนถ่ายทอดวิชาความรู้อันเป็นประโยชน์ยิ่งในการศึกษางานวิจัย และความรู้ที่สามารถการประยุกต์ใช้งานต่อไปในอนาคต จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วง

งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ประจำปีงบประมาณ 2564 และทุนการวิจัยจากศูนย์วิจัยผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงโอเลโอเคมีแบบครบวงจร ปีงบประมาณ 2564 ขอบคุณห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ ยินดีเข้าร่วมวิจัยเรื่องการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูงจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม ให้การสนับสนุนสูตรผลิตภัณฑ์เซรั่ม และข้อมูลที่จำเป็นต่องานวิจัย รวมไปถึงได้รับความกรุณาและความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่านทั้งด้านการเก็บตัวอย่าง การใช้เครื่องมือวิจัยห้องปฏิบัติการโครงงานวิจัย 1, 2 ห้องเครื่องมือกลางทางวิทยาศาสตร์ และห้องเครื่องมือกลาง 3 ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรมมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี จึงขอขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

จันทรรัตน์ พิภักดี

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อ.....(4)
ABSTRACT.....(5)
กิตติกรรมประกาศ.....(6)
สารบัญ.....(7)
รายการตาราง.....(10)
รายการภาพประกอบ.....(11)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ.....(13)
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
1.3 ผลลัพธ์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....3
1.5 ผลประโยชน์ที่คาดหวัง.....4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....5
2.1 กัญชง.....5
2.2 ขมิ้นชัน.....7
2.3 เห็ดแครง.....8
2.4 การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด.....10
2.5 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....11
2.6 ลิพิด.....14
2.7 อนุมูลอิสระ.....15
2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ.....16
2.9 เซรั่ม.....18
บทที่ 3 วิธีการวิจัย.....21
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี.....21
3.1.1 วัสดุ อุปกรณ์.....22
3.1.2 สารเคมี.....22
3.2 วิธีดำเนินการ.....23
3.2.1 วัตถุดิบกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง และการเตรียมตัวอย่าง.....23

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

3.2.2 การสกัดสารกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง
ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด(Subcritical water).....28
3.2.3 การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....29
3.2.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical scavenging.....31
3.2.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Radical scavenging.....32
3.2.6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP Radical scavenging.....32
3.2.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....33
3.2.8 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....33
3.2.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน.....33
3.2.10 การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบิไดออล.....34
3.2.11 การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมิน.....34
3.2.12 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูเคน.....34
3.2.13 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง
ร่วมกับห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์.....35
3.3.14 ศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์.....36
บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย.....37
4.1 คุณภาพทางกายภาพ เคมี กัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง.....37
4.2 การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด
(Subcritical water).....37
4.3 การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ใน
สภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$).....41
4.3.1 ผลของอุณหภูมิต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชันและเห็ดแครงด้วยเทคนิค
คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....41
4.3.2 ผลของความดันต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชันและเห็ดแครงด้วยเทคนิค
คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....45
4.3.3 ผลของระยะเวลาต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิค
คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....49
4.3.4 ผลของความชื้นต่อการสกัดตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน
และเห็ดแครงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....53
4.4 องค์ประกอบกรดไขมันของสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....57

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

4.5 ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง.....58
4.6 ศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์.....62
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....64
5.1 สรุปผลการวิจัย.....64
5.2 ข้อเสนอแนะ.....65
บรรณานุกรม.....66
ภาคผนวก.....73
ประวัติผู้เขียน.....81

รายการตาราง

เรื่อง **หน้า**

ตารางที่ 1 แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ....18
ตารางที่ 2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคของสูตรพื้นฐาน 3 สูตร....19
ตารางที่ 3 การตรวจสอบคุณภาพกายภาพ ด้านเคมี และจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์เซรั่ม....20
ตารางที่ 4 ส่วนผสมร้อยละของเซรั่มสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง 36
ตารางที่ 5 ปริมาณเถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต ของกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง....37
ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่อุณหภูมิ 60-120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ด้วยเทคนิค Subcritical water....40
ตารางที่ 7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง อุณหภูมิ 30-150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....44
ตารางที่ 8 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง อุณหภูมิ 30-150 ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....45
ตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ความดัน 80-160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.... 48
ตารางที่ 10 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง ความดัน 80-160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....49
ตารางที่ 11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ระยะเวลา 30-120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด 52
ตารางที่ 12 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง ระยะเวลา 30-120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....53
ตารางที่ 13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดพืชสด แห้งของกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....56
ตารางที่ 14 องค์ประกอบของกรดไขมันจากสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชัน ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด....57
ตารางที่ 15 คุณภาพทางกายภาพ และเคมีผลิตภัณฑ์เซรั่ม....59
ตารางที่ 16 คะแนนการยอมรับผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เซรั่ม 5 สูตร....60
ตารางที่ 17 คุณภาพทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์เซรั่ม....60

รายการตาราง (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

ตารางที่ 18 คะแนนการยอมรับผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เซรั่มเพื่อจัดจำหน่าย
ในเชิงพาณิชย์.....62
ตารางที่ 19 ต้นทุนการผลิตเซรั่มขนาด 30 มิลลิลิตร.....63

รายการภาพประกอบ

เรื่อง **หน้า**

ภาพที่ 1 ขอบเขตงานวิจัย..... 3
ภาพที่ 2 ต้นและเมล็ดกัญชง.....5
ภาพที่ 3 โครงสร้างแคนนาบินอยด์.....6
ภาพที่ 4 ขมิ้นชัน.....7
ภาพที่ 5 โครงสร้างเคอร์คิวมินอยด์.....8
ภาพที่ 6 ดอกเห็ดแครง.....9
ภาพที่ 7 โครงสร้างของ (1 - 3) β-glucan, (1 - 6) β-glucan.....10
ภาพที่ 8 สถานะของน้ำที่อุณหภูมิและความดันต่างกึ่งวิกฤตยิ่งยวด.....11
ภาพที่ 9 เครื่องสกัด Supercritical CO_2.....13
ภาพที่ 10 เฟสไดอะแกรมของสารบริสุทธิ์.....13
ภาพที่ 11 กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว.....14
ภาพที่ 12 ผิวมีลักษณะเป็นตุ่มผดผื่นและ ผิวหน้าแดงลอกอักเสบ.....19
ภาพที่ 13 ใบกัญชงแห้งและผง เมล็ดกัญชงแห้งและผง.....24
ภาพที่ 14 ขมิ้นชันแห้งและผง เห็ดแครงแห้งและผง.....25
ภาพที่ 15 แผนภาพการสกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด.....28
ภาพที่ 16 เฟสไดอะแกรมคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....29
ภาพที่ 17 เครื่อง Supercritical carbon dioxide รุ่น Spe-ed SFE-2.....29
ภาพที่ 18 แผนภาพการสกัดด้วยเครื่อง Supercritical carbon dioxide
รุ่น Spe-ed SFE-2.....31
ภาพที่ 19 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครง
ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด.....38
ภาพที่ 20 สารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด.....39
ภาพที่ 21 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง, เมล็ดกัญชง, ขมิ้นชัน, เห็ดแครงอุณหภูมิ
150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....41
ภาพที่ 22 สารสกัดใบกัญชง, เมล็ดกัญชง, ขมิ้นชัน, เห็ดแครงอุณหภูมิ 30-150 องศาเซลเซียส
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....42
ภาพที่ 23 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครงความดัน
ความดัน 160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....45
ภาพที่ 24 สารสกัดจากใบกัญชง, เมล็ดกัญชง, ขมิ้นชัน, เห็ดแครงความดัน 80-160 บาร์
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....46
ภาพที่ 25 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครงระยะเวลา 120 นาที
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....49

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

ภาพที่ 26 สารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครงระยะเวลา 30-120 นาที
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....50
ภาพที่ 27 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครงตัวอย่างสด
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....54
ภาพที่ 28 สารสกัดจากใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครงตัวอย่างสดและแห้ง
ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด.....54
ภาพที่ 29 ผลิตภัณฑ์เซรั่ม 5 สูตร.....59
ภาพที่ 30 ฉลากสำหรับติดขวดเซรั่ม และแบบบรรจุภัณฑ์กล่องบรรจุเซรั่ม.....61
ภาพที่ 31 กิจกรรมทดสอบผู้บริโภคในเชิงพาณิชย์ผลิตภัณฑ์เซรั่มงาน Industrial Fair 2022
ณ ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัลพลาซ่า สุราษฎร์ธานี.....62

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

SWE	=	Subcritical water
$SCCO_2$	=	Supercritical Carbon Dioxide
IC_{50}	=	ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์
EC_{50}	=	ความเข้มข้นที่มีความสามารถในการลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์
DPPH	=	DPPH radical scavenging activity วิธีการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy
ABTS	=	ABTS radical scavenging activity วิธีการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
FRAP	=	การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing antioxidant power เป็นการวัดความสามารถรีดิวซ์เฟอร์ริก

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ ดำเนินธุรกิจซื้อมาขายไปในกลุ่มของเสื้อผ้า เครื่องหนัง เครื่องสำอาง สเปรย์ฆ่าเชื้อหน้ากากอนามัย จดทะเบียนพาณิชย์วันที่ 24 กันยายน พ.ศ.2563 ตั้งอยู่เลขที่ 199/166 ถนนบางนา-ตราด ตำบลบางโฉลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ได้มองเห็นช่องทางการตลาดธุรกิจเครื่องสำอาง และให้ความสำคัญผลิตภัณฑ์จากสารสกัดธรรมชาติ พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม บวกกับแนวโน้มทางการตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดธรรมชาติเติบโต 15-20 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (Costa and Santos, 2017) สารสกัดสมุนไพรจากธรรมชาติ เช่น กัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง มีสารสำคัญทางชีวภาพ ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่นำไปสู่การเกิดฝ้า กระ จุดด่างดำ และริ้วรอยก่อนวัย (Ellison *et al*, 2021; Abd Razak *et al.,* 2019) ทางบริษัทจึงต้องการวิจัยสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง และพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ลดสารเคมีตกค้างและการใช้สารเคมีในการสกัด การแยกองค์ประกอบของสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritial Carbon Dioxide : $SCCO_2$) เป็นการสกัดสารแบบใหม่ ได้สารสกัดปริมาณมากมีความบริสุทธิ์สูง ป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญที่ไม่ทนความร้อน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นิยมใช้อุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง อาหาร (ผกาวดี ภู่จันทร์, 2560; GE. Y *et al*., 2002 ; Punvichai *et al*., 2016) กัญชงมีสารประกอบสำคัญที่โดดเด่น คือ Cannabidiol (CBD) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อรา ลดอาการปวด (Appendino *et al*., 2008; Benelli *et al*., 2018; Nissen *et al*., 2010) น้ำมันเมล็ดกัญชงประกอบด้วยกรดไขมันลิโนเลนิก (โอเมก้า 3) และกรดไขมันลิโนเลอิก (โอเมก้า 6) ช่วยลดความดันโลหิตสูง ลดคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคหัวใจ บำรุงผิวลดการแห้งแตก ช่วยให้ผิวหนังชุ่มชื้น สามารถประยุกต์ทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง (Salentijn *et al*., 2015) ขมิ้นชันในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกจำนวนมากที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้รับการขึ้นทะเบียนโดยกรมวิชาการเกษตร มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มเคอร์คิวมินนอยด์ (curcuminoid) มีสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ป้องกันอัลไซเมอร์ นิยมนำมาใช้ในสารกันบูด การหืน อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และทางการแพทย์ (Sim *et al*., 2019) และเห็ดแครงมีคุณสมบัติเด่น คือสารประกอบพอลลิแซ็คคาไรด์ที่มีชื่อว่า schizophyllan เป็นสารบีต้ากลูแคน (β-glucan) มีสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์ สามารถยับยั้งมะเร็ง (Yelithao *et al*., 2019) ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านการอักเสบ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง (Wu *et al*., 2016) การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงยังสอดคล้องกับนโยบายโครงการเมืองสมุนไพรของจังหวัดสุราษฎร์ธานี (Herbal City) ในพื้นที่ภาคใต้ดำเนินการแบบครบวงจรพัฒนาตั้งแต่ต้นน้ำสู่ปลายน้ำในส่วนของพืชสมุนไพรทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคความดันสูงลดการใช้สารเคมีในการสกัด และพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มตามสูตรพื้นฐานของผู้ประกอบการที่เหมาะสมต่อการจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ร่วมกับห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 สกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคความดันสูง

1.2.2 พัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

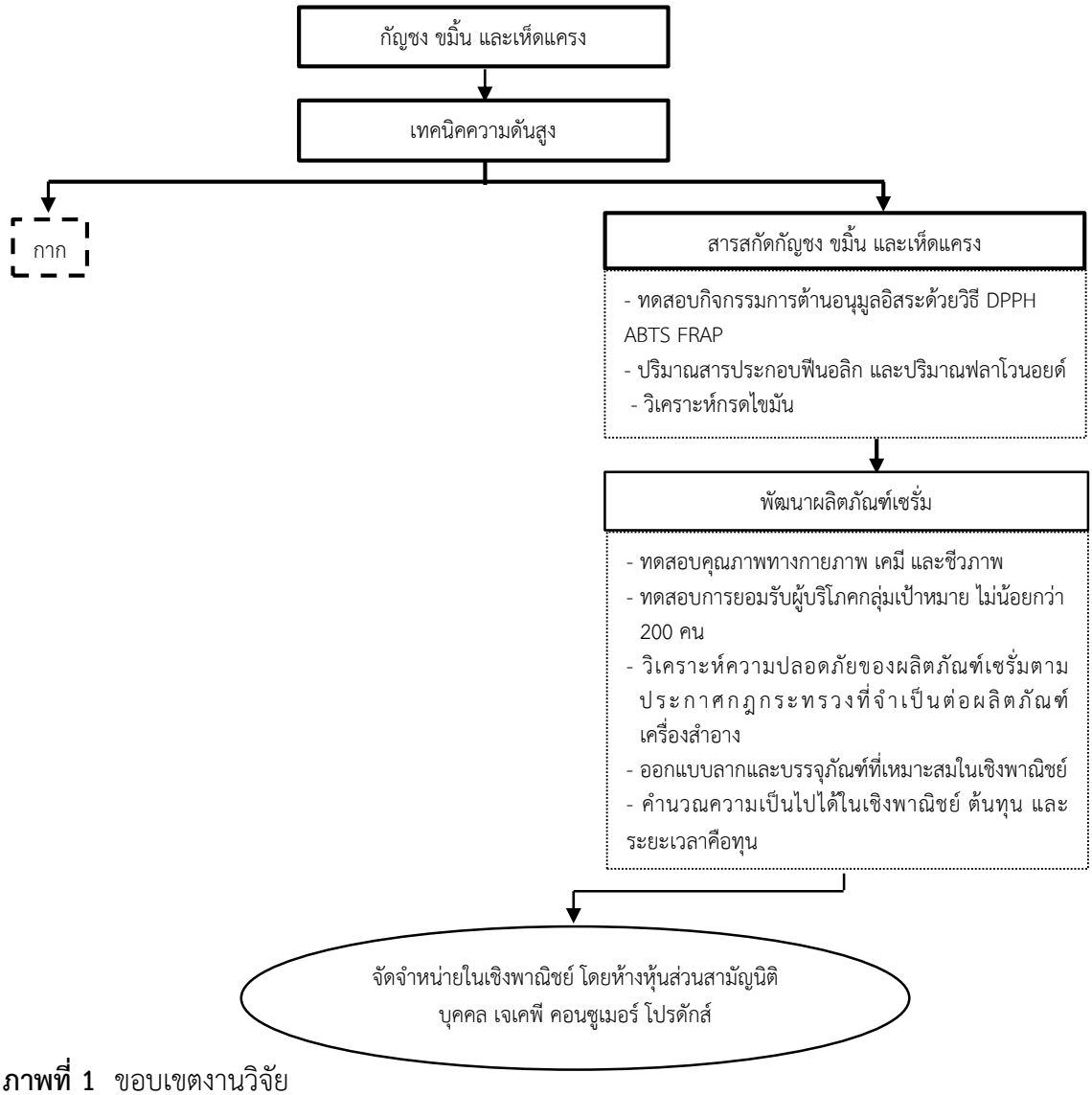
1.3 ผลลัพธ์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดจากสภาวะที่เหมาะสมด้วยเทคนิคความดันสูง

1.3.2 ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

สกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดในสมุนไพรกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water) และคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$) ที่สภาวะการสกัดอุณหภูมิ ความดัน เวลา และความชื้นที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิด นำสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มตามสูตรพื้นฐานของผู้ประกอบการห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ รวมถึงศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์ ต้นทุนของผลิตภัณฑ์เซรั่ม



ภาพที่ 1 ขอบเขตงานวิจัย

1.5 ผลประโยชน์ที่คาดหวัง

ได้สารสกัดจากกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water) และคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$) ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และผลิตภัณฑ์เซรั่มเพื่อจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ร่วมกับห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันสร้างรายได้ ผลกำไร และเติบโตแบบก้าวกระโดด (Start up) เพิ่มผลิตภัณฑ์ทางเลือกให้กับกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพ ลดการนำเข้าของสินค้าประเภทเครื่องสำอาง เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันกระตุ้นเศรษฐกิจ

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กัญชง

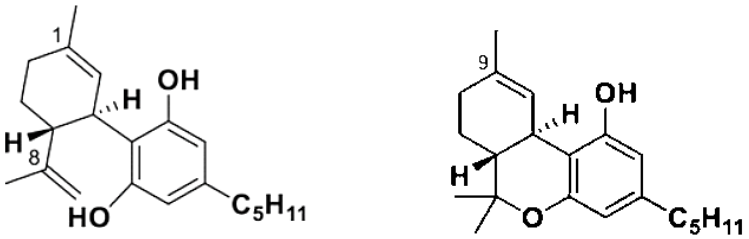
กัญชง ชื่อสามัญ Hemp ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cannnabis sativa* L. อยู่ในวงศ์ Cannabaceae วงศ์เดียวกับกัญชา มีแหล่งกำเนิดในแถบเอเชียกลางแพร่กระจายไปสู่เอเชียตะวันออก ประเทศอินเดีย และทวีปยุโรป กัญชงปลูกได้ง่ายในสภาพภูมิอากาศต่างกัน ระยะเวลาการเจริญเติบโต 108 ถึง 120 วัน กัญชงเป็นพืชใบเดี่ยว สีเขียวอมเหลือง ลักษณะของใบแยกเป็นแฉกประมาณ 7 ถึง 9 แฉก ก้านใบยาวประมาณ 2 ถึง 7 เซนติเมตร การเรียงตัวของใบค่อนข้างห่าง เมล็ดกัญชงสีเทา ลักษณะของเมล็ดเหมือนรูปไข่มีลายผิวเรียบ สีน้ำตาล ขนาดกว้างเฉลี่ยประมาณ 4.47 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 5.11 มิลลิเมตร และหนาเฉลี่ยประมาณ 3.75 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2) เมล็ดกัญชงมีคาร์โบไฮเดรต 20-30 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 20-25 เปอร์เซ็นต์ ไฟเบอร์ไม่ละลายน้ำ 10-15 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 25-35 เปอร์เซ็นต์ (Alonso-Esteban *et al.,* 2022) กัญชงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร อาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมสิ่งทอ (Callaway, 1996; Bertoli *et al*, 2010)

(ก) (ข)

ภาพที่ 2 ต้นกัญชง (ก) เมล็ดกัญชง (ข)

กัญชงมีองค์ประกอบสำคัญ คือสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) โครงสร้างหลักอยู่ในรูปของเทอร์พีนอยด์ (Cannabis terpenes) เป็นสารประกอบอะโรมาติก พบมากในน้ำมันหอม (ภาพที่ 3) ประกอบด้วยสารสำคัญ 2 ชนิด คือ 1.) Tetrahydrocannabinol (THC) เป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท ลดอาการปวด การเกร็งของกล้ามเนื้อ แต่หากรับปริมาณสูงส่งผลข้างเคียงต่อระบบประสาท กระวนกระวาย เห็นภาพหลอน และทำให้เกิดอาการเมา THC จัดเป็นสารเสพติด การใช้สาร THC ต้องไม่เกิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางรูปแบบน้ำมัน หรือ soft gelatin capsules ต้องมีสาร THC ปนเปื้อนไม่เกิน 0.001 เปอร์เซ็นต์ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข 11 พ.ค.2564) 2.) Cannabidiol (CBD) มีกลไกการออกฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการปวดฤทธิ์ต้านเชื้อราต้านอาการอักเสบ และอนุมูลอิสระช่วยปกป้องผิวจากมลภาวะ ช่วยเพิ่มคอลลาเจน และฟื้นฟูผิวเรียบเนียน กระตุ้นการผลัดเซลล์สร้างผิวใหม่ ลดรอยแดงรอยดำดูจางลง ส่งผลเครื่องสำอางที่มี

ส่วนผสมของ CBD เป็นสินค้าขายดีอย่างกว้างขวางระดับโลก สำหรับประเทศไทยกฎหมายกำหนดปริมาณ CBD ในเครื่องสำอางไม่เกิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และห้ามใช้กับผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับช่องปากหรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้บริเวณจุดซ่อนเร้น (กรกนก อิงคนินันท์ และ คณะ 2563) ส่วนของดอกกัญชงมีองค์ประกอบทางเคมีที่โดดเด่น คือ oxygenated monoterpenes และ oxygenated sesquiterpenes เป็นกลุ่มของน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะรักษาแบคทีเรียก่อโรคได้ (Nafis *et al.,* 2019) ส่วนของใบมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงโลหิต ทำให้ผ่อนคลายนอนหลับสบาย รักษาอาการปวดศีรษะหรือไมเกรน รักษาโรคท้องร่วง โรคบิด บรรเทาอาการปวดคลายกล้ามเนื้อ และรักษาโรคเกาต์ (สิกขวัฒน์ นักร้อง, 2564) น้ำมันเมล็ดกัญชงมีกรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อร่างกาย ประกอบด้วย กรดไขมันลิโนเลนิก (โอเมก้า-3) 15-20 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันลิโนเลอิก (โอเมก้า-6) 54-60 เปอร์เซ็นต์ และวิตามินอี ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง น้ำมันกัญชงมีคุณสมบัติเพิ่มความชุ่มชื้น บำรุงผิว รักษาโรคผิวแห้งคัน และสะเก็ดเงิน (Montserrat-de la Paz *et al*., 2014; Ellison *et al.*, 2021) นอกจากนี้พบสารประกอบสารแคนนาบินอยด์อื่นๆ ในกัญชง เช่น Cannabinoids (CBN), Cannabichromene (CBC), Cannabigerol (CBG) สามารถเพิ่มความสามารถฤทธิ์ทางชีวภาพ จากรายงานของ Chen *et al.* (2012) สกัดเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ Bama และYunma No. 1 ด้วยเทคนิคอัตราโซนิคในตัวทำละลายน้ำผสมกับเมทานอล เอทานอล และอะซิโตน พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สารสกัดเมล็ดกัญชงสายพันธุ์ Bama ในตัวทำละลายอะซิโตน 75 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธ์ Yunma ตัวทำละลายอะซิโตน 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 58$\pm$0.00 และ1.32$\pm$0.27 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และวิธีการทดสอบ ABTS แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.068$\pm$0.00 และ 0.114$\pm$0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน



(ก) (ข)

ภาพที่ 3 โครงสร้าง Cannabidiol (ก) Tetrahydrocannabinol (ข)

ที่มา : Marzullo *et al*. (2020)

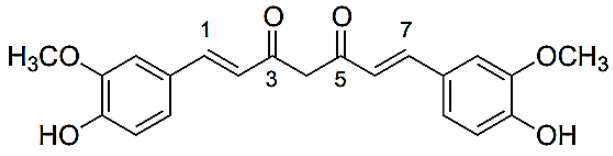
2.2 ขมิ้นชัน

ขมิ้นชัน มีชื่อสามัญ Turmaric และชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma longa* L เป็นพืชสมุนไพรพบมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลักษณะพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน เป็นพืชล้มลุกที่จัดอยู่ในตระกูลขิง เป็นเหง้าใต้ดิน (rhizome) แยกแขนงทรงกระบอกออกด้านข้าง เนื้อในเหง้าสีเหลืองส้ม (ภาพที่ 4) มีกลิ่นเฉพาะตัว นิยมนำไปใช้ในการประกอบอาหาร แต่งสี แต่งกลิ่นอาหาร เช่น แกงไตปลา แกงกะหรี่ ซึ่งขมิ้นชันถูกจัดให้อยู่ในตำรับยาสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณป้องกันและรักษาโรคต่างๆ (ฐานข้อมูลเครื่องยาขมิ้นชันคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ออนไลน์, 2565)

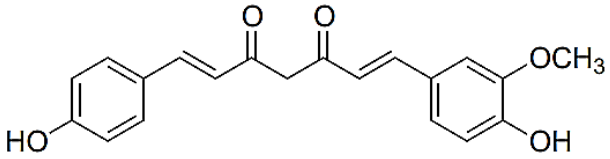
ภาพที่ 4 ขมิ้นชัน

ขมิ้นชันมีพื้นที่ปลูกมากในจังหวัดกาญจนบุรี ลำปาง และสุราษฎร์ธานี ขมิ้นชันได้รับการขึ้นทะเบียนโดยกรมวิชาการเกษตรมีทั้งหมด 5 สายพันธุ์ คือ ขมิ้นชันทัดปุด ตาขุน ขุนแดงสยาม ส้มปรารถนา และเหลืองนนทรี (สุภาภรณ์ สาชาติ, 2558) ขมิ้นชันประกอบด้วยสาร 2 กลุ่ม คือ 1. น้ำมันหอมระเหย (essential oil) มีสีเหลืองอ่อน พบในราก 4.3 เปอร์เซ็นต์ เหง้า 3.8 เปอร์เซ็นต์ ใบ 1.3 เปอร์เซ็นต์ และดอก 0.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน (sesquiterpene) มีองค์ประกอบทางเคมี aromatic-turmerone 24 เปอร์เซ็นต์ alpha-turmerone 20.5 เปอร์เซ็นต์ และ beta-turmerone 11.1 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา 2. เคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 3 ชนิด คือ เคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) (ภาพที่ 5) เคอร์คูมิน (curcumin) พบมากที่สุดประมาณ 70-75 เปอร์เซ็นต์ demethoxycurcumin ประมาณ 19.4 เปอร์เซ็นต์ และ bisdemethoxycurcumin ประมาณ 9.1 เปอร์เซ็นต์ เคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) มีสีเหลืองส้ม ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลาย มีฤทธิ์ทางชีวภาพและมีสรรพคุณทางยา เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ป้องกันอัลไซเมอร์ ชะลอการแก่ก่อนวัย รักษาริดสีดวง แก้พิษแมลงกัดต่อย ป้องกันโรคข้อเข่าอักเสบ ลดระดับไขมันในเส้นเลือด และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (Kotra *et al*., 2019 โครงสร้างของเคอร์คิวมินนอยด์ประกอบด้วย 3 หมู่ฟังก์ชัน คือ hydroxyl group, ketone groups และ double bond และยังมีน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น เช่น α-pinene, β-pinene, myrcene, α-terpinene, p-cymene, 1,8-

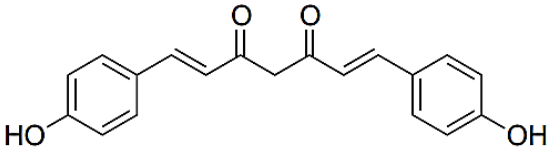
cineol,linalool, ar-curcumene, α-zingiberene, β-bisabolene, α-turmerone, β-turmerone, curcupheno (Leela *et al.*, 2002) จากรายงานของ Park *et al.* (2019) สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขมิ้นชันด้วยตัวทำละลายน้ำในชุดอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียส เวลา 15-180 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ DPPH เท่ากับ 0.00454 mmol BHAE/ml และวิธีการทดสอบ ABTS เท่ากับ 0.0091 mmol AAE/ml สกัดระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่งผลการฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง ผลการทดลองช่วยการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดขมิ้นชันที่เหมาะสมในการรักษาเคอร์คูมินอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขมิ้นชัน



(ก)



(ข)



(ค

ภาพที่ 5 โครงสร้างเคอร์คิวมินอยด์ Curumene (ก) Demethoxycurcu min (ข) Bisdemethoxycurcumin (ค)
ที่มา : Kita *et al*. (2009)

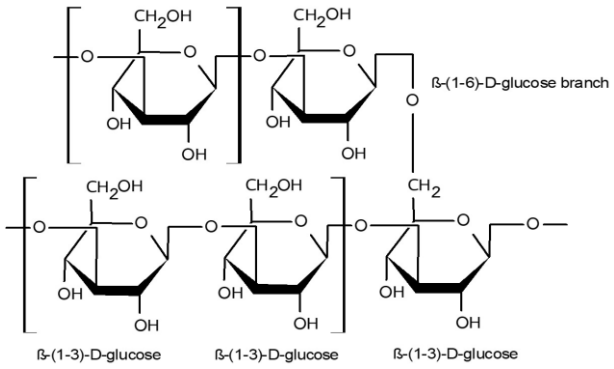
2.3 เห็ดแครง

เห็ดแครง ชื่อสามัญ spilt gill ชื่อวิทยาศาสตร์ *Schizophyllum commune* Fr. เห็ดแครงมีขนาดเล็กรูปร่างคล้ายพัด ก้านสั้นประมาณ 0.1-0.5 เซนติเมตร ดอกเห็ดกว้างประมาณ 3 เซนติเมตร ส่วนผิวด้านบนมีสีขาวปนเทา เหนียวและแข็งแรง ขอบดอกหยักคล้ายขอบเปลือกหอยแครง ด้านใต้ของดอกมีครีบเป็นร่องสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 6) มีสปอร์สีขาวรูปร่างเป็นทรงกระบอกขนาด 3-4x1-1.5 ไมครอน (Drife, 2013) เจริญเติบโตช่วงฤดูฝน พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทยขึ้นบริเวณกิ่งไม้ ขอนไม้ เปลือกไม้ สามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้วิธีแบบเดียวกับเห็ดนางฟ้า

ภาพที่ 6 ดอกเห็ดแครง

เห็ดแครง เป็นเห็ดพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่พบในบริเวณพื้นที่ภาคใต้ สามารถนำไปประกอบเป็นอาหารมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เห็ดแครง 100 กรัม พบโปรตีน 17.0 กรัม ไขมัน 0.5 กรัม แคลเซียม 90 มิลลิกรัม ธาตุเหล็ก 280 มิลลิกรัมและฟอสฟอรัส 640 มิลลิกรัม (กรมวิชาการเกษตร, 2556) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ฟีนอล (phenols) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) นิ ไกลโคโปรตีน (glycoproteins) สารสำคัญที่มีคุณสมบัติเด่น คือสารประกอบโพลีแซ็คคาไรด์ชนิดชิโซฟิลแลน (*schizophyllan*) เป็นสารบีต้ากลูแคน (β-glucan) มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก โดยเบต้ากลูเคนที่สามารถพบได้ในธรรมชาติมี 2 ประเภท β (1-3, 1-4) พบในผนังเซลล์ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ และ β (1-3, 1-6) พบยีสต์ รา เห็ด ซึ่งมีโมเลกุลน้ำตาลเดียวหลายโมเลกุลต่อกัน คือ D-glucose เชื่อมต่อระหว่างพันธะไกลโคดิก ตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ต่อกับคาร์บอนตำแหน่ง 3 (ภาพที่ 7) มีสมบัติความเป็นขั้วสูง ละลายน้ำได้ดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Zhang *et al*., 2013; นฤมล มงคลธนวัฒน์, 2014) สามารถต้านเชื้อไวรัส ต้านการอักเสบ และต้านแบคทีเรีย และต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น sarcoma 180 sarcoma 37 และ ehrlich carcinoma (Vieira *et al*., 2012) เห็ดแครง มีสรรพคุณหลากหลายนำมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมทางการแพทย์ เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอาหาร (Smiderle *et al*, 2012) จากรายงานของ Emsen *et al.* (2017) สกัดเห็ดแครง ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน คลอโรฟอร์ม เฮกเซน เมทานอล และน้ำ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 2 วัน พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ DPPH ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเมทานอลสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด 55 และ 54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) Razak *et al*. (2018) สกัดเห็ดแครงด้วยการแช่ตัวทำละลายเมทานอล 70 และ 99 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 70 และ99 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 8.95, 8.10, 6.95 และ 9.45 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ตามลำดับ ปริมาณเบต้ากลูแคน เท่ากับ 76.14, 38.60, 39.87 และ 75.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารสกัดเห็ดแครงด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ และ 99 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 40 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Abd Razak *et al*. (2019) สกัดเห็ดแครงที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1, 12 และ24 ชั่วโมง โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่า ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 ชั่วโมง มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด เท่ากับ 94.20 และ 95.40 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ DPPH สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ 87.10 และ 78.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเห็ดแครงมีศักยภาพพัฒนาเป็นส่วนผสมทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์เวชสำอางหรือผลิตภัณฑ์ดูแลผิว นอกจากนี้ Tepsongkroh *et al.* (2019) สกัดเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดแครง เห็ดฟาง และเห็ดหอม ตากแห้งและแช่แข็ง ด้วยตัวทำละลายเมทานอลกวนด้วยความเร็ว 150 rpm อุณหภูมิห้อง เวลา 1 ชั่วโมง และสกัดด้วยน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสกวนความเร็ว 150 rpm อุณหภูมิห้อง เวลา 1 ชั่วโมง พบว่าเห็ดฟาง เห็ดแครงที่ตากแห้ง และแช่แข็ง ด้วยน้ำเดือดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 14.16$\pm$0.10, 14.52$\pm$0.15,13.72$\pm$0.01 และ 12.81$\pm$0.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สารกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เท่ากับ 14.47$\pm$0.13, 14.56$\pm$0.18, 13.59$\pm$0.31 และ 12.71$\pm$0.21 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ DPPH สารสกัดเห็ดฟาง และเห็ดแครงน้ำเดือด และเมทานอลมีปริมาณใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 2.65 ถึง 3.36 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง สอดคล้องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ ABTS เท่ากับ 8.29$\pm$0.35 และ 8.55$\pm$0.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยน้ำเดือดมีประสิทธิภาพสูงสุด

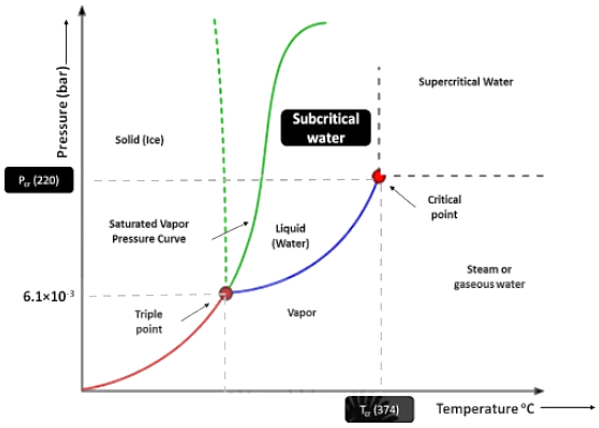


ภาพที่ 7 โครงสร้างของ (1 - 3) β-glucan, (1 - 6) β-glucan

2.4 การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water: SWE)

การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด เรียกว่าเทคนิค subcritical water extraction หรือ superheated water Extraction เป็นวิธีที่นิยมอย่างกว้างขว้างตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ปนเปื้อนสารเคมี ลดเวลาการสกัดสาร มีราคาถูก รีไซเคิลง่าย ไม่ติดไฟ (Marcus, 2018; Wijngaard *et al*., 2012) สกัดด้วยน้ำตัวทำละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้อุณหภูมิและความดันสูงจะลดความหนืด ลดแรงตึงผิวของน้ำเปลี่ยนความชั้ว และค่าคงที่ไดอิเล็กตริกของตัวทำละลาย ซึ่งจะทำลายพันธะไฮโดรเจนหรือพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโพลีฟีนอลกับโปรตีน ทำให้โพลีฟีนอลและโปรตีนแยกออกจากกัน สามารถสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เช่น พอลิแซคคาไรด์ โปรตีน โพลีฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระ (Zakaria and Kamal, 2016; Zhang *et al*., 2020)

คุณสมบัติพิเศษหลายประการเกิดจากพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะในโมเลกุลของน้ำถูกทำลายเมื่ออุณหภูมิและความดันเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้สมบัติของน้ำเปลี่ยนสมบัติภายใต้อุณหภูมิและความดันที่ต่างกันจึงสามารถสกัดสารที่มีขั้วค่อนข้างต่ำได้ (Mustafa, 2011) นอกจากนี้ยังสามารถไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์และอีเทอร์ในโพลิเมอร์



ภาพที่ 8 สถานะของน้ำที่อุณหภูมิและความดันกึ่งวิกฤตยิ่งยวด
ที่มา : Gbashi *et al*. (2017)

สถานะของน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดมีอุณหภูมิระหว่างจุดเดือดและอุณหภูมิจุดวิกฤตของน้ำอยู่ในช่วง 100-374 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8) น้ำมีพันธะไฮโดรเจนแข็งแรง มีคุณสมบัติเบาในสถานะก๊าซ มีความหนาแน่นมากกว่าเมื่อเทียบกับสถานะของแข็ง ที่ช่วงอุณหภูมิร้อน 100-374 องศาเซลเซียส พันธะไฮโดรเจนและแรงระหว่างโมเลกุลอื่นๆ ถูกขัดขวาง ทำให้น้ำมีความยืดหยุ่นและมีพลังงานมากในการสกัดสาร การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพียงเล็กน้อยสามารถเปลี่ยนแปลงความสามารถในการละลายของสาร จึงสามารถนำมาใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรธรรมชาติ (Asl and Khajenoori, 2013; Ravber *et al*., 2015; Gbashi *et al*., 2017)

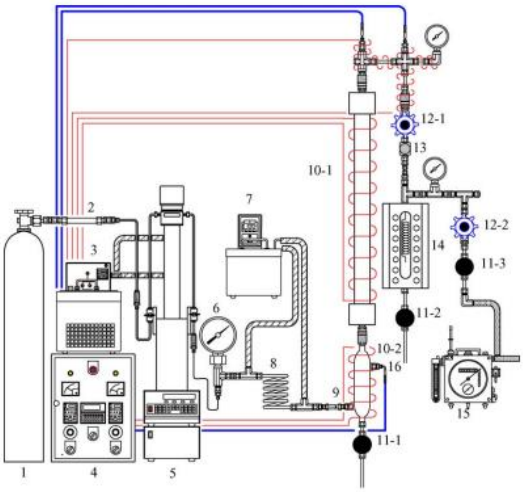
2.5 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide ; $SCCO_2$)

การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide ; $SCCO_2$) ด้วยเครื่องสกัดแรงดันสูง Supercritical Fluid Extraction (ภาพที่ 9) เป็นการสกัดสารในสภาวะอุณหภูมิและความดันเหนือจุดวิกฤต มีสถานะระหว่างแก๊สและของเหลวซึ่งมีสมบัติการซึมผ่านของแข็งเหมือนแก๊ส และสามารถละลายสารเหมือนของเหลว คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดมีสมบัติการละลายสารพวกไม่มีขั้ว (Non-polar compound) การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด เป็นเทคโนโลยีสะอาดและเป็นเทคโนโลยีใหม่เพื่อทดแทนกระบวนการสกัดเดิมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์มากประหยัดตัวทำละลาย สามารถสกัดสี กลิ่นน้ำมันหอมระเหย คาเฟอีน วิตามิน สารสำคัญที่มีมูลค่าสูงจากธรรมชาติใช้ในผลิตภัณฑ์ยา เครื่องสำอาง ครีมบำรุงผิว และอาหารเพื่อสุขภาพ(Punvichai *et al*., 2016; Roman *et al*., 2016;

Kajorncheappunngam, 2006) ข้อดีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ไม่ติดไฟง่าย ราคาไม่แพง หาได้ง่าย และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ อีกทั้งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม Gopalan *et al.* (2000) สกัดน้ำมันขมิ้นชันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส ความดัน 200-400 บาร์ พบว่าที่อุณหภูมิ 40-60 องสาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ มีปริมาณสารสกัดใกล้เคียง เท่ากับ 0.046 เปอร์เซ็นต์ สกัดขมิ้นชันด้วยอุณหภูมิคงที่ 40 องศาเซลเซียส เพิ่มความดัน 400 บาร์ พบว่าปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.050 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากแรงดันสูงส่งผลให้การละลายเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยดีขึ้น Chang *et al.* (2006) สกัดขมิ้นชันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 34.85 และ 74.85 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับปริมาณ ar-turmerone และ **α+β** –turmerone เท่ากับ 86 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิการสกัดขมิ้นชันต่ำและความดันสูง ส่งผลต่อปริมาณสารสกัดและองค์ประกอบทางเคมี

Mazzutti *et al.* (2012) สกัดเห็ดกระดุมบราซิลด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ความดัน 100, 200 และ 300 บาร์ ระยะเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเห็ดกระดุมบราซิล ความดัน 100, 200 และ 300 บาร์ มีค่าเท่ากับ 22±0.3, 22±0.2, 19±1.0 มิลลิกรัมสมมูลของกรดคลอโรเจนิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระความดันที่เหมาะสมสารสกัดเห็ดกระดุมบราซิล 300 บาร์ ด้วยวิธีการทดสอบ ABTS แสดงค่า EC_{50} เท่ากับ 2.37 กรัมต่อมิลลิลิตร ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับร้อยละผลผลิตการเพิ่มความดันสัมพันธ์กับความหนาแน่นของก๊าซ ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ Milovanovic *et al*. (2020) สกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดนางฟ้า ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด และคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 380 บาร์ พบว่าเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 0.60 เปอร์เซ็นต์ การสกัดคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 0.93 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากเห็ดนางฟ้ามีคุณสมบัติขั้วต่ำ (non-polar) การใช้ตัวทำละลายร่วมทำให้ละลายขั้วได้ดีขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารสกัดเห็ดนางฟ้าเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธีการทดสอบ DPPH มีค่าเท่ากับ 11.00$\pm$0.11 และ 9.05$\pm$0.53 มิลลิกรัมสมมูลของโทลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีประสิทธิภาพสกัดสารจากเห็ดนางฟ้าที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

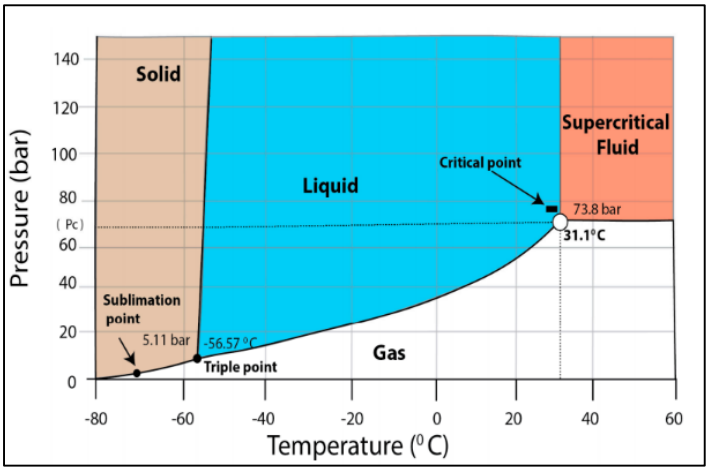
Aladić *et al.* (2015) สกัดน้ำมันเมล็ดกัญชงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส ความดัน 300-400 บาร์ และเวลา 30-210 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ มีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 31.00 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีปริมาณโทโคฟีรอล (**α**-tocopherol) เท่ากับ 158.26 และ95.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความดันเป็น 400 บาร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีโทโคฟีรอล เท่ากับ 181.60 มิลลิกรัมต่อลิตร การสกัดที่ระยะเวลา 180 และ 210 นาที อุณหภูมิ 40 เซลเซียส ความดัน 400 บาร์ มีปริมาณโทโคฟีรอลสูงสุดเท่ากับ 136.12 และ 146.80 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบกรดไขมันที่สำคัญได้แก่ linolenic acid, oleic acid, palmitic acid ในสารสกัด



ภาพที่ 9 เครื่องสกัด Supercritical CO_2

ที่มา : Chang *et al*. (2006)

หลักการของคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดสามารถอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลวหรือก๊าซ สมบัติที่คล้ายแก๊สสามารถขยายตัวเต็มภาชนะบรรจุมีลักษณะไหลได้ และสมบัติที่คล้ายของเหลวมีความสามารถการละลายของแข็งหรือของเหลวได้ดี ซึ่งจะมีอยู่หนึ่งจุดที่สารมีพื้นที่ข้ามกันในสามสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซ และเหนือจากสถานะความเป็นไอและของเหลวเรียกว่าจุดวิกฤต หรือ Critical point (ภาพที่ 10) ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด จุดวิกฤตของอุณหภูมิ (Tc) มีค่าเท่ากับ 31 องศาเซลเซียส และจุดวิกฤตของความดัน (Pc) มีค่าเท่ากับ 7.38 MPa (Smith and Ness, 1987) ปัจจุบันการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดที่ระดับความดัน และอุณหภูมิต่างๆ ช่วยเลือกในการสกัดองค์ประกอบของสารเพิ่มมูลค่า และเป็นวิธีการที่ป้องกันการเสื่อมสภาพขององค์ประกอบสารได้ดี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Punvichai *et al*., 2016)



ภาพที่ 10 เฟสไดอะแกรมของสารบริสุทธิ์

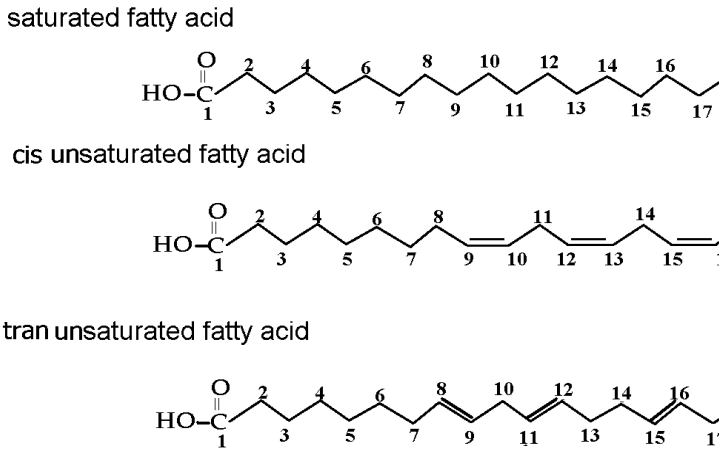
ที่มา : Gopaliya *et al*. (2014)

2.6 ลิพิด

ลิพิด คือ สารชีวโมเลกุล (biomolecules) สารประกอบที่ทำหน้าที่ 2 เป็นโครงสร้างและสารทำหน้าที่ของเซลล์สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิต เช่น น้ำ ไขมัน เกลือแร่ กรดไขมัน โปรตีน เอนไซม์ และคาร์โบไฮเดรต (อนุสรณ์ เชิดทอง, 2565) ลิพิดมีธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก มีคุณสมบัติที่ไม่มีขั้วลิพิดจึงเป็นสารชีวโมเลกุลที่ไม่ละลายในน้ำ (water-insoluble) หน้าที่สำคัญของลิพิดภายในร่างกายของมนุษย์ เป็นสารที่ใช้ในการสะสมพลังงานในร่างกาย และแหล่งพลังงานสำรองของร่างกาย ได้แก่ ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) ซึ่งประกอบไปด้วย กรดไขมัน (fatty acid) และกลีเซอรอล (glycerol) ลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันและแอลกอฮอล์ ได้แก่ ไขมัน น้ำมัน และไขจัดอยู่กลุ่มลิพิดเชิงเดี่ยว (simple lipid) โดยปกติที่อุณหภูมิห้องไขมันจะเป็นของแข็งส่วนน้ำมันจะเป็นของเหลว ส่วนไขเป็นสารประกอบด้วยกรดไขมันโมเลกุลใหญ่กับแอลกอฮอล์ไม่ละลายน้ำ พบมากบริเวณตามผิวหนังผลไม้บางชนิด (อนุสรณ์ เชิดทอง, 2565) ส่วนลิพิดกลุ่มที่มีสารอื่นประกอบ ได้แก่ ฟอสโฟลิพิด ไกลโคลิพิด และลิโพโปรตีนจัดอยู่กลุ่มลิพิดที่มีโครงสร้างเชิงซ้อนหรือลิพิดเชิงประกอบ (compound lipid) ส่วนสเตรอยด์จัดอยู่ในกลุ่มลิพิดที่มีโครงสร้างอนุพันธ์ลิพิด (derived lipid) เป็นลิพิดเชิงเดี่ยวและลิพิดเชิงซ้อน

2.6.1 กรดไขมัน

กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) หรือ non-esterified fatty acid กรดไขมันเป็นโครงสร้างของกรดอินทรีย์ (carboxylic acid) ที่มีสายไฮโดรคาร์บอนยาวแตกต่างกัน กรดไขมันที่พบมากในสิ่งมีชีวิตเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 อะตอม และกรดไขมันที่มีคาร์บอน 18 อะตอม กรดไขมันมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนเป็นเลขคู่ เนื่องจากการสังเคราะห์กรดไขมันเกิดจากคาร์บอน 2 อะตอมมาต่อกันจนเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอนจำนวนมาก (ภาพที่ 11) กรดไขมันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)



ภาพที่ 11 กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว

ที่มา : ธีรศักดิ์ (2565)

กรดไขมันอิ่มตัว (C-C) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนสายสั้นและยาว ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเกาะกับอะตอมของคาร์บอนด้วยพันธะเดี่ยวทั้งหมด ทำให้โมเลกุลมีความยืดหยุ่นสูงสามารถหมุนรอบแกนของพันธะเดี่ยวได้ และไม่มีพันธะมีจุดหลอมเหลวสูงกรดไขมันชนิดนี้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง เช่น น้ำมันหมู น้ำมันวัว ร่างกายสามารถกำจัดกรดไขมันอิ่มตัวยากส่งผลเกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด พบในน้ำมันทั่วไปกรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) (อาภัสสรา ชมิดท์, 2543)

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (C=C) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนยาว 16-22 อะตอม พันธะคู่ตั้งแต่ 1-6 มีจุดหลอมเหลวต่ำ ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเกาะกับอะตอมของคาร์บอนด้วยพันธะคู่ อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง กรดไขมันไม่อิ่มตัวพบมากในน้ำมันพืชและน้ำมันจากสัตว์ (พัชรี บุญศิริ , เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และอุบล ชาอ่อน, 2551) กรดไขมันไม่อิ่มตัวแบ่งเป็น 2 ชนิด 1.กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอนเชื่อมกันมีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอม 1 ตำแหน่ง พบมากคือ กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid,C18:1n9) 2. กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอนเชื่อต่อกันมีพันธะคู่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป พันธะคู่ที่พบในโมเลกุลเกิดขึ้นทุกตำแหน่งที่ 3 ของอะตอมคาร์บอน กรดไขมันไม่อิ่มตัวพบมากใน (Eicosatrienoic acid, C20:3n3), กรดไขมันไอโคซะไตรอีโนอิก (Eicosatetraenoic acid, C20:4n3), กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid,C22:6n3) (ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย, 2565)

2.7 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radicals) โมเลกุลหรืออะตอมที่ไม่เสถียร เนื่องจากขาดอิเล็กตรอน โดยปกติในร่างกายมีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนนอยู่เป็นจำนวนคู่ อนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสาร กลุ่มออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (reactive oxygen species; ROS) หากร่างกายมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากการถูกอนุมูลอิสระแย่งจับ จะทำให้โมเลกุลของเซลล์ในร่างกายไม่เสถียรขาดความสมดุล ส่งผลให้เซลล์ร่างกายเสียหายได้ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556) อนุมูลอิสระเกิดจาก 2 แหล่ง คือ แหล่งภายนอก ได้แก่ มลพิษในอากาศ ไนตรัสออกไซด์ โอโซน ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหาร แสงแดด รังสีแกมม่า ส่วนแหล่งภายในอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (O_2^- Superoxide anion) อนุมูลไฮดรอกซิล (OH^- ; Hydroxyl radical) อนุมูลเปอร์ออกซี (ROO ; Peroxy radical) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2 ; Hydrogen Peroxide) และออกซิเจนอะตอมเดี่ยว ($^1O_2$; singlet oxygen) ซึ่งเป็นโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้น และไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ไม่เสถียร เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์เกิดสารกลุ่มออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยามีการเปลี่ยนอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายเซลล์เมื่อร่างกายไม่สามารถผลิตหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอยับยั้งหรือจับอนุมูลอิสระได้ภายในเซลล์ของร่างกายทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง หัวใจและหลอดเลือด ต้อกระจก (Chen *et al*., 2012) กลไกลการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน

1. ขั้นตอนอินิทิเอชัน (Initiation step) ระยะเหนี่ยวนำ เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ โดยมีตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา คือ น้ำ แสง หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ดังสมาการ

$$X^{\bullet} + RH \longrightarrow R^{\bullet} + XH \qquad (1)$$

2. ขั้นตอนพรอพาเกชั่น (Propagation step) ระยะเพิ่มจำนวน เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นต่อจากขั้นตอนอินิทิเอชั่น และถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่น โดยความร้อนและแสงเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น สามารถเกิดปฏิกิริยา 2 แบบ คือ ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเดชั่นในสภาวะพื้นของระบบจนเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} \qquad (2)$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet} \qquad (3)$$

3. ขั้นตอนเทอร์มิเนชั่น (Termination) ระยะสิ้นสุด เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระมารวมกันในรูปแบบต่างๆ ได้สารที่มีความเสถียร เป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ดังสมาการ

$$R^{\bullet}\text{-}R^{\bullet} \longrightarrow R - R \qquad (4)$$

$$R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR \qquad (5)$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2 \qquad (6)$$

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น เช่น กระบวนการทำให้เหล็กเป็นสนิม แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำมันพืชเหม็นหืนหรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ยารักษาโรค ซึ่งเป็นปัจจัยทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกายสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ซึ่งสารประกอบสารใดสารหนึ่งไม่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด เนื่องจากแต่ละกลไกลมีความแตกต่างจึงอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น (งานโภชนาการ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ออนไลน์, 2565) สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่ใช้เพียงเล็กน้อยมีความสามารถชะลอการเกิดอนุมูลอิสระหรือกำจัดอนุมูลอิสระได้ สามารถลดความเสี่ยงโรคต่างๆ เช่น เบาหวาน มะเร็ง หลอดเลือดหัวใจ ไขมันอุดตันเส้นเลือด อัลไซเมอร์ ชะลอความแก่ รวมทั้งการเกิดฝ้า กระ จุดด่างดำ โดยร่างกายสามารถชะลอการเกิดหรือกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่ส่งผลต่อร่างกาย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วหรือมากเกินกว่าที่ร่างกายกำจัดได้ทันส่งผลกระทบต่อร่างกาย ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายผลิตขึ้นเองไม่เพียงพอต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระต้องบริโภคจากอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 1) สารต้านอนุมูลอิสระลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ 2 ทางคือ ลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย และลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดของ ROS สามารถจับกับ ROS ก่อนที่ส่งผลอันตรายต่อ

ร่างกายไม่เพิ่มความรุนแรงของอนุมูลอิสระหรือเปลี่ยน ROS มีที่ความแรงสูงขึ้น เช่น super oxide เป็นhydroxyl radical ต้องเกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มความสามารถของยีนที่สร้างเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กลไกลการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระสรุปได้ 3 ขั้นตอน (Embuscado, 2015) คือ

1. การกำจัดอนุมูลอิสระโดยตรง (free radical scavenger) เป็นกลไกลที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระ ส่งผลให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียรมากขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ ได้แก่ กลุ่มวิตามิน เช่น วิตามินอี วิตามินซี กลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระแบบสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary-butyl hydroquinone (TBHQ), propyl gallate กลุ่มพอลิฟีนอล เช่น catechin, curcumin, ellagic acid, gallic acid, malvidin, quercetin, resveratrol สมการที่ 1 ถึง 4

$$R\bullet + AH \longrightarrow RH + A\bullet \quad (1)$$

$$RO\bullet + AH \longrightarrow ROH + A\bullet \quad (2)$$

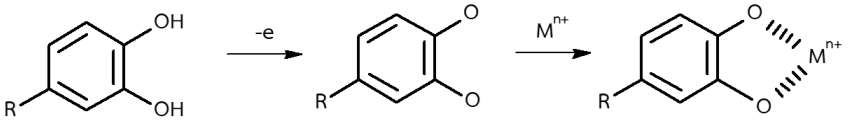
$$R\bullet + A\bullet \longrightarrow RA \quad (3)$$

$$RO\bullet + A\bullet \longrightarrow ROA \quad (4)$$

2. การกำจัดออกซิเจน (oxygen scavenger) เป็นกลไกลยับยั้งอนุมูลอิสระทำการยับยั้งปฏิกิริยาของการทำงานซิงเกลทออกซิเจน (singlet oxygen; $^1O_2$) เปลี่ยนให้อยู่ในรูปออกซิเจน 3 อะตอม (triplet oxygen; $^3O_2$) เพื่อกำจัดหรือป้องกันการเกิดออกซิเจน (O_2) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ เช่น วิตามินซี (vitamin C), sulphite, bisulphite, carotenoids โดยแคโรทีนอยด์ 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ 1,000 โมเลกุล ตามสมการที่ 5

$$^1O_2 \longrightarrow {}^3O_2 \quad (5)$$

3. สารคีเลต (chelating agents) เป็นกลไกลที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยกำจัดไอออนโลหะ เช่น Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นโลหะของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การกำจัดโลหะหนักส่งผลให้สามารถชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (สมการที่ 6) และสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ ได้แก่ flavonoids, citric acid, EDTA, phosphate



(6)

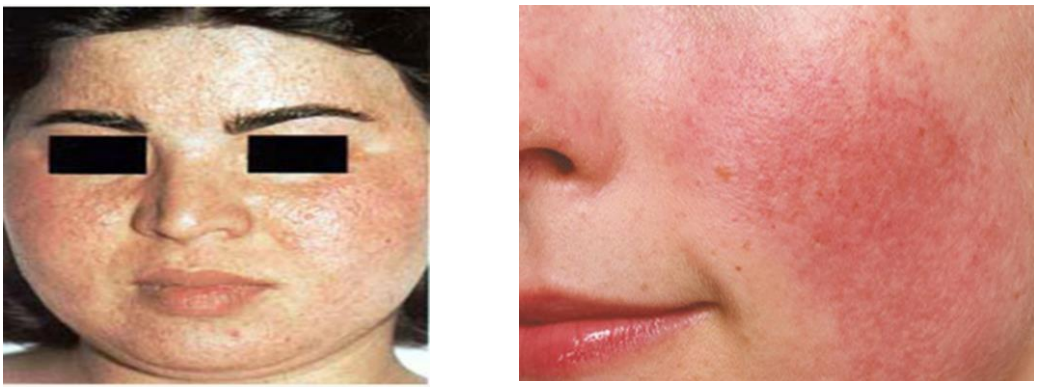
ตารางที่ 1 แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารอาหาร	แหล่งอาหาร
วิตามินซี	ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก บรอกโคลี คะน้า สะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว สับปะรด
วิตามินอี	น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์
ซีลีเนียม	อาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์และตับ บะหมี่ ไก่ ปลา ขนมปังโฮลวีท
วิตามินอี	ตับหมู ตับไก่ ไข่ น้ำนม พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ตำลึง กวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ
แคโรทีนอยด์	ผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม

ที่มา: งานโภชนาการ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ออนไลน์ (2565)

2.9 เซรั่ม

การสำรวจผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทั่วประเทศ ปีพ.ศ. 2558 จากจำนวนผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทั้งหมด 646 ตัวอย่าง พบว่าผู้บริโภคทั้งผู้หญิงและผู้ชาย วัยรุ่น วัยกลางคน นักศึกษา นิยมใช้ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าในชีวิตประจำวันมากขึ้น และในท้องตลาดพบเครื่องสำอางที่มีสารห้ามใช้จำนวน 223 ตัวอย่าง (ร้อยละ 34.52) พบสารปรอท 169 ตัวอย่าง สารไฮโดรควิโนน 33 ตัวอย่าง กรดเรทิโนอิก 12 ตัวอย่าง ซึ่งส่งผลอันตรายกับผู้บริโภคเกิดอาการแพ้ มีผดผื่นแดง ผิวหนังอักเสบ (ภาพที่ 12) สามารถซึมเข้าสู่กระแสเลือด ทำลายระบบประสาทส่วนกลาง (สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายปี 2560) ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติมีแนวโน้มการเติบโต 15 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ผู้บริโภคเริ่มให้ความสำคัญกับสุขภาพมากขึ้น และคาดการณ์ในปี 2563 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสมุนไพรมีจะมีมูลค่าสูงถึง 20,000 ล้านบาท มีแนวโน้มเติบโตอย่างรวดเร็ว เป็นอุตสาหกรรมที่ทำรายได้สูงให้กับประเทศไทย การประมาณการมูลค่าการตลาดของเครื่องสำอางโลกปี 2556-2560 มูลค่าตลาดเครื่องสำอางโลกมีแนวโน้มขยายตัวต่อเนื่องในปี 2557 มีมูลค่าประมาณ 255 ล้านเหรียญสหรัฐ (กมลพรรณ แสงมหาชัย และคณะ, 2559) เซรั่มเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวประเภทหนึ่งในรูปแบบของสารละลายที่มีความหนืดจัดเป็นเครื่องสำอาง หรือยาหรือเวชภัณฑ์ขึ้นอยู่กับสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่มีการผสมลงผลิตภัณฑ์ ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เซรั่มที่วางจัดจำหน่ายท้องตลาดเช่น เซรั่มวิตามินอี เซรั่มวิตามินซี เซรั่มจากสารสกัดพืช เซรั่มจากพิษผึ้ง ช่วยเรื่องความกระจ่างใส ลดริ้วรอย หน้าเต่งตึงกระชับ ลดฝ้า กระ จุดด่างดำ ผลิตภัณฑ์เซรั่มทั่วไปประกอบด้วยน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก สารบัฟเฟอร์ (buffering agent) ได้แก่ sodium citrate, boric acid รวมทั้งพอลิเมอร์ (polymer) เป็นสารเพิ่มความหนืด เช่น poloxamer 188, sodium alginate, gelatin, carbomer ผลิตภัณฑ์เซรั่มมีลักษณะไม่เหนียวเหนอะ เนื่องจากโมเลกุลของน้ำมีขนาดเล็กจึงมีเนื้อสัมผัสที่เบากว่าครีมบำรุงทั่วไป ซึมเข้าผิวง่ายทำให้เห็นประสิทธิภาพได้เร็ว



(ก) (ข)

ภาพที่ 12 ผิวมีลักษณะเป็นตุ่มผดผื่น (ก) ผิวหน้าแดงลอกอักเสบ (ข)

ที่มา : โรงพยาบาลรามาธิบดี คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

จากรายงานของมัญฑมน และคณะ (2557) สกัดไลโปโซมจากมะขามป้อมและพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมลดความหมองคล้ำและริ้วรอยบนผิวหน้าจำนวน 3 สูตร เทียบกับผลิตภัณฑ์ในท่องตลาด พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรที่ 1 จากสารสกัดไลโปโซมมะขามป้อม ให้การยอมรับเทียบเท่าผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดยี่ห้อ A ซึ่งมีระดับคะแนนความชอบโดยรวมด้วยวิธี 9-point hedonic scale มากที่สุด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคของสูตรพื้นฐาน 3 สูตร

Attribute	F1	F2	F3
Viscosity of cream	6.5	6.3	6.6
Smoothness of cream	7.0	6.9	6.8
Skin absorption	6.5	6.5	6.0
Moisturize on skin	6.8	6.9	6.67
Softness on skin	6.9	6.8	6.5
Odour (after use)	4.8	4.9	4.8
Sticky on skin (after use)	6.2	5.9	5.5
Overall Liking	6.5	6.3	6.3

ที่มา : มัญฑมน และคณะ (2557)

คัดเลือกสูตรจากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale ตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์เซรั่มสารสกัดจากมะขามป้อม วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี ค่าความหนืด ความเป็นกรดด่าง จำนวนแบคทีเรียยีสต และราทั้งหมด ตามเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การตรวจสอบคุณภาพกายภาพ ด้านเคมี และจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์เซรั่ม

Qualities		**Result**
1. Color	**L***	71.45
	a*	0.61
	b*	20.98
2. Viscosity (cP)		4,445.71
3. pH		6.15
4. Qualities of microbe	Total plate count	less than 10 CFU/g
	Coliform bacteria	Less than 3 MPN/g
	Escherichia coli	not found in 20 g
	Pseudomonas aeruginosa	not found in 20 g
	Staphylococcus. aureus	not found in 20 g
	Streptococcus spp.	not found in 20 g
	Salmonella	not found in 20 g
	Clostridium spp.	not found in 20 g

ที่มา : มัญฑมน และคณะ, 2557

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นบดละเอียด ยี่ห้อ Panasonic รุ่น MX-GM101 ผลิตโดย Panasonic เมืองคาโดมะ ประเทศญี่ปุ่น

2. ไมโครปิเปต 20-100 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Nichiryo รุ่น Nichipet EX II ผลิตโดยบริษัท Nichiryo Co., Ltd. เมืองโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

3. ไมโครปิเปต 100-1,000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Nichiryo รุ่น Nichipet EX II ผลิตโดยบริษัท Nichiryo Co., Ltd. เมืองโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

4. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Digital Balance 2 positions) ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Quintix3102-IS ผลิตโดย Sartorius Co., Ltd. เมืองกอทิงเกน ประเทศเยอรมัน

5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Digital Balance 4 positions) ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Quintix 224-IS ผลิตโดย Sartorius Co., Ltd. เมืองกอทิงเกน ประเทศเยอรมัน

6. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer) ยี่ห้อ KK รุ่น VM-300 ผลิตโดย Taiwan K.K. Corp. เมืองซินเป่ย ประเทศไต้หวัน

7. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Mettler Toledo) ยี่ห้อ Eutech รุ่น pH 700 ผลิตโดย Eutech Instruments Pte Ltd. เมืองจูร่ง ประเทศสิงคโปร์

8. เครื่องวัดสี (Colorimeter) ยี่ห้อ 3nh รุ่น NR-110 ผลิตโดย 3NH & TILO. Shenzhen ThreeNH Technology Co., Ltd. เมืองซื่อหยาน ประเทศจีน

9. เตาไฟฟ้าพร้อมชุดกวน (Magnetic Stirrer Hotplate) ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG-HS7 ผลิตโดย IKA® Works (Thailand) Co. Ltd. กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

10. เครื่องหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น ES-315 ยี่ห้อ Tomy ผลิตโดย Tomy Digital Biology Co., Ltd. เมืองโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

11. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น Rotavapor R-300 ผลิตโดย BÜCHI Labortechnik AG เมือง Flawil ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

12. เครื่องปั่นเหวี่ยงแยกสาร (High speed Centrifuge) ยี่ห้อ Hermle รุ่น Z36HK ผลิตโดย Hermle Labortechnik GmbH เมือง Wehingen ประเทศเยอรมัน

13. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น Uf 110 ผลิตโดย Memmert เมืองชวาบาค ประเทศเยอรมัน

14. ตู้ดูดไอสารเคมี (Fume Hood) ยี่ห้อ Wizard รุ่น WZ-1200LCD ผลิตโดย Worldwide Trade Thai Co., Ltd. กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

15. เครื่องเตาเผา (Furnace) ยี่ห้อ Carbolite Gero รุ่น CWF-12/13 ผลิตโดย DKSH Holding Ltd. เมืองซูริค ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

16. เครื่องย่อยโปรตีน (Protein Analyzer) ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vap 45S ผลิตโดย C. Gerhardt GmbH & Co. KG, C. เมือง Koenigswinter ประเทศเยอรมัน

19. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Rapid Distillation System) ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 40 ผลิตโดย C. Gerhardt GmbH & Co. KG, C. เมือง Koenigswinter ประเทศเยอรมัน

20. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Labtech รุ่น Spectro Star Nana ผลิตโดย LabTech S.r.l. เมืองปักกิ่ง ประเทศจีน

21. เครื่องอบแบบถาดหมุน (Tray Dryer) รุ่น TRAY DRYER MODEL : TD-5 ผลิตโดย Deepuj Pharma Machinery เมืองอาห์มาดาบัด ประเทศอินเดีย

22. เครื่องซุปเปอร์คริติคอล (supercritical fluid) ยี่ห้อ Applied Separations รุ่น Spe-ed SFE-2 ผลิตโดย Applied Separations, Inc. เมืองอัลเลนทาวน์ ประเทศสหรัฐอเมริกา

23. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC-FID MODEL: 7890B ผลิตโดย Agilent Technologies, Inc. เมืองซานตาคลารา ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.2 สารเคมี

1. กรดแกลลิค (gallic acid) Analytical reagent grade 99.5% ยี่ห้อ Honeywell Fluka™ ผลิตโดยบริษัท Fluka Chemicals Co., Ltd. เมืองฮันโนเฟอร์ ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

2. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) Analytical reagent grade 99.5% ยี่ห้อ Loba Chemie™ ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie Pvt Ltd. เมืองมุมไบ ประเทศอินเดีย

3. โฟลิน-ซิโอแคลทู รีเอเจนต์ (Folin-ciocalteu reagent) ยี่ห้อ Loba Chemie™ ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie Pvt Ltd. เมืองมุมไบ ประเทศอินเดีย

4. เอทานอล (Ethanol) Analytical reagent grade 99.9% ยี่ห้อ Merck™ ผลิตโดย MERCK KGAA เมืองดาร์มชตัท ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

5. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) Analytical reagent grade 99% ยี่ห้อ PanReac™ ผลิตโดย Panreac Química S.L.U. เมืองบาร์เซโลนา ประเทศสเปน

6. โซเดียมอะซิเตท (Sodium Acetate) Analytical reagent grade 99.9% ยี่ห้อ KemAus™ ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

7. กรดแอซีติก (acetic acid) Analytical Lab grade 99.8% ยี่ห้อ Loba Chemie™ ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie Pvt Ltd. เมืองมุมไบ ประเทศอินเดีย

8. เฟอริกคลอไรด์ (Ferric Chloride) Analytical Lab grade 99.8% ยี่ห้อ Loba Chemie™ ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie Pvt Ltd. เมืองมุมไบ ประเทศอินเดีย

9.กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) Analytical ACS grade 36-39% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

10. กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) Analytical reagent grade 99.9% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

11. อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile) Analytical reagent grade 99.9% ยี่ห้อ Fisher Chemical™ ผลิตโดย Thermo Fisher Scientific Inc. เมืองลัฟบะระ ประเทศอังกฤษ

12. คอปเปอร์ซัลเฟต (Cupper Sulfate) Analytical reagent grade 99.5% ยี่ห้อ PanReac™ ผลิตโดย Panreac Química S.L.U. เมืองบาร์เซโลนา ประเทศสเปน

13. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) Analytical Lab grade 98% ยี่ห้อ Loba Chemie™ ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie Pvt Ltd. เมืองมุมไบ ประเทศอินเดีย

14. เฮกเซน (Hexane) Analytical reagent grade 99% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

15. โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite) Analytical Lab grade 98% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

16. อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum Chloride) Analytical Lab grade 95% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

17. คาทิชิน (catechins) Analytical reagent grade 99.5% ยี่ห้อ Sigma-aldrich ผลิตโดย Sigma-Aldrich, Inc. เมืองสไตน์ไฮม์ อัม อัลบุค ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

18. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) Analytical Lab grade 95% ยี่ห้อ KemAus ผลิตโดย Elago Enterprises Pty Ltd. เมืองซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย

19. ชุดทดสอบหาปริมาณสาร Bata-glucan (Megazyme Test Kit) ผลิตโดย Megazyme Ltd. เมืองเบร ประเทศไอร์แลนด์

20. โทลอกซ์ (Trolox) Analytical Lab grade 97% ยี่ห้อ Sigma-aldrich ผลิตโดย Sigma-Aldrich, Inc. เมืองสไตน์ไฮม์ อัม อัลบุค ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

21. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Analytical reagent grade 99.5% ยี่ห้อ Sigma-aldrich ผลิตโดย Sigma-Aldrich, Inc. เมืองสไตน์ไฮม์ อัม อัลบุค ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

22. 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Diammonium salt (ABTS) Analytical reagent grade 99.9% ยี่ห้อ Fisher Chemical™ ผลิตโดย Thermo Fisher Scientific Inc. เมืองลัฟบะระ ประเทศอังกฤษ

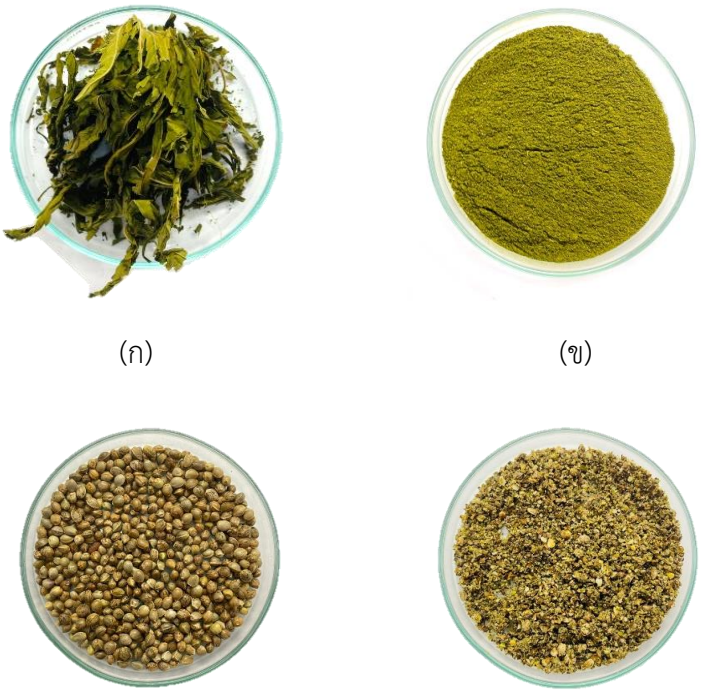
23. 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) Analytical reagent grade 99% ยี่ห้อ Sigma-aldrich ผลิตโดย Sigma-Aldrich, Inc. เมืองสไตน์ไฮม์ อัม อัลบุค ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน

3.2 วิธีดำเนินการ

3.2.1 วัตถุดิบกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง และการเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบกัญชงนับจากยอดมาใบที่ 4 และ 5 และเมล็ดกัญชงสดสายพันธุ์ RPF-3 ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2566 ตำบลคีรีราษฎร์ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ได้การรับรองเพาะปลูกจากโครงการหลวงและสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ตัวอย่างขมิ้นชันสด

สายพันธุ์ข่าไก่ในเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคมจากสวนขมิ้นชันศาลาไทย ตำบลตาขุน อำเภอคีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นพันธุ์รับรองสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 มีการเพาะปลูกแบบอินทรีย์ตัวอย่าง และเห็ดแครงสดเก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคมจากวิสาหกิจชุมชนไชโยฟาร์มเห็ด ตำบลท่าข้าม อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี บดตัวอย่างแต่ละชนิดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น สกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water) และคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$) นำสารที่สกัดได้มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลิพิด และพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่ม โดยเตรียมตัวอย่าง ล้างทำความสะอาดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ผึ่งในร่มให้สะเด็ดน้ำ และอบด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวอย่างมีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ บดละเอียดด้วยเครื่องปั่น (ภาพที่ 13-14) บรรจุใส่ถุงซิปล็อคใสขนาด 500 กรัม และเก็บในกระปุกพลาสติกพร้อมซิลิก้าเจล ที่อุณหภูมิห้อง 26±2 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการสกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดและเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด และนำตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงสด วิเคราะห์ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต (Proximate analysis) ตามวิธีการของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000.)



(ก) (ข)

(ค) (ง)

ภาพที่ 13 ใบกัญชงแห้ง (ก) ใบกัญชงผง (ข) เมล็ดกัญชงแห้ง (ค) เมล็ดกัญชงผง (ง)

(ก) (ข)

(ก) (ข)

ภาพที่ 14 ขมิ้นชันแห้ง (ก) ขมิ้นชันผง (ข) เห็ดแครงแห้ง (ค) เห็ดแครงผง (ง)

3.2.1.1. ปริมาณความชื้น (Moisture content)

ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยการอบถ้วยอลูมิเนียมสำหรับใส่ตัวอย่างด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นจนน้ำหนักคงที่ และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จากนั้นชั่งตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงอย่างละ 3±0.05 กรัม ใส่ถ้วยอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน อบตัวอย่างในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังอบจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ และคำนวณความชื้น ตามสูตรที่ 1

ความชื้น (%) = น้ำหนักที่หายไป (กรัม) x 100 / น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) (1)

3.2.1.2. ปริมาณเถ้า (Ash)

ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณเถ้า โดยอบถ้วยเซรามิก (crucible) ด้วยตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงอย่างละ 3±0.05 กรัม ใส่ถ้วยเซรามิกที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เผาไล่ควันบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) อย่างช้าๆ ค่อยๆ เพิ่มความร้อนให้ตัวอย่างเผาไหม้สมบูรณ์จนหมดควัน จากนั้นนำตัวอย่างเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย ระยะเวลา 4 ชั่วโมง เผาไหม้สมบูรณ์จนได้เถ้าสีขาว นำมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างถ้วยหลังเผา และคำนวณหาปริมาณเถ้าตามสูตรที่ 2

เถ้า (%) = น้ำหนักเถ้า (กรัม) x 100/น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) (2)

3.2.1.3. ปริมาณโปรตีน (Protein content)

ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงสดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของเจลดาห์ (Kjeldahl method) โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 1.00±0.05 กรัม ใส่กระดาษกรอง Whatman No 4. ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใส่หลอดย่อยโปรตีน เติมสารผสมคอปเปอร์ซัลเฟตและโพแทสเซียมซัลเฟสอัตราส่วน 5 ต่อ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 7 กรัม เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 380 องศาเซลเซียส จนสารละลายเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีเขียวใสหรือฟ้าใส ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นโปรตีนระยะเวลา 5 นาที สารที่ละเหยออกจากเครื่องกลั่นทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร มีโบรโมคลีซอลกรีนและเมทิลเรด เป็นอินดิเคเตอร์ (Indicator) จำนวน 3 หยด ไตเตรทกับกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จุดยุติเปลี่ยนสีเขียวเป็นชมพูแดง คำนวณปริมาณโปรตีน ตามสูตรที่ 3

โปรตีน (%) = [(VA-VB) X N X 14.007 X F X 6.25)]/ W (3)

VA = ปริมาณของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่า (มิลลิลิตร)
VB = ปริมาณของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)
N = นอร์มัลของ H_2SO_4
F = Factor
W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.2.1.4. ปริมาณไขมันน้ำมัน (Fat and oil content)

ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณไขมันน้ำมัน โดยอบขวดก้นกลม (Boiling flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งตัวอย่างตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ปริมาณ 5.00±0.05 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No 4. บรรจุในหลอดทิมเบิล ประกอบเข้ากับชุดสกัดซอกห์เลตใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออกด้วยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้ และคำนวณหาปริมาณไขมันตามสูตรที่ 4

ไขมันน้ำมัน (%) = $[(W_1 \times 100)] / W_2$ (4)

W_1 = น้ำหนักไขมันน้ำมันที่สกัดได้ (กรัม)
W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.2.1.5. ปริมาณเส้นใย (Fiber content)

ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย โดยอบถ้วยเซรามิก (crucible) ด้วยตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ผ่านสกัดไขมันเรียบร้อยแล้วตัวอย่างละ 1.00±0.05 กรัม ใส่ถ้วยเซรามิกและต่อเข้ากับด้วยเครื่องย่อย เติมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นย่อยตัวอย่าง ระยะเวลา 30 นาที และกรองด้วยกรวยบุชเนอร์ที่มีกระดาษกรอง Whatman No 4. แล้วล้างด้วยน้ำร้อนเพื่อกำจัดกรด นำไปสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ระยะเวลา 30 นาที กรองด้วยกรวยบุชเนอร์ที่มีกระดาษกรอง Whatman No 4. แล้วล้างด้วยน้ำร้อนเพื่อกำจัดด่างจะได้เส้นใยที่ผสมกับเถ้า นำตัวอย่างอบด้วยตู้อบลมร้อน 105 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 5 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเส้นใยที่ผสมกับเถ้า จากนั้นนำตัวอย่างเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างถ้วยหลังเผา และคำนวณปริมาณเส้นใย ตามสูตรที่ 5

$$\text{เส้นใย (\%)} = [(W_1\text{-}W_2 \times 100)]/W_3 \quad (5)$$

W_1 = น้ำหนักแห้งเส้นใยผสมกับเถ้า (กรัม)
W_2 = น้ำหนักเถ้าหลังเผา (กรัม)
W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.1.6 คาร์โบไฮเดรต

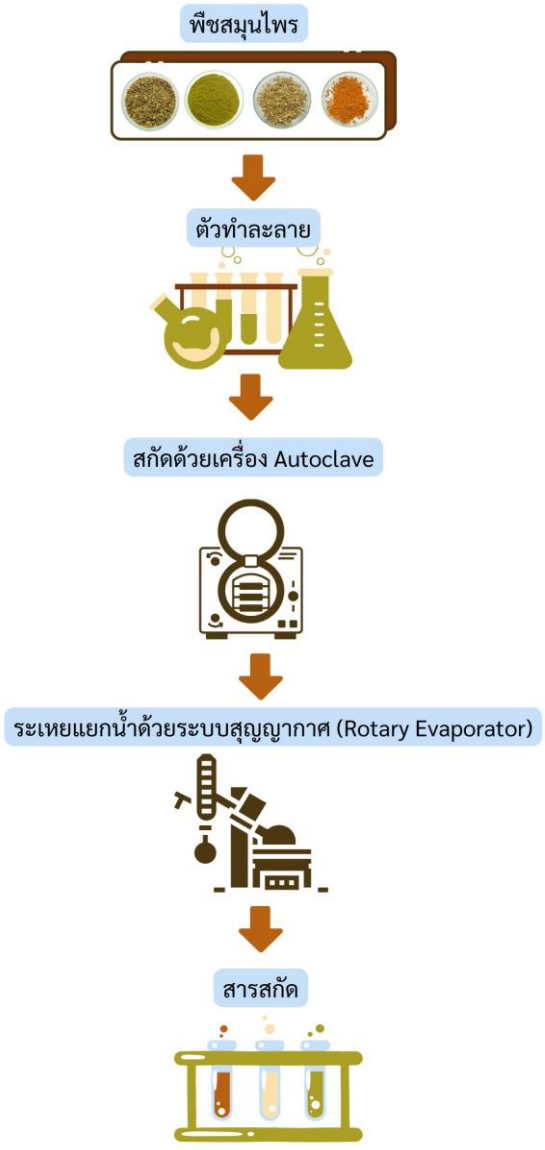
ตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยหักลบปริมาณร้อยละของโปรตีน เถ้า ไขมัน ความชื้น และเส้นใย ตามสูตรที่ 6

$$\text{คาร์โบไฮเดรต (\%)} = (W_1\text{-}W_2\text{-}W_3\text{-}W_4\text{-}W_5) \quad (6)$$

W_1 = โปรตีน (กรัม)
W_2 = เถ้า (กรัม)
W_3 = ไขมัน (กรัม)
W_4 = ความชื้น (กรัม)
W_5 = เส้นใย (กรัม)

3.2.2 การสกัดสารกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water)

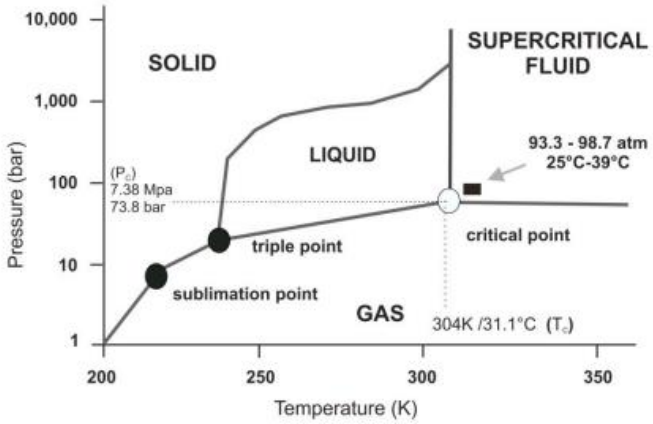
นำตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่ผ่านการอบแห้งในข้อ 3.2.1 มีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการสกัดปริมาณ 50.00±0.05 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน สกัดด้วยน้ำอัตราส่วนน้ำต่อตัวอย่าง 4 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ระยะเวลา 60 นาที กรองแยกกาก นำของเหลวที่สกัดได้ระเหยแยกน้ำด้วยระบบสุญญากาศ (ภาพที่ 15) คำนวณปริมาณสารสกัด (% yield) และเก็บตัวอย่างสารสกัดในขวดแก้วฝาดำขนาด 30 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส สำหรับรอการวิเคราะห์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS FRAP ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัด



ภาพที่ 15 ภาพการสกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด

3.2.3 การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$)

การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด เป็นกระบวนการที่ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในสถานะของไหลวิกฤตยิ่งยวด หลักการของของไหลยิ่งยวด เมื่อก๊าซหรือของเหลวถูกอัดภายใต้แรงดันและให้ความร้อนผ่านจุดวิกฤต (Critical Point) ซึ่งจะเข้าสู่เฟสซุปเปอร์คริทิคอล (supercritical phase) ส่งผลให้สถานะของสารสามารถอยู่ในรูปของของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ โดยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดมีอุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ความดัน 73.8 บาร์ (ดังภาพที่ 16) งานวิจัยนี้สกัดเครื่อง Supercritical carbon dioxide รุ่น Spe-ed SFE-2 ระดับห้องปฏิบัติการ สมบัติของตัวเครื่องสามารถตั้งค่าอุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส และความดันสูงสุด 690 บาร์ (10,000 psi) อัตราการไหลของปั๊ม 400 มิลิลิตรต่อนาที สามารถควบคุมอัตราการไหลคอลัมน์สกัด ลักษณะของด้านหน้า และด้านหลังของตัวเครื่อง (ดังภาพที่ 17)



ภาพที่ 16 เฟสไดอะแกรมคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด
ที่มา : Budisa (2014)

ภาพที่ 17 เครื่อง Supercritical carbon dioxide รุ่น Spe-ed SFE-2

3.2.3.1 การศึกษาการสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่อุณหภูมิ ความดัน และระยะเวลา ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่ผ่านการอบแห้งในข้อ 3.2.1 มีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการสกัดปริมาณ 50.00$\pm$0.05 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน บรรจุใส่คอลัมน์สกัดโดยเปิดฝาด้าน End Fitting โดยมีแผ่น Polypropylene Wool ด้านล่างของคอลัมน์ นำ Tamping rod อัดตัวอย่างในคอลัมน์ให้แน่นปิดด้วยแผ่น Polypropylene Wool ด้านบนของตัวอย่างป้องกันการหลุดลอดของตัวอย่างเข้าไปอุดตันภายในเครื่อง เปิดเครื่อง Supercritical Fluid เปิด Air pump ให้ความดันของเครื่องลดเหลือ 5 บาร์ ตั้งค่าอุณหภูมิ ความดันของตัวอย่างตามสภาวะที่กำหนด นำคอลัมน์ที่บรรจุตัวอย่างต่อเข้ากับ Oven Modue เสียบ Vessel Thermocouple สัมผัสกับคอลัมน์สกัด เพื่อตรวจสอบอุณหภูมิ ความดันของคอลัมน์สกัด รอจนอุณหภูมิ และความดันได้ตามที่กำหนดเปิด CO_2 Pump, CO_2 cylinder valve, oven และ valve ตามลำดับ ก๊าซคาร์บอนไดอกไซด์จะไหลตามคอลัมน์สกัด เปิด Inlet valve (ให้ตรงกับ line ที่มีคอลัมน์ที่ต้องการสกัด) เปิด out line ให้ตรงกับ Inlet valve โดยสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่สกัดได้ส่งผ่านคอลัมน์ไปยังภาชนะบรรจุเก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 18) อัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ลิตรต่อนาที โดยวางแผนการทดลอง คือ

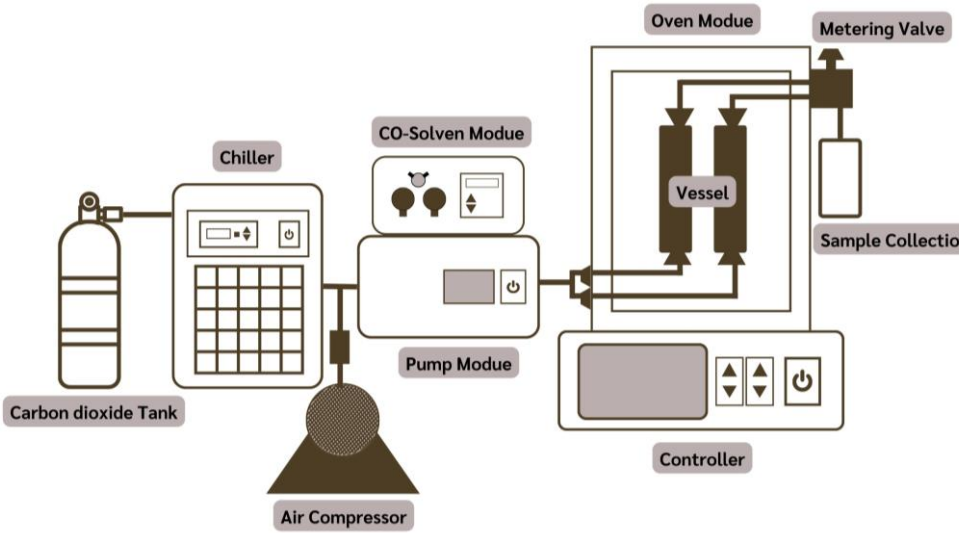
1. สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) ที่อุณหภูมิ 30, 60, 90, 120 และ150 องศาเซลเซียส ความดัน 74 บาร์ ระยะเวลา 1 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้คำนวณปริมาณสารสกัด (% yield) วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัด วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแตกต่างทางสถิติด้วย SPSS version 21 เลือกตัวอย่างสารสกัดของใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง แต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ศึกษาความดันที่มีผลต่อการสกัดในขั้นตอนถัดไป

2. สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) โดยเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ความดัน 80, 100, 120, 140 และ160 บาร์ ระยะเวลา 1 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้คำนวณปริมาณสารสกัด (% yield) วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัด วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแตกต่างทางสถิติด้วย SPSS version 21 เลือกตัวอย่างสารสกัดของใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง แต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อการสกัดในขั้นตอนถัดไป

3. สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) โดยเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 และความดันจากการทดลองที่ 2 สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ระยะเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที นำสารสกัดที่ได้คำนวณปริมาณสารสกัด (% yield) วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัด วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแตกต่างทางสถิติด้วย SPSS version

21 เลือกตัวอย่างสารสกัดของใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง แต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ศึกษาความชื้นที่มีผลต่อการสกัดในขั้นตอนถัดไป

4. สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) โดยเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ความดันจากการทดลองที่ 2 และระยะเวลาเวลาจากการทดลองที่ 3 สกัดตัวอย่างกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงสดและตัวอย่างแห้งความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ คำนวณปริมาณสารสกัด (% yield) วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัด วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแตกต่างทางสถิติด้วย SPSS version 21



ภาพที่ 18 การสกัดด้วยเครื่อง Supercritical carbon dioxide รุ่น Spe-ed SFE-2

3.2.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical scavenging (ดัดแปลงวิธีการของ Liu *et al*., 2013 และ Mensor *et al*., 2001)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยปิเปตสารสกัดแต่ละชนิดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ในจานหลุม 96 well plate เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 280 ไมโครลิตร เก็บในที่มืดอุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงบนไมโครเพลท รายงานค่าเป็นความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50} เทียบกับสารมาตรฐานโทลอกซ์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH radical จากสูตรที่ 7

Inhibition (%) = $[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}] \times 100$ (7)

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัด

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสง DPPH

3.2.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (ดัดแปลงวิธีการของ Sudha *et al*., 2012 และ Re *et al*., 1999)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยปิเปตสารสกัดแต่ละชนิดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลาย ABTS ที่ผสมระหว่างโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตและเอบีทีเอส ABTS อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปริมาตร 280 ไมโครลิตร ลงจานหลุม 96 well plate เก็บไว้ที่มืดอุณหภูมิห้อง นาน 6 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงบนไมโครเพลท รายงานค่าเป็นความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50} เทียบกับสารมาตรฐานโทลอกซ์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS radical จากสูตรที่ 8

Inhibition (%) = $[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}] \times 100$ (8)

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัด

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสง ABTS

3.2.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (ดัดแปลงวิธีการของ Benzie & Strain, 1996)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยปิเปตสารสกัดแต่ละชนิดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลาย FRAP ผสมสารระหว่างโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.6 และสารละลาย TPTZ อัตราส่วน 10 ต่อ 1 ต่อ 1 ปริมาตร 280 ไมโครลิตร ลงจานหลุม 96 well plate เก็บไว้ที่มืดอุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงบนไมโครเพลท คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนมีหน่วยเป็นมิลลิโมลสมมูลของเฟอร์รัสไอออนต่อกรัมสารสกัด (mmol $FeSO_4$/g extract)

3.2.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีการของ Liu *et al*., 2013)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก โดยนำสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ทำการเจือจางในน้ำกลั่น 100 เท่า ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ดูดปริมาณสารละลายที่เจือจางด้วยปิเปตปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง ผสมกับสารละลายโฟลินซิโอแคลตู (Folin-ciocalteu reagent) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เก็บในที่มืดอุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร (Mixer vortex) เก็บไว้ที่มืดอุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

3.2.8 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีการของ Marinova *et al*., 2005)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยนำสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ทำการเจือจางในน้ำกลั่น 100 เท่า ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ดูดปริมาณสารละลายที่เจือจางด้วยปิเปตปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด นาน 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด นาน 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2.4 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายคาทิชิน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของคาทิชินต่อกรัมสารสกัด (mg QE/g extract)

3.2.9 องค์ประกอบของกรดไขมัน ตามวิธีการ (AOAC, 2019)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน ผ่านกระบวนการ Saponified และ methylated โดยการเติมสารละลายเมทานอล ผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และโบรอนไตรฟลูออไรด์ผสมกับเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมทิลเอสเทอร์ (FAME) วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography : GC-FID) รุ่น 7890 B คอลัมน์ Agilent HP-88 Capillary อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา มีอัตราการไหล 0.65 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวอย่างฉีดผ่านคอลัมน์ 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิของ injector 260 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 90 นาที คำนวณชนิดและปริมาณของกรดไขมันเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมันชนิดต่างๆ

3.2.10 ปริมาณแคนนาบิไดออล Cannabidiol (Sirisupakritkul & Tongsima, 2020)

นำตัวอย่างสารสกัดกัญชง วิเคราะห์ปริมาณแคนนาบิไดออล โดยนำสารสกัดใบกัญชง และเมล็ดกัญชง 300 มิลลิกรัม ลงหลอดทดลองเติมเมทานอลปริมาตร 6 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์มปริมาตร 9 มิลลิลิตร แยกสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicate) ระยะเวลา 30 นาที กรองผาน pledget cotton filter แยกส่วนประกอบของสารสกัดด้วย Hydrophilic lipophilic balance (HLB cartridge) และกรองผ่าน polyvinylidene fluoride filter 0.45 ไมโครเมตร จนสารละลายใส จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) วิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) คอลัมน์ zorbax eclipse plus C18, 4.6 x 15 mm, 3.5 µm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส Mobile phase A สารละลายแอมโมเนียมฟอร์เมท เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของอะซิโตไนไตรล์ ปรับด้วยกรดฟอร์มิก pH 3.75 และ Mobile phase B อะซิโตไนไตรล์ เข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ผสมกันอัตราส่วน 30 ต่อ 70 มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวอย่างฉีดผ่านคอลัมน์ 30 ไมโครลิตร ใช้ระยะเวลา 40 นาที คำนวณปริมาณของแคนนาบิไดออลเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

3.2.11 ปริมาณเคอร์คูมิน (ดัดแปลงวิธีการจาก Jayaprakasha *et al*., 2002)

นำตัวอย่างสารสกัดขมิ้นชัน วิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมิน โดยนำสารสกัดขมิ้นชัน 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร แยกสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicate) และกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) คอลัมน์ Hypersil ODS 250 x 4.0 mm, 5 µm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส Mobile phase A Methanol และ Mobile phase B Formin acid เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ผสมกันอัตราส่วน 80 ต่อ 20 มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวอย่างฉีดผ่านคอลัมน์ 20 ไมโครลิตร อุณหภูมิของ injector 0.8 องศาเซลเซียส เซลเซียส ใช้ระยะเวลา 25 นาที คำนวณปริมาณของเคอร์คูมินเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

3.2.12 ปริมาณเบต้ากลูเคน (AOAC Official Method 995.16, and an AACC (Method 32-23) and ICC (Method No. 168)

ตัวอย่างสารสกัดเห็ดแครงวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูเคนด้วยชุดทดสอบ Yeast β-glucans enzymatic assay kit (Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland) เป็นวิธีการได้รับการรับรองจาก AOAC International และ ICC วิเคราะห์กลูเคนทั้งหมด โดยปิเปตสารสกัดเห็ดแครง 100 ไมโครลิตร ลงหลอดทดลองเติมเอ็นไซม์ exo-1,3-β-canase และ β-glucosidase ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และวางหลอดทดลองลงอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที เติมสารละลายเอ็นไซม์ glucose oxidase/peroxidase mixture (GOPOD) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารทันที แช่อ่างควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที รอสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และวิเคราะห์แอลฟากลูเคน

โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิกรัม เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 2 มิลลิโมล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองปิดฝาให้สนิท ใส่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำแข็งขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งบนเครื่องเขย่านาน 5 นาที เติมโซเดียมอะซิเตดบัฟเฟอร์ pH 3.8 ความเข้มข้น 1.2 มิลลิโมล ปริมาตร 8 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ amyloglucosidase และ invertasae ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแช่อ่างควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที เหวี่ยงแยกตะกอนออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบ 800 rpm ระยะเวลา 10 นาที ปิเปตสารสกัดส่วนใส 100 ไมโครลิตร เติมโซเดียมอะซิเตดบัฟเฟอร์ pH 5.0 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเอ็นไซม์ glucose oxidase/peroxidase mixture (GOPOD) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที รอสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometerที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณเบต้ากลูแคน ตามสูตร

กลูเคนทั้งหมด = $[As_{ample} \times (100 - A_{glucose}) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 90$

แอลฟากลูเคน = $[As_{ample} \times (100 - A_{glucose}) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 9.27$

เบต้ากลูแคน = กลูแคนทั้งหมด – แอลฟากลูเคน

3.2.13 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ร่วมกับห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์

พัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มตามสูตรพื้นฐานของห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ เตรียมส่วนผสมเซรั่ม ตามตารางที่ 4 ปรับสัดส่วนสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง โดยผสมส่วนละลายน้ำที่อุณหภูมิห้อง 26$\pm$2 องศาเซลเซียส เติมสารสร้างเนื้อเจลให้ความร้อนด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60-70 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 นาที เติมสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง และสารปรับค่าความเป็นกรดด่าง จากนั้นกวนส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง บรรจุขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความข้น หนืด เนื้อสัมผัส เกลี่ย หรือทาง่าย ในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้สเกลวัดระดับความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน เป็นผู้ช่วยวิจัย ผู้ชำนาญการของสถานประกอบการที่ร่วมวิจัย นักศึกษา และบุคคลากรคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ประเมินความชอบผลิตภัณฑ์เซรั่ม เลือกผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้การยอมรับพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ วิเคราะห์ความปลอดภัยตามประกาศผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ทดสอบคุณภาพการยอมรับผู้บริโภคในเชิงพาณิชย์ ใช้สเกลวัดระดับความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale จำนวนผู้ทดสอบกลุ่มเป้าหมายไม่น้อยกว่า 200 ราย ในงาน Industrial fair 2022 ที่ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัลพลาซ่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 4 ส่วนผสมร้อยละของเซรั่มสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

เฟส	ส่วนผสม	เปอร์เซ็นต์				
		สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5
A	aqua	89.85	89.85	89.85	89.85	89.85
	Butyleneglycol	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
	Glycerin	0.800	0.800	0.800	0.800	0.800
	Propanediol	0.170	0.170	0.170	0.170	0.170
	Disodium	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
	1,8-Hexanediol	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
B	Polysorsoroate	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	Acrylates/c10	0.450	0.450	0.450	0.450	0.450
	Algin	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040
	Biosaccharid-4	1.290	1.290	1.290	1.290	1.290
C	Aloe Barbadevsis	0.990	0.990	0.990	0.990	0.990
	Madecassoside	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080
	Tocopheryl Acetate	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
	Niacinamin	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
	Alpha-Glucan	1.590	1.590	1.590	1.590	1.590
	สารสกัดเห็ด	0.200	0.500	0.100	0.100	0.100
	สารสกัดขมิ้นชัน	0.200	0.100	0.500	0.100	0.100
	สารสกัดใบกัญชง	0.200	0.100	0.100	0.500	0.100
	สารสกัดเมล็ดกัญชง	0.200	0.100	0.100	0.100	0.500
D	Phenoxyethanlo	0.735	0.735	0.735	0.735	0.735
	Chlorophenesin	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
	Triethanolamine	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
	BHT	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004
	Ethylhexylglycein	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005

3.3.14 การศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์การประเมินต้นทุนของการผลิตเซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

บทที่ 4
ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

4.1 คุณภาพทางกายภาพ เคมี กัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

เก็บตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชงจากจังหวัดตาก ขมิ้นชัน และเห็ดแครงจากพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี นำตัวอย่างวิเคราะห์เถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต หรือ Proximate analysis ตามวิธีการของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) พบว่าในตัวอย่างเห็ดแครงมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดมีค่าเท่ากับ 22.40±0.31 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชัน มีค่าเท่ากับ 19.15±1.24, 19.32±0.61 และ14.08±0.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 5 ตัวอย่างใบกัญชงมีปริมาณปริมาณเส้นใยเท่ากับ 21.30±0.16 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดกัญชงมีความชื้นน้อยกว่าตัวอย่างอื่น มีค่าเท่ากับ 7.44±0.09 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมันเมล็ดกัญชง และขมิ้นชันมีปริมาณสูงถึง 30.59±0.19, 23.04±0.40 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากขมิ้นชันและเมล็ดกัญชงมีการสะสมของไขมันน้ำมัน และขมิ้นชันมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยประมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ และเคอร์คูมินนอยด์ 15.32 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดกัญชงมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบหลัก และไขมันส่วนอื่น เช่น สเตอรอล อะลิฟาติก และไตรเทอร์พีน และสควาลีน (Kotra *et al*., 2019; Alonso-Esteban *et al*., 2022; Montserrat-de la Paz *et al*., 2014)

ตารางที่ 5 ปริมาณเถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต ของกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

ตัวอย่าง	Ash	Moisture	Protein	Fat	Fiber	Carbohydrate
Hemp (Leaves)	9.23 ± 0.29^{a}	33.72 ± 0.24^{b}	13.35 ± 0.23^{c}	3.25 ± 0.35^{c}	21.30 ± 0.16^{a}	19.15 ± 1.24^{b}
Hemp (Seed)	4.68 ± 0.07^{b}	7.44 ± 0.09^{c}	21.52 ± 0.51^{b}	30.59 ± 0.19^{a}	16.45 ± 0.07^{b}	19.32 ± 0.61^{b}
Turmeric	2.05 ± 0.03^{d}	35.07 ± 0.63^{b}	17.60 ± 0.04^{d}	23.04 ± 0.40^{b}	8.16 ± 0.02^{c}	14.08 ± 0.91^{c}
Split gill	2.53 ± 0.02^{c}	$46.12+0.03^{a}$	11.41 ± 0.03^{a}	1.14 ± 0.01^{d}	16.40 ± 0.21^{b}	22.40 ± 0.31^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.2 การสกัดกัญชง ขมิ้นชันและเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water)

การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายอัตราส่วนน้ำต่อตัวอย่างเท่ากับ 4 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ระยะเวลา 60 นาที กรองแยกกาก นำของเหลวที่สกัดได้ระเหยแยกน้ำด้วยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) พบว่าสารสกัดเมล็ดกัญชงมีลักษณะข้น สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมคล้ายถั่วเหลือง สารสกัดขมิ้นชันมีลักษณะสีส้มเข้ม ส่วนใบกัญชงและเห็ดแครง มีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม ของเหลวข้นหนืด (ภาพที่ 19) อุณหภูมิมีผลต่อการสกัดสารในตัวอย่างพืชทั้งสามชนิด

กล่าวคือที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นแนวโน้มปริมาณสารสกัดเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 20) ที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ121 องศาเซลเซียส เห็ดแครงมีปริมารสารสกัดเท่ากับ 24.83±0.67, 27.24±0.24, 30.57±0.78 และ 35.63±0.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ปริมาณสารสกัดของใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง มีค่าเท่ากับ 31.46±0.21, 21.71±0.10, 19.73±0.36 และ35.63±0.52 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากอุณหภูมิสูง ส่งผลให้ความร้อนสามารถเข้าถึงเซลล์พืชช่วยเพิ่มอัตราการแพร่กระจายของความร้อน และความสามารถในการละลายของสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง นอกจากนี้เห็ดแครงมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักกลุ่มพอลิแซ็คคาไรด์ มีความเป็นขั้วสามารถละลายน้ำได้ดี (Chen *et al*., 2019; Tepsongkroh *et al*., 2019) สอดคล้องกับรายงานของ Emsen *et al* (2017) สกัดเห็ดแครงด้วยตัวทำละลายอะซิโตน คลอโรฟอร์ม เฮกเซน เมทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดเห็ดแครงด้วยน้ำร้อนเป็นตัวทำละลายมีปริมารสารสกัดสูงกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล

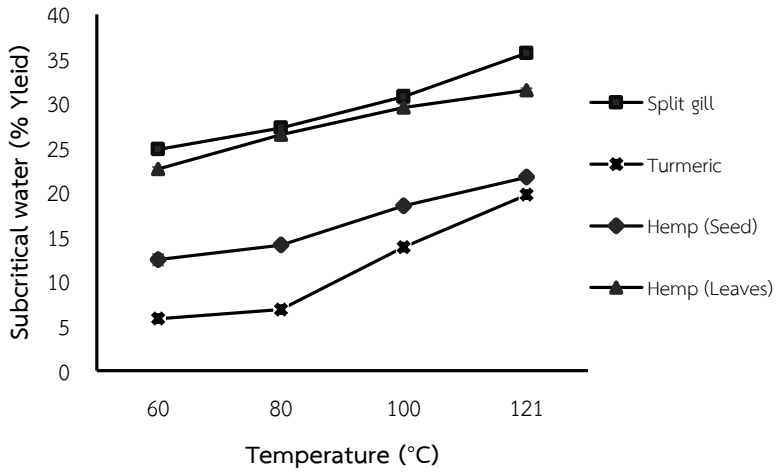
(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 19 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง (ก) เมล็ดกัญชง (ข) ขมิ้นชัน (ค) และเห็ดแครง (ง) ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ 20 สารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด

นำสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ระยะเวลา 60 นาที วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ผลการทดลองตามตารางที่ 6 ใบกัญชงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเมล็ดกัญชง แต่มีปริมาณฟลาโวนอยด์น้อยกว่าทุกช่วงของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด และเห็ดแครงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ121 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 66.02$\pm$1.11, 84.23$\pm$064, 126.82$\pm$2.13 และ 143.18$\pm$1.70 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.55$\pm$0.12, 66.02$\pm$0.59, 12.69$\pm$0.02 และ 2.47$\pm$0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ17.10$\pm$0.12, 36.89$\pm$0.48, 15.87$\pm$0.18 และ1.93$\pm$0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ส่งผลให้โครงสร้างเซลล์พืชแตกมีสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิล กลุ่มสารที่ทำหน้าที่เป็นผู้ให้ไฮโดรเจนหรือตัวรีดิวซ์ (Iloki-Assanga *et al*., 2015) เนื่องจากเห็ดแครงมีสมบัติความเป็นขั้วเข้าใกล้ตัวทำละลายน้ำ กัญชงและขมิ้นชันมีสมบัติความเป็นขั้วต่ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลค่าคงที่ไดอิเล็กตริก ความหนืด และแรงตึงผิวลดลง การกระจายตัวดีขึ้นทำให้พันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย (Zakaria and Kamal, 2016) ส่งผลให้สมบัติของน้ำเปลี่ยนไปคล้ายกับตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งสามารถละลายสารประกอบที่มีขั้วกลางและขั้วต่ำ (Hassas-Roudsari *et al*., 2009; Chen *et al*., 2012; Razak *et al*., 2019)

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่อุณหภูมิ 60-120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด

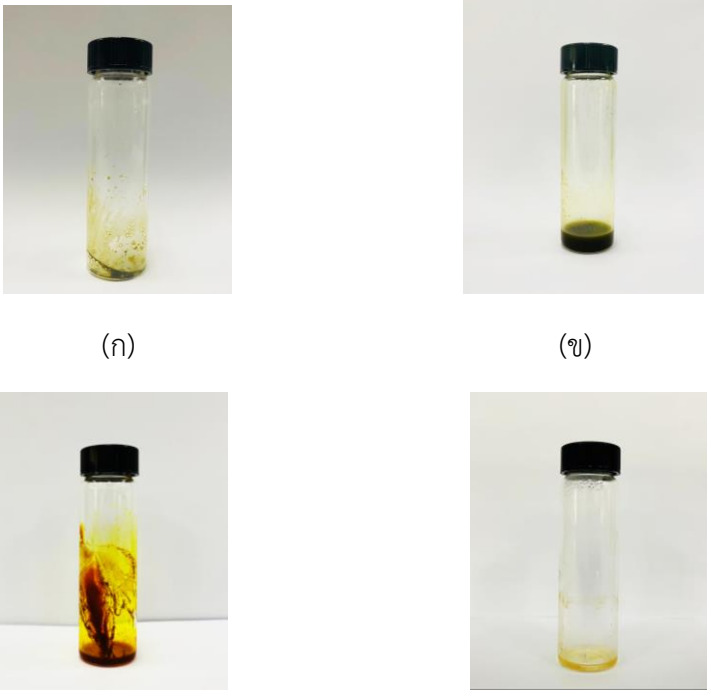
Sample	Temperature (C°)	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Flavonoid content (mg QAE/g extract)	IC_{50} (mg/ml)		FRAP (mg $FeSO_4$/g extract)
				DPPH	ABTS	
Hemp (Leaves)	60	38.85±0.25^{c}	7.28±0.45^{c}	43.03±0.32^{a}	35.55±0.45^{a}	18.30±0.47^{d}
	80	43.48±0.64^{b}	12.10±1.20^{b}	38.99±0.96^{b}	32.89±0.49^{b}	22.19±0.96^{c}
	100	61.38±1.11^{a}	15.10±0.80^{a}	30.83±0.38^{c}	27.33±0.36^{c}	31.64±1.27^{b}
	121	64.16±2.22^{a}	15.54±0.80^{a}	27.55±0.12^{d}	17.10±0.12^{d}	39.51±0.15^{a}
Hemp (Seed)	60	31.14±0.64^{c}	14.51±0.91^{d}	139.92±3.62^{a}	79.15±1.11^{a}	11.08±1.44^{d}
	80	32.68±1.11^{c}	18.61±0.30^{c}	114.88±3.15^{b}	76.90±0.56^{b}	14.97±0.95^{c}
	100	48.42±3.33^{b}	25.11±0.92^{b}	77.62±0.49^{c}	51.68±0.08^{c}	21.63±0.48^{b}
	121	53.98±0.78^{a}	32.35±1.18^{a}	66.02±0.59^{d}	36.89±0.48^{d}	31.63±1.27^{a}
Turmeric	60	38.51±1.25^{d}	28.04±0.54^{c}	46.01±0.82^{a}	33.50±0.50^{a}	12.75±2.50^{d}
	80	40.40±0.83^{c}	28.91±1.09^{c}	37.21±0.90^{b}	28.26±0.45^{b}	16.08±0.45^{c}
	100	50.46±1.17^{b}	46.90±1.15^{b}	28.00±0.18^{c}	27.92±0.16^{b}	29.97±0.16^{b}
	121	56.23±0.50^{a}	49.75±0.75^{a}	12.69±0.02^{d}	15.87±0.18^{c}	35.80±0.18^{a}
Split gill	60	66.02±1.11^{d}	51.21±2.14^{c}	22.83±0.34^{a}	20.34±0.58^{a}	213.86±0.96^{d}
	80	84.23±0.64^{c}	52.01±1.90^{c}	14.85±0.15^{b}	9.57±0.39^{b}	250.25±0.83^{c}
	100	126.82±2.13^{b}	62.05±0.60^{b}	4.15±0.50^{c}	3.78±0.47^{c}	307.47±0.47^{b}
	121	143.18±1.70^{a}	89.51±1.59^{a}	2.47±0.32^{d}	1.93±0.08^{d}	404.41±0.83^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.3 การสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$)

4.3.1 ผลของอุณหภูมิต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชันและเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

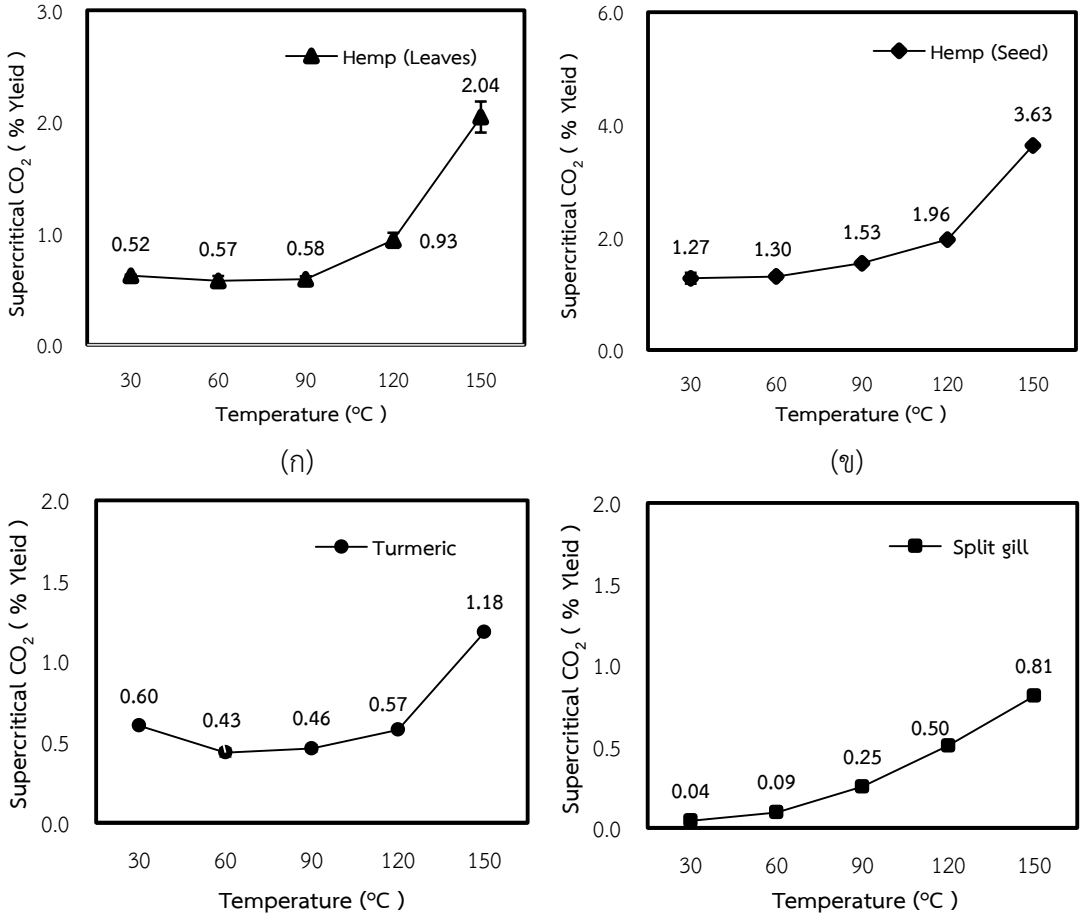
สกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่อุณหภูมิ 30, 60, 90, 120 และ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 74 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที พบว่า ลักษณะตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงมีสีเขียวอ่อน เมล็ดกัญชงมีสีเขียวเข้ม ขมิ้นชันสีเหลืองปนน้ำตาล และเห็ดแครงมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 21) อุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสารสกัด อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นปริมาณสารสกัดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 22) สารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.62$\pm$0.01, 1.27$\pm$0.09, 0.60$\pm$0.00 และ 0.04$\pm$0.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการสกัดเท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อปริมาณสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงสูงขึ้นมีค่าเท่ากับ 2.04$\pm$0.14, 3.63$\pm$0.01, 1.18$\pm$0.01 และ 0.81$\pm$0.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ความร้อนเพิ่มอัตราการแพร่กระจายของตัวทำละลายสูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้น ปริมาณสารสกัดที่ได้เพิ่มขึ้น (Milovanovic *et al.*,2020)



(ก) (ข)

(ค) (ง)

ภาพที่ 21 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ 22 สารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) อุณหภูมิ 30, 60, 90, 120, 150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดที่อุณหภูมิ 30, 60, 90, 120 และ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 74 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชันเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลง ตรงกันข้ามกับสารสกัดเห็ดแครง กล่าวคืออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้นสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นผลการทดลองตามตารางที่ 7 ผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่อุณหภูมิ 30, 60, 90, 120 และ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 74 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดเมล็ดกัญชงและขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 61.08$\pm$0.51, 22.05$\pm$0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดใบกัญชงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.13$\pm$0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเห็ดแครงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส มีค่า IC_{50} เท่ากับ 68.93$\pm$0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง (ตารางที่ 7) แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัด สอดคล้องกับรายงานของ Rodríguez-Seoane *et al*., (2019) สกัดเห็ดนางรมหลวง ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นเลือกสารสกัดใบกัญชงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณสารแคนบิไดออล (CBD) พบว่าใบกัญชงมีปริมาณมากกว่าในเมล็ดกัญชง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.22 และในเมล็ดกัญชงมีค่าเท่ากับ 0.120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เพราะเมล็ดกัญชงองค์ประกอบส่วนใหญ่คือไขมันน้ำมัน และเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เลือกสารสกัดขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมิน พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.058 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลือกสารสกัดจากเห็ดแครงที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนที่เป็นสารสำคัญในเห็ดแครง พบว่า มีปริมาณเท่ากับ 3.97 มิลลิกรัมต่อกรัม และเลือกอุณหภูมิดังกล่าวที่เหมาะสมต่อการสกัดตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง อุณหภูมิ 30-150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Sample	Temperature (C°)	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Flavonoid content (mg QAE/g extract)	IC_{50} (mg/ml)		FRAP (mg $FeSO_4$/g extract)
				DPPH	ABTS	
Hemp (Leaves)	30	156.32±3.57^{b}	30.67±0.45^{b}	1.59±0.07^{c}	0.28±0.01^{e}	542.33±2.54^{b}
	60	171.40±5.25^{a}	36.44±7.29^{a}	1.13±0.05^{d}	0.19±0.03^{d}	685.73±6.09^{a}
	90	148.12±2.79^{c}	30.23±0.40^{b}	2.90±0.06^{b}	0.34±0.07^{c}	535.38±1.27^{b}
	120	139.39±4.49^{d}	28.85±1.21^{b}	3.68±0.07^{a}	0.64±0.01^{b}	487.47±3.36^{c}
	150	122.46±4.84^{e}	26.04±1.06c	3.77±0.07^{a}	0.96±0.05^{a}	422.19±2.88^{d}
Hemp (Seed)	30	72.98±1.28^{a}	21.77±0.75^{a}	61.08±0.51^{e}	16.89±2.15^{d}	76.70±4.81^{a}
	60	70.07±3.33^{a}	19.89±0.40^{b}	70.20±0.21^{d}	34.00±0.17^{c}	71.15±4.16^{a}
	90	65.58±1.28^{b}	16.82±0.40^{c}	74.45±0.40^{c}	39.25±0.57^{b}	57.26±3.75^{b}
	120	62.14±3.33^{b}	12.50±0.50^{d}	80.76±0.52^{b}	58.72±0.32^{a}	36.77±5.83^{c}
	150	50.76±4.20^{c}	12.13±0.15^{d}	122.59±0.68^{a}	60.33±0.42^{a}	32.95±5.42^{c}
Turmeric	30	62.93±1.92^{a}	35.22±0.66^{a}	22.05±0.05^{d}	18.40±0.11^{d}	139.90±0.83^{a}
	60	60.82±1.11^{d}	32.33+1.28^{a}	22.47+0.16^{d}	18.61±0.14^{cd}	143.02±5.83^{a}
	90	57.38±2.31^{d}	19.61±5.56^{bc}	30.47±0.29^{b}	22.44±0.12^{b}	101.35±2.20^{b}
	120	54.04±1.28^{b}	19.61+1.44^{bc}	32.23±0.55^{c}	24.06±0.25^{a}	68.72±4.58^{c}
	150	39.39±2.30^{c}	11.36±3.10^{c}	34.81±094^{a}	24.41±0.50^{a}	57.95±3.15^{d}
Split gill	30	25.37±1.28^{b}	10.68±0.99^{c}	157.23±4.51^{a}	63.21±0.76^{a}	18.37±0.48^{d}
	60	26.16±3.57^{b}	10.81±0.15^{c}	92.21±0.63^{b}	46.18±0.46^{b}	18.72±1.92^{d}
	90	30.13±2.79^{b}	11.94±0.14^{b}	86.01±0.71^{c}	43.94±0.73^{c}	24.62±0.48^{c}
	120	30.39±3.30^{b}	14.82±0.80^{a}	73.14±0.74^{d}	39.62±0.25^{b}	36.77±1.66^{b}
	150	30.92±2.79^{b}	15.32±0.40^{a}	68.93±0.39^{e}	29.26±0.15^{e}	48.23±2.20^{a}

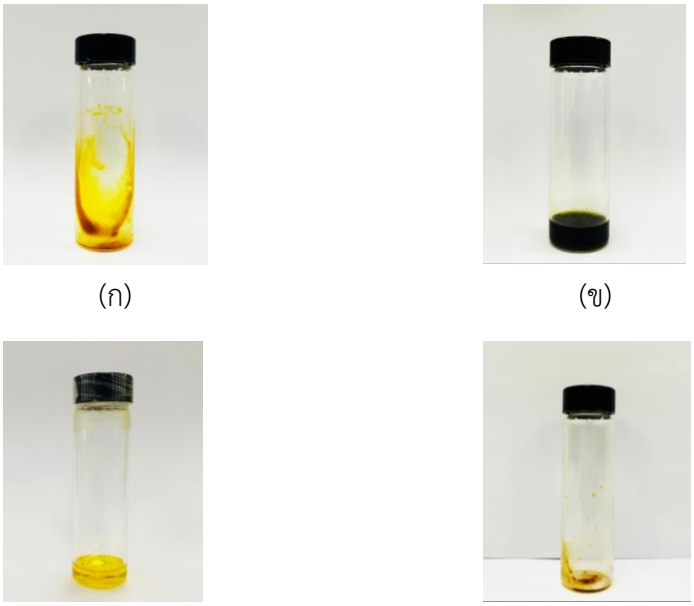
หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-e ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 8 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง อุณหภูมิ 30-150 ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Temperature	CBD (mg/g)		Curcumin (mg/L)	**β**-glucans (mg/g)
(C°)	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
30	-	0.120	3.058	-
60	13.227	-	-	-
90	-	-	-	-
120	-	-	-	-
150	-	-	-	3.971

4.3.2 ผลของความดันต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

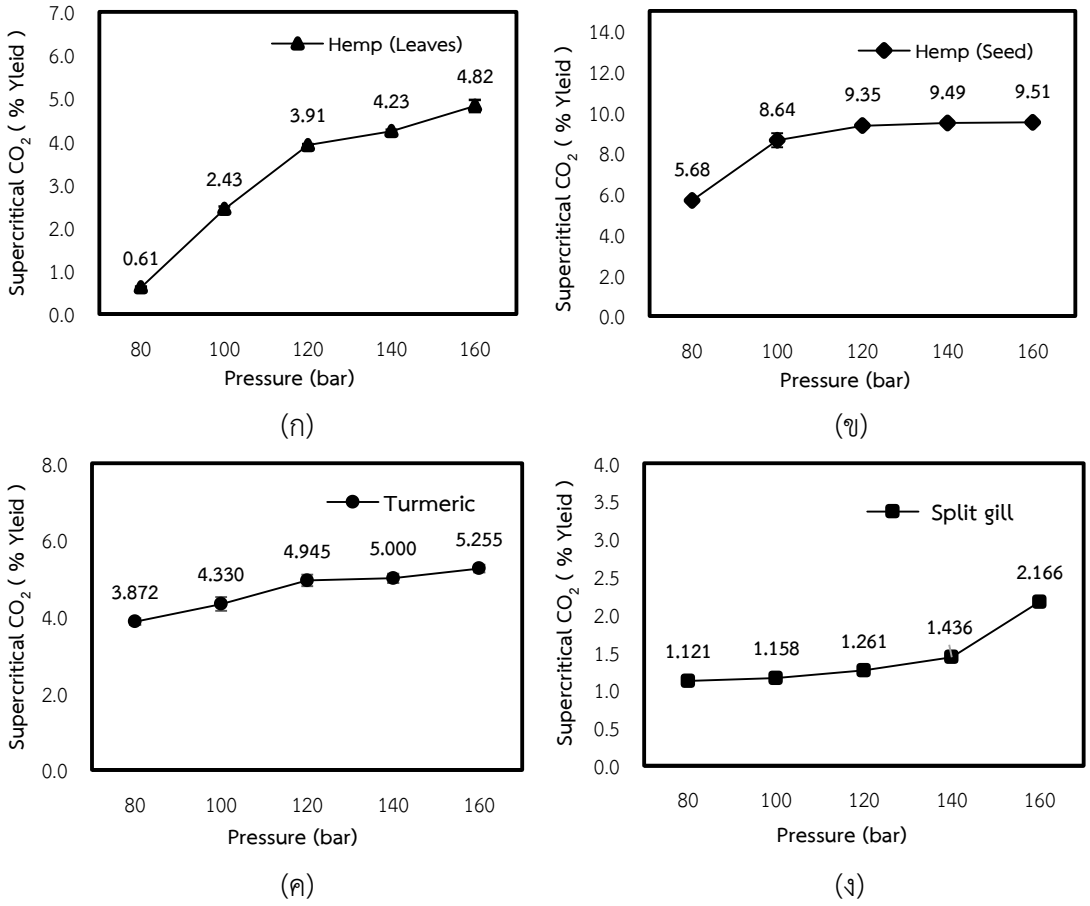
สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.3.1 สกัดใบกัญชง 60 องศาเซลเซียส เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเห็ดแครง 150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่ความดัน 80, 100, 120, 140 และ 160 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที พบว่า ลักษณะตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงมีสีเหลืองปนเขียว เมล็ดกัญชงมีสีเขียวเข้ม ขมิ้นชันสีเหลืองเข้ม และเห็ดแครงสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 23) ความดันมีผลต่อปริมาณสารสกัด เมื่อความดันเพิ่มขึ้นปริมาณสารสกัดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทั้งใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง (ภาพที่ 24) เช่น สารสกัดใบกัญชงที่ความดัน 80, 100, 120, 140 และ 160 บาร์ มีค่าเท่ากับ 0.61$\pm$0.02, 2.43$\pm$0.06, 3.91$\pm$0.03, 4.23$\pm$0.034 และ 4.82$\pm$0.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



(ก) (ข)

(ค) (ง)

ภาพที่ 23 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ความดัน 160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ 24 สารสกัดจากใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ความดัน 80, 100, 120, 140 และ160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่ได้จากการสกัดที่ระดับความดัน 80, 100, 120, 140 และ160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชันเมื่อความดันสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นผลการทดลองตามตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในสารสกัดใบกัญชงมีผลดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างสารสกัด เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง และที่ความดัน 80, 100, 120, 140 และ160 บาร์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.12$\pm$0.05, 1.17$\pm$0.02, 0.91$\pm$0.01, 0.60$\pm$0.05 และ0.23$\pm$0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าความดันของของไหลเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด เนื่องจากความดันช่วยเพิ่มความหนาแน่นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพิ่มความสามารถการละลายของของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Rodríguez-Seoane *et al*., 2019; Koubaa *et al*., 2017) สอดคล้องกับรายงานของ Aladić et al. (2015) สกัดเมล็ดกัญชง ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด อุณหภูมิ 40

องศาเซลเซียส ความดัน 300-400 บาร์ พบปริมาณสารสกัดสารเมล็ดกัญชง และปริมาณโทโคฟีรอล มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเลือกสารสกัดใบกัญชงและเมล็ดกัญชงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง วิเคราะห์ปริมาณสารแคนบิไดออล (CBD) พบว่าใบกัญชงมีปริมาณสาร CBD มากกว่าในเมล็ดกัญชง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 17.02 และ 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 10) เลือกสารสกัดขมิ้นชันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมิน พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.14 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลือกสารสกัดจากเห็ดแครงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน พบว่ามีปริมาณเท่ากับ 11.36 มิลลิกรัมต่อกรัม และเลือกสภาวะอุณหภูมิจากการทดลองที่ 4.3.1 และความดันที่ 160 บาร์ จากการทดลองสกัดตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป 4.3.3

ตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ความดัน 80-160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Sample	Pressure (bar)	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Flavonoid content (mg QAE/g extract)	IC_{50} (mg/ml)		FRAP (mg $FeSO_4$/g extract)
				DPPH	ABTS	
Hemp (Leaves)	80	178.01+3.33^{d}	47.65±1.24^{d}	1.12±0.05^{a}	0.18±0.03^{a}	687.24±3.15^{e}
	100	179.60±1.11^{d}	50.35±1.71^{c}	1.17±0.02^{b}	0.17±0.01^{a}	690.59±1.92^{d}
	120	190.98±0.91^{c}	52.54±1.09^{b}	0.91±0.01^{c}	0.15+0.06^{b}	695.80±1.92^{c}
	140	208.17±1.37^{b}	53.10±0.30^{b}	0.60±0.05^{d}	0.11±0.06^{c}	706.22±2.92^{b}
	160	323.24±1.21^{a}	56.17±0.15^{a}	0.23±0.01^{e}	0.08±0.04^{d}	716.28±0.48^{a}
Hemp (Seed)	80	75.37±1.69^{d}	22.71±0.40^{e}	58.57±0.18^{e}	13.72±0.22^{a}	76.70±1.92^{d}
	100	83.30±1.69^{c}	23.84±0.80^{d}	49.70±0.61^{d}	13.43±0.11^{a}	92.32±5.02^{c}
	120	91.50±1.01^{b}	37.19±0.66^{c}	44.65±0.54^{c}	10.26±0.28^{b}	99.27±2.20^{bc}
	140	119.81±2.79^{a}	43.52±0.30^{b}	23.07±0.27^{b}	5.61±0.17^{c}	105.17±7.56^{ab}
	160	121.40±2.31^{a}	44.71±0.92^{a}	16.27±0.24^{a}	5.17±0.06^{d}	111.77±2.20^{a}
Turmeric	80	62.93±3.84^{e}	46.46±0.66^{e}	22.04±0.70^{a}	17.67±0.23^{a}	150.66±2.67^{d}
	100	81.71±2.31^{d}	48.78±0.66^{d}	16.06±0.32^{b}	9.93±0.13^{b}	157.26±6.78^{d}
	120	87.53±5.87^{c}	52.98±0.54^{c}	12.58±0.48^{c}	8.17+0.12^{c}	180.52±3.81^{c}
	140	94.15±0.60^{b}	61.25±0.30^{b}	8.22+0.41^{d}	7.04+0.08^{d}	226.01±6.25^{b}
	160	114.78±3.39^{a}	65.70±0.75^{a}	6.61±0.08^{e}	3.87±0.06^{e}	257.60±5.83^{a}
Split gill	80	35.95+1.58^{a}	16.45±0.15^{c}	67.74±0.64^{a}	27.31±0.36^{a}	50.66±0.48^{d}
	100	36.21+1.99^{b}	17.26±1.57^{c}	56.75±0.46^{b}	21.33±0.36^{b}	56.56±0.83^{c}
	120	41.24+0.45^{c}	18.58±0.54^{b}	30.31±0.46^{c}	13.12±0.12^{c}	58.30±1.27^{c}
	140	42.03+0.45^{d}	18.70±0.15^{b}	27.67±0.08^{b}	11.47±0.06^{d}	63.85±1.66^{b}
	160	42.56+1.99^{a}	23.90±0.69^{a}	18.35±0.39^{e}	8.86±0.37^{e}	96.15±1.92^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-e ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 10 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง ความดัน 80-160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Pressure (bar)	CBD (mg/g)		Curcumin (mg/L)	**β**-glucans (mg/g)
	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
80	-	-	-	-
100	-	-	-	-
120	-	-	-	-
140	-	-	-	-
160	17.02	0.14	3.14	11.36

4.3.3 ผลของระยะเวลาต่อการสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.3.1 สกัดใบกัญชง 60 องศาเซลเซียส เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเห็ดแครง 150 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบว่า ลักษณะตัวอย่างสารสกัดใบกัญชงมีสีเขียวเหลือง เมล็ดกัญชงสีเขียวเข้ม ขมิ้นชันสีเหลืองเข้ม และเห็ดแครงสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 25) ระยะเวลามีผลต่อปริมาณสารสกัด ระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณสารสกัดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 26) เช่น ตัวอย่างสารสกัดเมล็ดกัญชงมีปริมาณมากเมื่อเทียบกับตัวอย่างใบกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ซึ่งพบว่าที่ระยะเวลา 30, 60, 90, 120 นาที มีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 3.51$\pm$0.09, 9.51+0.10, 9.58$\pm$0.38, 1.85$\pm$0.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

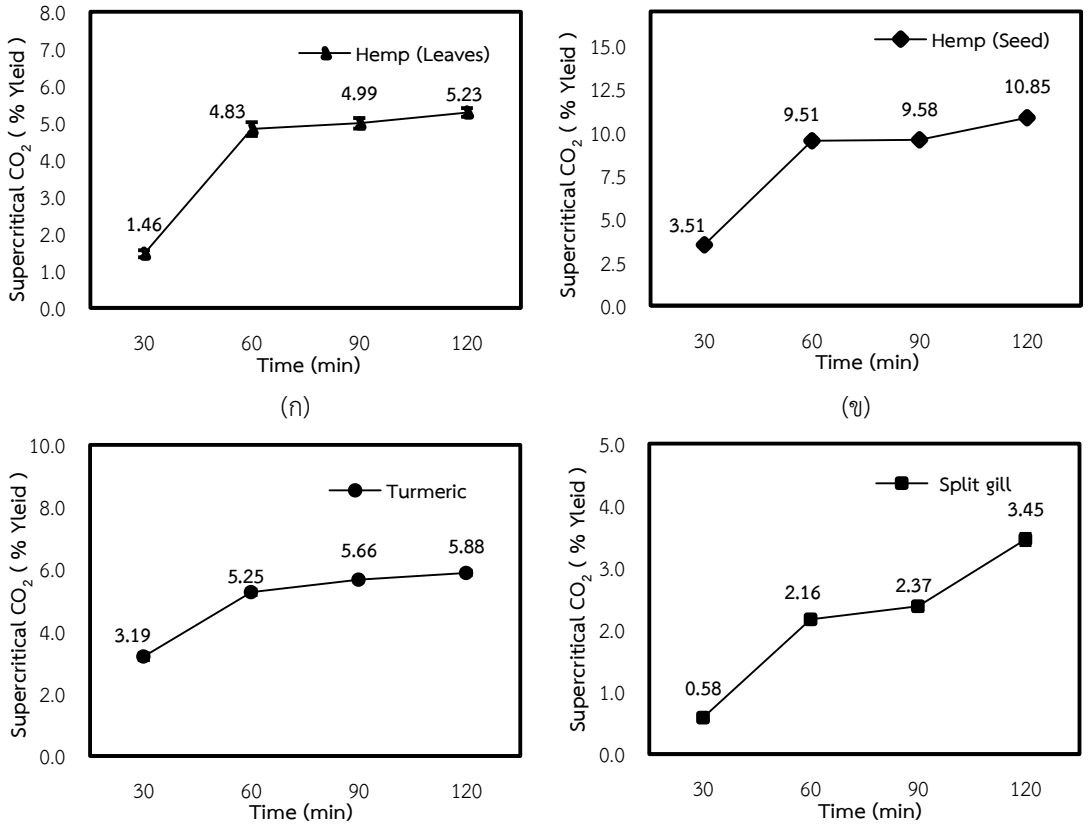
(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 25 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ระยะเวลา 120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ 26 สารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ระยะเวลา 30, 60, 90, 120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ที่ระยะเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดใบกัญชงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการสกัด มีปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 323.77$\pm$1.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 56.17$\pm$0.57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.23$\pm$0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการสกัดนานมากกว่า 60 นาที (ตารางที่ 11) สารสกัดเมล็ดกัญชง และขมิ้นชันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น ส่วนสารสกัดเห็ดแครงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเป็นลักษณะของกราฟระฆังคว่ำ กล่าวคือเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 30-60 นาที และหลังจากนั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะมีแนวโน้มลดต่ำลง (ตารางที่ 11) สอดคล้องกับรายงานของ Chassagnez-Méndez *et al*., (2000) สกัดขมิ้นชันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด ระยะเวลา 30-110 นาที

พบเคอร์คูมินอยด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น มีค่าเท่ากับ 0.1-3.30 เปอร์เซ็นต์ เลือกสารสกัดใบกัญชงที่ระยะเวลา 60 นาที เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณสาร CBD พบว่าใบกัญชงมีปริมาณมากกว่าในเมล็ดกัญชง มีค่าเท่ากับ 17.22 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12) เลือกสารสกัดขมิ้นชันที่ระยะเวลา 120 นาที วิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมิน พบว่ามีปริมาณ เท่ากับ 4.65 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลือกสารสกัดจากเห็ดแครงที่ระยะเวลา 60 นาที วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน พบว่า มีปริมาณเท่ากับ 13.21 มิลลิกรัมต่อกรัม และเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงสกัดตัวอย่างที่ปริมาณความชื้นต่างกันในขั้นตอนถัดไป (4.3.4)

ตารางที่ 11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ระยะเวลา 30-120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Sample	Time (min)	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Flavonoid content (mg QAE/g extract)	IC_{50} (mg/ml)		FRAP (mg $FeSO_4$/g extract)
				DPPH	ABTS	
Hemp (Leaves)	30	192.57±0.91[b]	54.17±0.67[b]	0.28±0.01[b]	0.21±0.04[c]	567.33±2.37[b]
	60	323.77±1.37[a]	56.17±0.57[a]	0.23±0.07[c]	0.08±0.04[d]	716.33±1.73[a]
	90	187.63±1.37[c]	50.16±0.47[c]	0.24±0.04[c]	0.28±0.01[b]	561.08±1.73[c]
	120	184.63±0.45[d]	43.08±0.37[d]	0.70±0.02[a]	0.76±0.03[a]	530.17±3.36[d]
Hemp (Seed)	30	78.28±2.79[d]	21.02±0.54[d]	29.15±0.56[a]	23.92±0.62[a]	23.58±1.73[c]
	60	121.41±2.79[c]	44.77±0.69[c]	16.25±0.37[b]	5.18±0.13[b]	112.12±0.48[b]
	90	131.45±4.20[b]	64.07±0.66[b]	8.65±0.56[c]	3.41±0.28[c]	115.59±5.42[b]
	120	147.32±2.79[a]	76.77±0.39[a]	3.53±0.12[d]	1.94+0.22[d]	128.44±2.20[a]
Turmeric	30	24.84±1.11[d]	6.61±0.78[d]	12.97±0.17[a]	11.23±0.03[a]	200.31±4.63[c]
	60	114.52±2.22[c]	65.70±0.75[c]	6.57±0.13[b]	3.80±0.06[b]	257.65±3.04[b]
	90	134.89±2.31[b]	109.87±1.06[b]	3.08±0.09[c]	3.64±0.11[b]	269.76±7.87[b]
	120	155.00±2.31[a]	114.70±0.66[a]	1.34±0.49[d]	1.55±0.07[c]	322.19±2.50[a]
Split gill	30	40.18±1.65[b]	22.09±0.45[a]	17.95±0.58[c]	9.37±1.01[c]	94.41±0.96[b]
	60	42.56±1.21[a]	23.94±0.54[a]	18.35±0.36[d]	8.82±0.05[d]	96.16±1.73[a]
	90	32.51±1.21[c]	16.07±0.40[b]	28.03±0.01[b]	26.32±0.45[b]	36.08±0.96[c]
	120	19.02±0.45[d]	10.18±0.26[c]	33.96+0.95[a]	38.14±0.51[a]	15.94+0.83[d]

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 12 ปริมาณสารแคนบิไดออลของกัญชง เคอร์คูมินของขมิ้นชัน และเบต้ากลูแคนของเห็ดแครง ระยะเวลา 30-120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Time	CBD (mg/g)		Curcumin (mg/L)	**β**-glucans (mg/g)
(min)	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
30	-	-	-	-
60	17.22	-	-	13.21
90	-	-	-	-
120	-	0.20	4.65	-

4.3.4 ผลของความชื้นต่อการสกัดตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

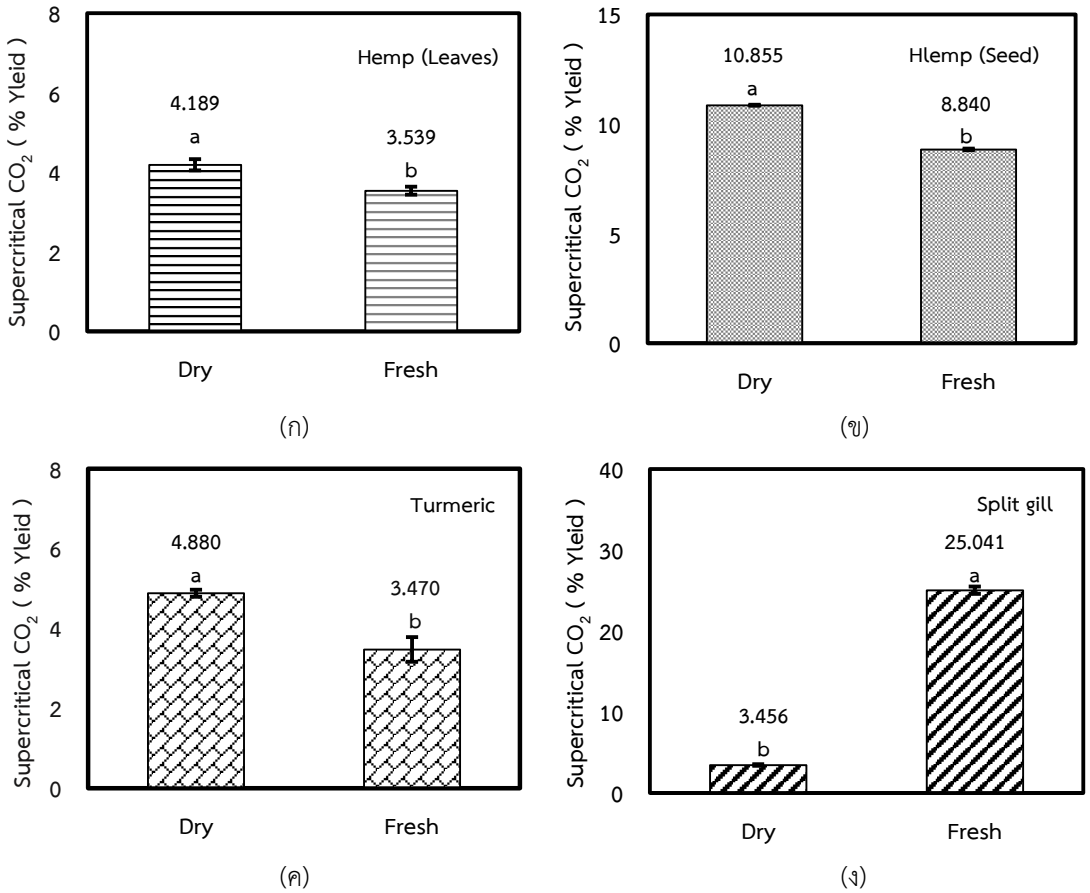
เก็บตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 33.72$\pm$0.24, 7.42$\pm$0.09, 34.06$\pm$0.63 และ46.11$\pm$0.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อบตัวอย่างให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน ให้ตัวอย่างมีความชื้น 10±1 เปอร์เซ็นต์ นำมาสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดตามสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.3.4 เปรียบเทียบกับตัวอย่างใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงที่ความชื้นเริ่มต้น พบว่าสารสกัดใบกัญชงมีสีเขียวเข้ม เมล็ดกัญชงมีสีเขียวเข้ม ขมิ้นชันสีเหลืองปนส้ม และเห็ดแครงสีน้ำตาล (ภาพที่ 27) ความชื้นมีผลต่อปริมาณสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชัน ปริมาณความชื้นสูง (สด) ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าตัวอย่างที่ความชื้น 10±1 เปอร์เซ็นต์ (แห้ง) (ภาพที่ 28) สารสกัดขมิ้นชันสดและแห้งมีปริมาณเท่ากับ 3.17$\pm$0.30 และ 4.88$\pm$0.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตรงกันข้ามกับสารสกัดเห็ดแครงความชื้นที่อยู่ในตัวอย่างสดมีปริมาณสารสกัดมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งมีค่าเท่ากับ 25.04$\pm$0.45 และ 3.45$\pm$0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากปริมาณน้ำในตัวอย่างเห็ดแครงสดเพิ่มความสามารถการมีขั้ว ทำให้สารกลุ่มเบต้ากลูแคนละลายในตัวทำละลายเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดได้ดี

(ก)

(ข)

(ค) (ง)

ภาพที่ 27 ลักษณะสารสกัดใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ตัวอย่างสด ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ 28 สารสกัดจากใบกัญชง (ก), เมล็ดกัญชง (ข), ขมิ้นชัน (ค), เห็ดแครง (ง) ตัวอย่างสด และแห้ง ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชงที่ ขมิ้นชัน และเห็ดแครงของตัวอย่างสดและแห้ง ความชื้น 10±1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชันตัวอย่างสดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าตัวอย่างแห้ง ตรงกันข้ามกับสารสกัดเห็ดแครง ตัวอย่างสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวอย่างแห้ง ผลการทดลองตามตารางที่ 13 สารสกัดเห็ดแครงสดและแห้งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.94$\pm$0.77 และ18.35$\pm$0.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากปริมาณน้ำในตัวอย่างเพิ่มความมีขั้วให้กับของไหลวิกฤติยิ่งยวดทำให้มีประสิทธิภาพการสกัดสารที่มีขั้วสูงได้มาก เลือกตัวอย่างที่เหมาะสมวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas chromatography (GC) ในการทดลองที่ 4.4

ตารางที่ 13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดพืชสด แห้งของกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Sample	moisture	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Flavonoid content (mg QAE/g extract)	IC_{50} (mg/ml)		FRAP (mg $FeSO_4$/g extract)
				DPPH	ABTS	
Hemp (Leaves)	fresh	219.59±1.28[b]	53.42±0.78[b]	1.05±0.00[a]	0.31±0.08[a]	381.56±0.83[b]
	dry	232.77±1.37[a]	56.17±0.57[a]	0.23±0.07[b]	0.08±0.04[b]	716.33±1.73[a]
Hemp (Seed)	fresh	154.21+4.62[a]	79.04±0.77[a]	2.56±0.48[b]	0.71±0.03[a]	140.94±2.78[a]
	dry	147.32±2.79[b]	76.77±0.39[b]	3.53±0.12[a]	1.94±0.22[a]	128.44±2.20[b]
Turmeric	fresh	43.62±3.57[b]	25.35±0.99[b]	10.52±0.22[a]	13.57±0.09[a]	79.13±5.42[b]
	dry	155.00±2.31[a]	114.70±0.66[a]	1.34±0.49[b]	1.55±0.07[b]	322.19±2.50[a]
Split gill	fresh	58.70±1.99[a]	38.70±0.39[b]	8.94±0.77[b]	7.26±0.23[b]	120.80±0.96[a]
	dry	42.56±1.21[b]	23.94±0.54[a]	18.35±0.36[a]	8.82±0.05[a]	96.16±1.73[b]

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-b ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4 องค์ประกอบกรดไขมันของสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

นำตัวอย่างของสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง ขมิ้นชัน เห็ดแครง ที่สกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดจากการทดลองที่ 4.3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas chromatography (GC) ผลการทดลองตามตารางที่ 14 พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดียว (Monounsaturated fatty acid) มากที่สุด และ มีปริมาณ 64.14 เปอร์เซ็นต์ ใบกัญชง เมล็ดกัญชงสด เมล็ดกัญชงแห้งเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากที่สุดมีปริมาณเท่ากับ 60.13, 72.46 และ72.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใบกัญชงมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Saturated fatty acid) สูงกว่าเมล็ดกัญชงสดและแห้งมีค่าเท่ากับ 33.20, 12.59 และ 12.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14) สอดคล้องกับรายงานของ Aladic *et al*., (2015) สกัดน้ำมันเมล็ดกัญชงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่วิกฤตยิ่งยวด พบองค์ประกอบของกรดไขมันหลัก Linoleic acid, Palmitic acid, Oleic acid เท่ากับ 58.18, 6.94, 13.15 เปอร์เซ็นต์ ใบกัญชงมีปริมาณแอลฟาไลโนเลนิก (Alpha-Linolenic acid) หรือโอเมก้า 3 มากกว่าเมล็ดกัญชงสด เมล็ดกัญชงแห้ง และขมิ้นชัน มีค่าเท่ากับ 42.50, 16.36, 16.62 และ 0.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Alpha-Linolenic acid เป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็นในมนุษย์ที่ร่างกายสร้างเองไม่ได้ (Aladic *et al*., 2015) เลือกสารสกัดใบกัญชง 60 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที เมล็ดกัญชง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 120 นาที ขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 120 นาที ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดและเห็ดแครง 121 องศาเซลเซียส 15 psi ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่ม ร่วมกับห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ โดยใช้สูตรพื้นฐานของสถานประกอบการในการทดลองที่ 4.5

ตารางที่ 14 องค์ประกอบของกรดไขมันจากสารสกัดใบกัญชง เมล็ดกัญชง และขมิ้นชันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Fatty acid (%)	Result			
	Hemp Leaves	Hemp Seed (fresh)	Hemp Seed (dry)	Turmeric
Saturated fatty acid				
- Undecanoic acid (C11:0)	-	-	-	0.18
- Lauric acid (C12:0)	-	-	-	0.08
- Myristic acid (C14:0)	4.83	0.04	0.04	-
- Palmitic acid (C16:0)	21.13	7.57	7.51	0.88
- Heptadecanoic acid (C17:0)	3.17	0.05	0.05	-
- Stearic acid (C18:0)	4.07	3.39	3.32	0.12
- Arachidic acid (C20:0)	-	0.98	0.96	0.06
- Behenic acid (C22:0)	-	0.39	0.37	0.17
- Lignoceric acid (C24:0)	-	0.17	0.17	-
Total Saturated fatty acid	**33.20**	**12.59**	**12.42**	**1.49**

Fatty acid (%)	Result			
	Hemp Leaves	Hemp Seed (fresh)	Hemp Seed (dry)	Turmeric
Monounsaturated fatty acid				
- Palmitoleic acid (C16:1)	-	0.11	0.11	-
- cis-10-Heptadecenoic acid (17:1)	-	-	-	51.45
- Oleic acid (C20:1n9)	6.67	14.43	14.23	0.57
- cis-11-Eicosenoic acid (C20:1n9)	-	0.36	0.32	12.12
Total Monounsaturated fatty acid	**6.67**	**14.90**	**14.67**	**64.14**
Polyunsaturated fatty acid				
- Linoleic acid (C18:2n6c)	17.65	55.38	55.55	-
- Gamma-Linolenic acid (C18:13n6)	-	0.66	0.64	-
- Alpha-Linolenic acid (C18:3n3)	42.50	16.36	16.62	0.42
- cis-11, 14-Eicosadienoic acid (C20:2n6)	-	0.06	0.05	-
Total Polyunsaturated fatty acid	**60.13**	**72.46**	**72.86**	**0.42**
Trans fatty acid				
- Linolelaidic acid (C18:2n6t)	-	-	-	33.76
- cis-9,trans-12-Octadecadienoic acid (C18:2c9,t12)	-	0.05	0.05	-
- Tran-9,cis-12,trans-15-Octadecatrienoic acid (C18:3t9,c12t15)	-	-	-	0.19
Total Trans fatty acid	**-**	**0.05**	**0.05**	**33.95**

4.5 ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง

พัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสูตรพื้นฐานของห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ โดยการเติมสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ปรับสัดส่วน และพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มทั้งหมด 5 สูตร ตามความเห็นของฝ่ายพัฒนาผลิตภัณฑ์ (RD) และเจ้าของสถานประกอบการ ตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ลักษณะทางกายภาพผลิตภัณฑ์เซรั่ม 5 สูตร มีสีขาวใส และสีเหลืองเข้มตามปริมาณการเติมสารสกัดขมิ้นชัน และสารสกัดใบกัญชง เนื้อผลิตภัณฑ์ไม่แยกชั้น (ภาพที่ 29) ค่าสี L* อยู่ในช่วง 36-39 ค่าสี a* อยู่ในช่วง -4.19-(-4.17) และ ค่าสี b* อยู่ในช่วง -3.50-(-6.33) และความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.89-5.80 (ตารางที่ 15)

1 2 3 4 5

ภาพที่ 29 ผลิตภัณฑ์เซรั่ม 5 สูตร

ตารางที่ 15 คุณภาพทางกายภาพ และเคมีผลิตภัณฑ์เซรั่ม

สูตร	ค่าสี			ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)
	L^*	a^*	b^*	
1	39.24±0.90^{a}	-4.19±0.07^{e}	-4.12±0.15^{d}	5.75±0.04^{b}
2	38.18±0.90^{b}	-4.35±0.21^{d}	-5.54±0.66^{b}	5.74±0.02^{b}
3	38.68±0.51^{b}	-4.57±0.21^{b}	-6.33±0.31^{a}	5.80±0.01^{a}
4	36.10±0.41^{c}	-4.44±0.43^{c}	-3.50±0.52^{e}	5.71±0.03^{c}
5	38.81±0.99^{b}	-4.87±0.56^{a}	-4.76±0.83^{c}	5.69±0.03^{d}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-e ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ทดสอบคุณภาพการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความข้น หนืด เนื้อผลิตภัณฑ์ซึมซาบเร็วเกลี่ยหรือ ทาง่าย และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ใช้สเกลวัดระดับความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ในระดับห้องปฏิบัติการ เป็นชาย 1 คน หญิง 29 คน เป็นทีมวิจัยและผู้ประกอบการห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักฐ์ จำนวน 9 คน บุคลากร และนักวิทยาศาสตร์หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี จำนวน 21 คน เซรั่ม ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงทั้ง 5 สูตร ซึ่งสูตรที่มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุด คือ สูตรที่ 1 มีคะแนนเฉลี่ยความชอบรวมเท่ากับ 8.22±0.07 (ตารางที่ 16) ดังนั้น เลือกสารเซรั่มสูตรที่ 1 ประกอบด้วย aqua, Butyleneglycol, Glycerin Propanediol, Disodium, 1,8-Hexanediol, Polysorsoroate, Acrylates/c10, Algin, Biosaccharid-4, Aloe Barbadevsis, Madecassoside, Tocopheryl Acetate, Niacinamin Alpha-Glucan, Split Gill Extract, Turmeric Extract, Hemp Leaf Extract, Hemp Seed Extract, Phenoxyethanlo, Chlorophenesin, Triethanolamine, BHT, Ethylhexylglycein วิเคราะห์ความปลอดภัยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 4470/2555 และ

มอก. เอส 15-2561 พบว่าผลิตภัณฑ์เป็นไปตามข้อกำหนด ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัย (ตารางที่ 17) และได้รับการรับรองเลขจดแจ้งจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) 13-1-6400030787 พัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ และขยายผลทดสอบตลาดจำนวนผู้บริโภค 300 ราย

ตารางที่ 16 คะแนนการยอมรับผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เซรั่ม 5 สูตร

คุณลักษณะ	**สูตรผลิตภัณฑ์เซรั่ม**				
	สูตร 1	**สูตร 2**	**สูตร 3**	**สูตร 4**	**สูตร 5**
ลักษณะปรากฏ	8.02±0.41^{d}	7.14±0.21^{e}	8.21±0.52^{c}	8.34±0.76^{b}	8.54±0.33^{a}
สี	8.32±0.56^{a}	8.28±0.66^{b}	8.02±0.21^{d}	7.87±0.11^{e}	8.12±0.17^{c}
กลิ่น	8.11±0.31^{c}	8.16±0.13^{b}	8.23±0.51^{a}	8.04±0.83^{d}	8.12±0.99^{c}
ความข้น หนืด	8.08±0.83^{a}	7.14±0.26^{c}	7.06±0.38^{d}	8.08±0.41^{a}	7.17±0.42^{b}
เนื้อผลิตภัณฑ์ซึมซาบเร็ว	8.21±0.11^{d}	8.23±0.08^{c}	8.44±1.02^{b}	7.14±0.42^{e}	8.74±0.34^{a}
เกลี่ย หรือ ทาง่าย	8.01±0.90^{c}	7.21±0.10^{e}	7.41±0.87^{d}	8.16±0.66^{b}	8.33±0.04^{a}
ความชอบโดยรวม	8.22±0.07^{a}	7.12±0.22^{c}	8.10±0.13^{b}	7.14±0.08^{d}	7.16±0.34^{e}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 17 คุณภาพทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์เซรั่ม

เชื้อจุลินทรย์	**ผลิตภัณฑ์เซรั่ม**
Candida albicans (CFU/g)	ไม่พบ
Clostridium spp. (CFU/g)	ไม่พบ
Pseudomonas aeruginosa (CFU/g)	ไม่พบ
Staphylococcus aureus (CFU/g)	ไม่พบ
Total Aerobic Microbial Count (CFU/g)	<10
Total Combined Yeasts and Moulds Count (CFU/g)	<10

ออกแบบบรรจุภัณฑ์ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง เหมาะสมต่อการจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ร่วมกับผู้ประกอบการห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ และปรับปรุงแก้ไขรายละเอียดตามความเห็นชอบของทีมวิจัยและผู้ประกอบการ (ภาพที่ 30)

(ก)

(ข)

ภาพที่ 30 ฉลากสำหรับติดขวดเซรั่ม (ก) แบบบรรจุภัณฑ์กล่องบรรจุเซรั่ม (ข)

กิจกรรมขยายผลทดสอบตลาดจำนวนผู้บริโภค 300 ราย และส่งเสริมการขายผลิตภัณฑ์เซรั่ม ในงาน Industrial Fair2022 ณ ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัลพลาซ่า สุราษฎร์ธานี ในวันที่ 24 สิงหาคม 2565 ถึง 29 สิงหาคม 2565 (ภาพที่ 31) เปิดให้ผู้บริโภคได้เล่นกิจกรรมส่งเสริมการขาย แจกของที่ระลึก และทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ตอบแบบประเมินใช้สเกลวัดระดับความชอบ 9 ระดับ แบบ 9-Point Hedonic Scale โดยทดสอบผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายที่ตอบแบบสอบถามมี 3 ช่วง จำนวน 300 ราย ผู้ชาย 120 คน ผู้หญิง 180 คน พบว่า อายุ 20-30 ปี จำนวน 100 คน อายุ 31-40 ปี จำนวน 120 และมากกว่า 40 ปี จำนวน 80 คน มีรายได้อยู่ในช่วง 10,000-50,000 บาท ทุกคนให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง มีระดับคะแนนความชอบโดยรวม เท่ากับ 8.32 คะแนน ตารางที่ 16 รูปแบบบรรจุภัณฑ์เหมาะสม และให้การยอมรับราคาการจัดจำหน่าย 130-250 บาทต่อขนาด 30 มิลลิลิตร

ตารางที่ 18 คะแนนการยอมรับผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เซรั่มเพื่อจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

คุณลักษณะ	ผลิตภัณฑ์เซรั่ม
ลักษณะปรากฏ	8.42±0.23
สี	8.23±0.12
กลิ่น	7.47±0.07
ความข้น หนืด	8.13±0.04
เนื้อผลิตภัณฑ์ซึมซาบเร็ว	8.54±0.10
เกลี่ย หรือ ทาง่าย	8.11±0.03
ความชอบโดยรวม	8.32±0.04

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภาพที่ 31 กิจกรรมทดสอบผู้บริโภคในเชิงพาณิชย์ผลิตภัณฑ์เซรั่มในงาน Industrial Fair 2022 ณ ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัลพลาซ่า สุราษฎร์ธานี

4.6 การศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

ผลการวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์การผลิตเซรั่มจากสารสกัดกัญชงขมิ้นชัน และเห็ดแครงในเชิงพาณิชย์ คำนวณต้นทุนการผลิตเป็นจำนวนเงิน (บาท) ต่อผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 19 ต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์เซรั่มบรรจุขวดขนาด 30 มิลลิลิตร มีต้นทุนวัตถุดิบผลิตผลิตภัณฑ์เซรั่มต่อขวด 26.53 บาท บรรจุภัณฑ์ (กล่อง ขวด และฉลาก) ราคา 30 บาท

ค่าน้ำ 0.50 บาท ค่าไฟ 0.50 บาท ค่าแรง 0.50 บาท ค่าขนส่ง 0.50 บาท ค่าบริหารจัดการ 1.50 บาท รวมต้นทุนการผลิตโดยประมาณเท่ากับ 60.03 บาท ทางบริษัทกำหนดราคาขายจากผลการสำรวจและการยอมรับของผู้บริโภคอยู่ที่ 250 บาทต่อขวด จะได้กำไร 189.97 บาทต่อขวด

ตารางที่ 19 ต้นทุนการผลิตเซรั่มขนาด 30 มิลลิลิตร

รายการสาร	**ผลิตภัณฑ์เซรั่ม**	
	ปริมาณ (มิลลิกรัม)	**ราคา (บาท)**
aqua	89.85	0.83
Butyleneglycol	1.200	0.61
Glycerin	0.800	1.43
Propanediol	0.170	0.07
Disodium	0.100	0.03
1,8-Hexanediol	0.040	2.37
Polysorsoroate	1.000	0.21
Acrylates/c10	0.450	2.92
Algin	0.040	0.15
Biosaccharid-4	1.290	2.76
Aloe Barbadevsis	0.990	3.40
Madecassoside	0.080	2.35
Tocopheryl Acetate	0.050	0.05
Niacinamin	2.000	1.26
Alpha-Glucan	1.590	1.39
Split Gill Extract	0.200	1.80
Turmeric Extract	0.200	0.52
Hemp Leaf Extract	0.200	1.60
Hemp Seed Extract	0.200	2.06
Phenoxyethanlo	0.735	0.24
Chlorophenesin	0.200	0.41
Triethanolamine	0.100	0.01
BHT	0.004	0.01
Ethylhexylglycein	0.0005	0.05
บรรจุภัณฑ์ขวด กล่อง และฉลาก	-	30.00
บริหารจัดการ	-	1.50
อื่น ๆ (เช่น ค่าแรง ค่าน้ำ ค่าไฟ ฯ)	-	2.00
รวม	**30**	**26.53**

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ และลิพิดด้วยเทคนิคความดันสูง คือ เทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical water) และคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Carbon Dioxide; $SCCO_2$) และพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง โดยศึกษาการสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง เพื่อจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ พบว่า

1. การสกัดด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวดอุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi ระยะเวลา 60 นาที สารสกัดเห็ดแครงมีปริมาณสารสกัดสูงสุดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 35.63$\pm$0.52 เปอร์เซ็นต์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.47$\pm$0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เหมาะสมต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่ม

2. การสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบว่า ใบกัญชงที่ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ ระยะเวลา 60 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 323.77$\pm$1.37 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.23$\pm$0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมล็ดกัญชงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 147.32$\pm$2.79 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.53$\pm$0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขมิ้นชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดัน 160 บาร์ 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 155.00$\pm$2.31 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.34$\pm$0.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เหมาะสมต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่ม

3. สารสกัดจากขมิ้นชันเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดียวมากที่สุดมีปริมาณ 64.14 เปอร์เซ็นต์ ใบกัญชง เมล็ดกัญชงสด เมล็ดกัญชงแห้งเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากที่สุดมีปริมาณเท่ากับ 60.13, 72.46 และ72.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสูตรพื้นฐานของห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล เจเคพี คอนซูเมอร์ โปรดักส์ โดยใช้สารสกัดที่เหมาะสมกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง จำนวน 5 สูตร ทดสอบผู้บริโภคจำนวน 30 คน เป็นผู้มีประสบการณ์ของฝ่ายพัฒนาผลิตภัณฑ์ (RD) นักศึกษา และผู้ช่วยวิจัย ผู้บริโภคให้การยอมรับ สูตรที่ 1 ทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อรา น้อยกว่า 10 จำนวนโคโลนีต่อกรัม และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ขยายผลในเชิงพาณิชย์ทดสอบผู้บริโภคในงาน Industrial Fair 2022 ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัลพลาซ่า สุราษฎร์ธานี กลุ่มเป้าหมาย 300 ราย ทุกคนให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ มีระดับคะแนนความชอบโดยรวม เท่ากับ 8.32 คะแนน และราคาขายผลิตภัณฑ์ 250 บาทต่อผลิตภัณฑ์ขนาด 30 มิลลิลิตร

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. วิทยานิพนธ์นี้อยู่ภายใต้โครงการเมืองสมุนไพร จังหวัดสุราษฎร์ธานี และมีสถานประกอบการเข้าร่วมวิจัยเพื่อต่อยอดในเชิงพาณิชย์ ในอนาคตควรศึกษาเพิ่มเติมขยายผลสารสกัดจากสมุนไพรอื่นๆ ที่หาง่ายในท้องถิ่น เช่น ขลู่ กฤษณา และพัฒนาต่อยอดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ให้หลากหลาย

2. ในอนาคตควรศึกษาองค์ประกอบสำคัญ และฤทธิ์ต้านการอักเสบของเซลล์เพื่อพัฒนาและต่อยอดสมุนไพรไทยในเชิงแพทย์แผนไทย

บรรณานุกรม

กรกนก อิงคนินันท์ ปณัฐพงศ์ บุญนวล สุดาพร วงศ์วาร อรระวี คงสมบัติ พรนรินทร์ เทพาวราพฤกษ์ เนติ วรนุช เพ็ญศรี เจริญสิทธิ์ วุฒิชัย วิสุทธิพรต มนุพัศ โลหิตนาวี และ พีรศักดิ์ ฉายประสาท .2563. ศึกษาปริมาณสารแคนนาบินอยด์ในตัวอย่างวัตถุดิบใบกัญชง วัตถุดิบดอกกัญชง และสารสกัดช่อดอกกัญชงที่สกัดด้วยเอทอนอลอุณหภูมิต่ำ (ร้อยละผลผลิต 7.98%) ของกัญชงพันธุ์ RPF3. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การวิจัยและพัฒนากัญชงเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์.โรงพยาบาลเปาโล พหลโยธิน

กมลพรรณ แสงมหาชัย, ดร.ธงชัย ศรีวรรธนะ, พิทวัส เอื้อสังคมเศรษฐ และคณะ. 2559. ยุทธศาสตรและแผนปฏิบัติการสงเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดยอมกลุมอุตสาหกรรมฐานชีวภาพ (Bio-Based Industry) : อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ ปณณธร มีเดีย. หน้า 35-40.

ฐานข้อมูลเครื่องยา. 2565. *ขมิ้นชัน*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบสราชธานี สืบค้นได้จาก htp://www.thai21ealth Organization. Rhizoma Curcuma longee. Ih: WHro moncgraphs on selected medicinal plants. เข้าถึงเมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน 2565.

ธีรศักดิ์ ปั้นวิชัย. 2565. เทคโนโลยีปาล์มน้ำมัน ศูนย์วิจัยผลิตภัณฑ์มูลค่าโอเลโอเคมีคอลแบบครบวงจร. พิมพ์ครั้งที่ 1. ห้างหุ้นส่วนสามัญ หาดใหญ่ดิจิตอล พริ้นท์. หน้า 63-72.

นฤมล มงคลธนวัฒน์. 2557. เห็ดแครง: เห็ดพื้นบ้านที่ มากด้วยคุณค่า.สาขาเทคโนโลยีการจัดการและพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

บทความ/ความรู้เรื่องยา หัวข้อ อันตรายจากสารต้องห้ามในเครื่องสำสำหรับประชาชน. โรงพยาบาลรามาธิบดี คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล สืบค้นได้จาก https://med.mahidol.ac.th/ramapharmacy/knowledge/general เข้าถึงเมื่อวันที่ 5 กันยายน 2565

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21(3), 275-286.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2564. การใช้สารสกัดที่มีสารแคนนาบิไดออลจากกัญชาและกัญชงในเครื่องสำอาง พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา. 17 พฤษภาคม 2564.

ผกาวดี แก้วกันเนตร. 2560. เทคโนโลยีกระบวนการแยกสาร.ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และอุบล ชาอ่อน. 2551. ชีวเคมี (พิมพ์ครั้งที่ 5). ขอนแก่น: คลังนานาวิทยา.

มัญฑมน อุตโม, วิชัย หฤทัยธนาสันติ์, สุพนิดา วินิจฉัย, หทัยรัตน์ ริมคีรี. 2557. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ครั้งที่ 52): สาขาอุตสาหกรรมเกษตรการพัฒนาผลิตภัณฑ์, ครีมลดความหมองคล้ำและริ้วรอยบนผิวหน้าสำหรับกลางคืนที่มีส่วนผสมของไลโปโซมสารสกัดมะขามป้อม. พิมพ์ครั้งที่ 52 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 162-169

โรงพยาบาลสงขลานครินทร์. 2565. งานโภชนาการ สืบค้นได้จาก https://www.skhospital.th/dl_nutrition/ เข้าถึงเมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2565.

สุภาภรณ์ สาชาติ. 2558. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขมิ้นชันอย่างยั่งยืน. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร.

สิกขวัฒน์ นักร้อง. 2564. กัญชง มีประโยชน์อย่างไร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

อาภัสสรา ชมิดท์. 2543. ชีวเคมี (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: รั้วเขียว.

อนุสรณ์ เชิดทอง.2565. *ลิพิดและกรดไขมัน*. สืบค้นได้จาก https://ag2.kku.ac.th/eLearning/137748/Doc%5CChapter%204%20Lipid%20and%20fatty%20acid.pdf เข้าถึงเมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2565.

Abd Razak, D. L., Mohd Fadzil, N. H., Jamaluddin, A., Abd Rashid, N. Y., Sani, N. A., & Abdul Manan, M. 2019. Effects of different extracting conditions on anti-tyrosinase and antioxidant activities of *Schizophyllum commune* fruit bodies. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 19, 101-116.

Aladić, K., Jarni, K., Barbir, T., Vidović, S., Vladić, J., Bilić, M., & Jokić, S. 2015. Supercritical CO_2 extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. Industrial Crops and Products. 76, 472–478.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists.

AOAC 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st ed. Association of Official Analytical Chemists.

AOAC Official Method 995.16, AACC (Method 32-23) & ICC (Method No. 168)

Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E., & Rahman, M.M. 2008. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa:* a structure–activity study. J. Nat. Prod. 71, 1427–1430.

Alonso-Esteban, J. I., Pinela, J., Ćirić, A., Calhelha, R. C., Soković, M., Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., Torija-Isasa, E., & Sánchez-Mata, M. de C. 2022. Chemical composition and biological activities of whole and dehulled hemp *(Cannabis sativa* L.*)* seeds. Food Chemistry. 374, 131-754.

Asl, A.H & Khajenoori, M., 2013. Chapter 17 - Subcritical Water Extraction, in: Nakajima, H. (Ed.), Mass Transfer - Advances in Sustainable Energy and Environment Oriented Numerical Modeling. InTech, Kyushu, Japan.

Benelli, G., Pavela, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Santini, G., Fiorini, D., Sut, S., Dall'Acqua, S., Canale, A., Maggi, F., 2018. The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa L.*) by-products as an effective tool for insect pest management inorganic crops. Ind. Crops Prod. 122, 308–315.

Bertoli, A. 2010. Fibre hemp inflorescences: From crop-residues to essential oil production. Industrial Crops and Products. 32, 329–337.

Callaway, J. C., & Laakkonen, T. T., 1996. Cultivation of cannabis oil seed varieties in Finland. Journal of the International Hemp Association, 3, 32–34.

Costa, R., & Santos, L. 2017. Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. Powder Technol. 322 402–416.

Chang, L.-H., Jong, T.-T., Huang, H.-S., Nien, Y.-F., & Chang, C.-M. J. 2006. Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric oil from Curcuma longa Linn and purification of turmerones. Separation and Purification Technology, 47(3), 119–125.

Chassagnez-Méndez, A. L., Machado, N. T., Araujo, M. E., Maia, J. G., & Meireles, M. A. A. 2000. Supercritical CO_2 Extraction of Curcumins and Essential Oil from the Rhizomes of Turmeric (*Curcuma longa* L.). Industrial & Engineering Chemistry Research, 39(12), 4729–473.

Chen, L., Hu JY, Wang SQ. 2012.The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. J Am Acad Dermatol. 12, 1013-1024.

Chen, Z., Yin, C., Fan, X., Ma, K., Yao, F., Zhou, R., Shi, D., Cheng, W., & Gao, H. 2019. Characterization of physicochemical and biological properties of Schizophyllum commune polysaccharide extracted with different methods. International Journal of Biological Macromolecules. 156, 1425–1434.

Drife, D. 2013. Split Gill Fungus. The Michigan Nature Guy's Blog.

Ellison, C., Moreno, T., Catchpole, O., Fenton, T., Lagutin, K., MacKenzie, A., Mitchell, K., & Scott, D. 2021. Extraction of hemp seed using near-critical CO_2, propane and dimethyl ether. The Journal of Supercritical Fluids. 173, 105218.

Embuscado ME. 2015. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini Review. J. Funct Foods. 18, 811–819.

Emsen, B., Kocabas, A., Kaya, A., Cinar, S., Aasim, M., & Sadi, G. 2017. IN VITRO CYTOTOXICITY, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF VARIOUS EXTRACTS FROM *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* FR. Fresenius Environmental Bulletin. 26(1). 1144-1153.

Gbashi, S., Edwin M.N., Ayodeji Adebo, A.O., Piater, L., Phoku, Z.J., & Njobeh, B.P. 2017. Subcritical Water Extraction and Its Prospects for Aflatoxins Extraction in Biological Materials. Open Science Journals. 11, 29-250.

GE, Y., NI, Y., YAN, H., CHEN, Y., & CAI, T. 2002. Optimization of the Supercritical Fluid Extraction of Natural Vitamin E from Wheat Germ Using Response Surface Methodology. Journal of Food Science. 67, 239-243.

Gopaliya, P., Kamble, R.P., Kamble, R., & Chauhan, S.C. 2014. A review article on supercritical fluid chromatography. Int. J. Chem. Pharm. 3, 59–66.

Gopalan, B., Goto, M., Kodama, A., & Hirose, T. 2000. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Turmeric (*Curcuma longa*). J. Agric. Food Chem. 48, 2189–2192.

Hassas-Roudsari, M., Chang, P. R., Pegg, R. B. & Tyler, R. T., 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. Food Chemistry. 114 (2), 717-726.

Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján, L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. L., & Haines, D. D. 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and Phoradendron californicum. BMC Research Notes. 8(1), 396.

Jayaprakasha, G. K., Jagan Mohan Rao, L., & Sakariah, K. K. 2002. Improved HPLC Method for the Determination of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (13), 3668–3672.

Kajorncheappunngam, S. 2006. The Extraction of Proanthocyanidines from Grape Seed by Supercritical Carbon Dioxide. Engineering and Applied Science Research, 33 (4), 431-442.

Kita, T., Imai, S., Sawada, H., Kumagai, H., & Seto, H. 2009. The biosynthetic pathway Of curcuminoid in turmeric (*Curcuma longa*) as revealed by 13C-labeled precursors Biosci. Biotechnol. Biochem. 72, 1789–1798.

Kotra, R.S.V., Satyabanta, L & Goswami, K.T. 2019. A critical review of analytical methods for determination of curcuminoids in turmeric. J Food Sci Technol. 56(12), 5153–5166.

Koubaa, M., Lepreux, L., Barba, F. J., Mhemdi, H., & Vorobiev, E. 2017. Gas assisted mechanical expression (GAME) for the selective recovery of lipophilic and hydrophilic compounds from olive kernel. Journal of Cleaner Production. 166, 387–394.

Leela, N. K. , Tava, A. , Shafi, PM., John, HP., & Chempakam, B. 2002. Chemical composition of essential oils turmeric (*Curcuma longa* L.). Acta Pharm. 52: 137-41.

Liu, J., Jia, L., Kan, J., & Jin, C. 2013. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). Food and Chemical Toxicology. 51, 310–316.

Marcus, Y. 2018. Review extraction by subcritical and supercritical water, methanol, ethanol and their mixtures. Separations. 5(4), 1-18

Marinova, D., Ribarova, F. & Atanassova, M. 2005. Total phenloics and total flavonoids in bugarian fruit and vegetables. University of Chemical Technology and Metallurgy. 40(3), 255-260.

Marzullo, P., Foschi, F., Coppini, A.D., Fanchini, F., Magnani, L., Rusconi,S., Luzzani, L., &

Passarella, D. 2020. Cannabidiol as the Substrate in Acid-Catalyzed Intramolecular Cyclization. J. Nat. Prod. 83(10), 2894-2901.

Mazzutti, S., Ferreira, S. R. S., Riehl, C. A. S., Smania, A., Smania, F. A., & Martínez, J. 2012. Supercritical fluid extraction of Agaricus brasiliensis: Antioxidant and antimicrobial activities. The Journal of Supercritical Fluids. 70, 48–56.

Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. dos, Coube, C. S., & Leitão, S. G. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method: ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BRAZILIAN PLANTS. Phytotherapy Research. 15(2), 127–130.

Milovanovic, I., Zengin,G., Maksimovicc, S., & Tadic, v. 2020. Supercritical and ultrasound-assisted extracts from Pleurotus pulmonarius mushroom: chemical profiles, antioxidative, and enzyme-inhibitory propertie. Society of Chemical Industry. 101, 2284–2293

Montserrat-de la Paz, S., Marín-Aguilar, F., García-Giménes, M. D., & Fernández-Arche, M. A. 2014. Hemp *(Cannabis sativa L.)* seed oil*:* Analytical and phytochemical characterization of the unsaponifiable fraction. Journal of Agricultural and FoodChemistry. 62, 1105–1110.

Mustafa, A., & Turner, C. 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. Analytica Chimica Acta. 703(1), 8–18.

Nafis, A., Kasrati, A., Jamali, C. A., Mezrioui, N., Setzer, W., Abbad, A., & Hassani, L. 2019. Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.) essential oil with antimicrobial standards. Industrial Crops and Products. 137, 396–400.

Nissen, L., Zatta, A., Stefanini, I., Grandi,S., Sgorbati, B., Biavati, B., & Monti, A. 2010. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). Fitoterapia. 81. 413–419.

Park, C. Y., Lee, K.-Y., Gul, K., Rahman, M. S., Kim, A.-N., Chun, J., Kim, H.-J., & Choi, S.-G. 2019. Phenolics and antioxidant activity of aqueous turmeric extracts as affected by heating temperature and time. LWT. 105, 149–155.

Punvichai, T., Amor, A., Tardan, E., Palu, S., & Pioch, D. 2016. SC-CO_2 Extraction of guayule biomass *(Parthenium argentatum*)-yield and selectivity towards valuable co-products, lipids and terpenics. Biointerface Research in Appliced Chemistry. 6(6), 1777-1787.

Ravber, M., Knez, Ž., & Škerget, M. 2015. Optimization of hydrolysis of rutin in subcritical water using response surface methodology. The Journal of Supercritical Fluids. 104, 145–152.

Razak, D. L. A., Jamaluddin, A., Rashid, N. Y. A., Mohd, N. H., Sani, N. A., & Manan, M. A. 2018. Comparative Evaluation of Schizophyllum commune Extracts as Potential Cosmeceutical Bio-Ingredient. International Journal of Research in Agricultural Sciences. 5(1), 2348 – 3997.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 26(9–10), 1231–1237.

Rodríguez-Seoane, P., Díaz-Reinoso, B., González-Muñoz, M. J., Fernández de Ana Portela, C., & Domínguez, H. 2019. Innovative technologies for the extraction of saccharidic and phenolic fractions from *Pleurotus eryngii*. LWT. 101, 774–782.

Roman, B.O., Alonso. E., Cocero, J.M., & Goto. M. 2016. β-Glucan recovery from Ganoderma lucidum by means of pressurized hot eater and supercritical CO_2. Food and Bioproducts Processung. 98: 21-28.

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

Sim, Y.Y., Ong, W.T., & Nyam, K.L. 2019. Effect of various solvents on the pulsed ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds from *Hibiscus cannabinus* L. leaves. Ind. Crop. Prod. 140, 111708.

Sirisupakritkul, N & Tongsima, W. 2020. Cannabis Extract. Department of Medical Sciences, Thai Pharmacopoeia II volume I Part 1 Supplement 2020. (1thed., pp. 17-19). Bangkok: The Agricultural Co-operative Federation of Thailand., Ltd

Smith, J.M., & Ness, H.C. 1987. Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics. Mcgraw-Hill Book Co., London.

Sudha, G., Vadivukkarasi, S., Shree, R. B. I., & Lakshmanan, P. 2012. Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Pleurotus eous*. Food Science and Biotechnology. 21(3), 661–668.

Smiderle,F.R., Olsen, L.M., Ruthes, A.C., Czelusniak, P.A.., Santana-Filho, A.P., Sassaki, G.L., Gorin, P.A.J., Iacomini, M. 2012. Exopolysaccharides, proteins and lipids in *Pleurotus pulmonarius* submerged culture using different carbon sources. Carbohydrate Polymers. 87(1), 368-376.

Tepsongkroh, B., Jangchud, and K., Trakoontivakorn, G. 2019. Antioxidant properties and selected phenolic acid of five different tray-dried and freeze-dried mushrooms using methanol and hot water extraction. Food Measurement and Characterization. 13, 3097-3105

Vieira, V., Marques, A., Barros, L., Barreira, J.C.M., & Ferreira, I.C.F.R. 2012. Insights in the antioxidant synergistic effects of combined edible mushrooms: phenolic and poly-saccharidic extracts of Boletus edulis and Marasmius oreades. J. Food Nutr. Res. 51 (2), 109–116.

Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. Food Research International. 46 (2), 505–513.

Wu, Y., Choi, M.H., Li, J., Yang, H., Shin, H.J. 2016. Mushroom cosmetics: the present and future. Cosmetics. 3, 22–35.

Zakaria, S. M. & Kamal, S. M. M. 2016. Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: applications in pharmaceutical and food ingredients. Food Engineering Reviews. 8(1), 23-34.

Zhang, J., Wen, C., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H., 2020. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. rends in Food Science & Technology. 95, 183–19.

Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K., Phillips, GO. 2013. Schizophyllan: a review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 1, 53–71.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์วิเคราะห์โปรตีน

เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 32 โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 320 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายกรดบอริกวิเคราะห์โปรตีน

เตรียมกรดบอริก เข้มข้นร้อยละ 4 โดยชั่งกรดบอริก จำนวน 40 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกวิเคราะห์โปรตีน

เตรียมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยปิเปตกรดซัลฟิวริก 0.66 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ครบ 250 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายซัลฟิวริกวิเคราะห์เส้นใย

เตรียมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปิเปตกรดซัลฟิวริก 14.17 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 1,000 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

5. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์วิเคราะห์เส้นใย

เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 12.37 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 300 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

6. การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.50 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

7. การเตรียมสารละลาย Folin–Ciocateu reagent

เตรียมสารละลาย Folin–Ciocateu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปิเปต Folin– Ciocateureagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตรใส่ขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร

8. การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์

เตรียมสารโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 ชั่งสารโซเดียมไนไตรท์ 0.750 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร

9. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.00 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร

10. การเตรียมสารอะลูมิเนียมคลอไรด์วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์

เตรียมสารอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ชั่งสารอะลูมิเนียมคลอไรด์ 2.50 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร

11. การเตรียมสารละลายวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลลาร์ ชั่งสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.0039 กรัม ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 99 ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.9-1.0

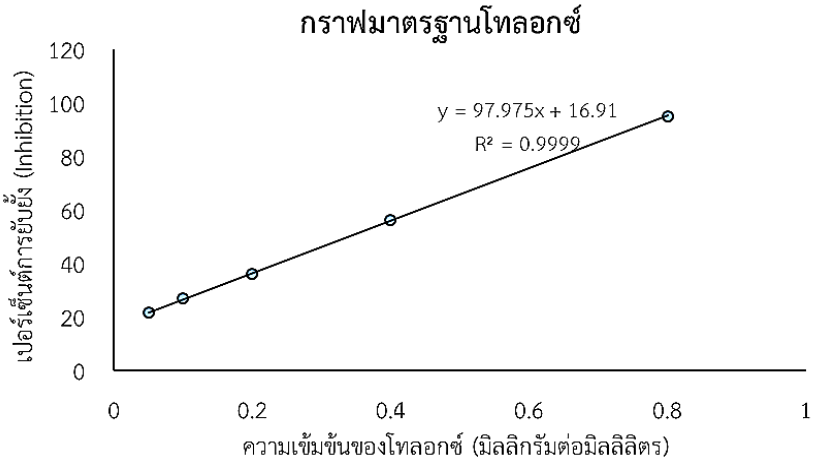
12. การเตรียมสารละลายวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ ABTS

เตรียมสารละลาย ABTS เข้มข้น 7 มิลลิโมลลาร์ ชั่งสาร ABTS 0.0900 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 25 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลลาร์ ชั่งสาร 0.0165 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมสารละลาย ABTS กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ตั้งไว้ที่มืดอุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย ABTS เจือจางด้วยเอทานอล ทดสอบลงในจานหลุม 96 well plate และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงบนไมโครเพลท ให้อยู่ในช่วง 7±0.20

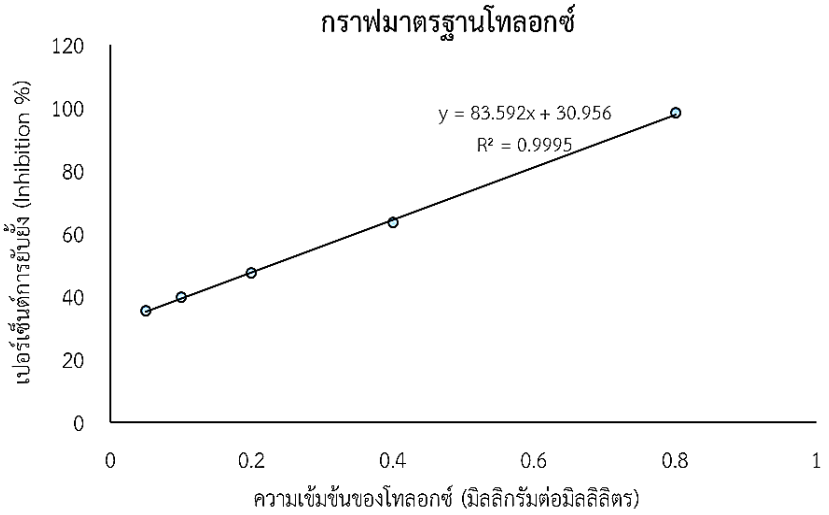
13. การเตรียมสารละลายวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบ FRAP

เตรียมโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.6 ชั่งโซเดียมอะซิเตท 1.55 กรัม เติมกรดอะซิติก 8 มิลลิลิตร คนให้ละลายแล้วปรับด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายเฟอริก ความเข้มข้น 20 มิลลิโมล ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.0540 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย TPTZ ชั่งสาร 0.0039 กรัม ละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 40 มิลลิโมล โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริก (Conc.) ปริมาตร 34 ไมโครลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 10 มิลลิลิตร ได้สารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมล จากนั้นผสมสาร FRAP ด้วยการผสมสารละลายโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.6 สารละลายเฟอริก และสารละลาย TPTZ อัตราส่วน 10 ต่อ 1 ต่อ 1

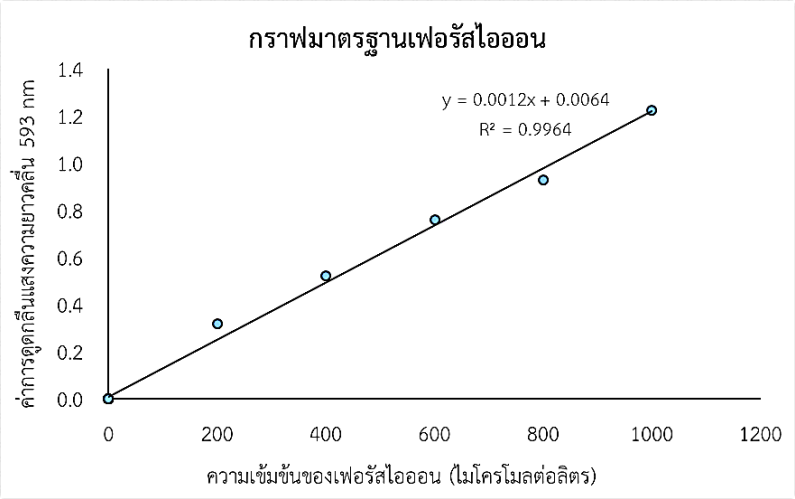
ภาคผนวก ข
กราฟมาตรฐาน



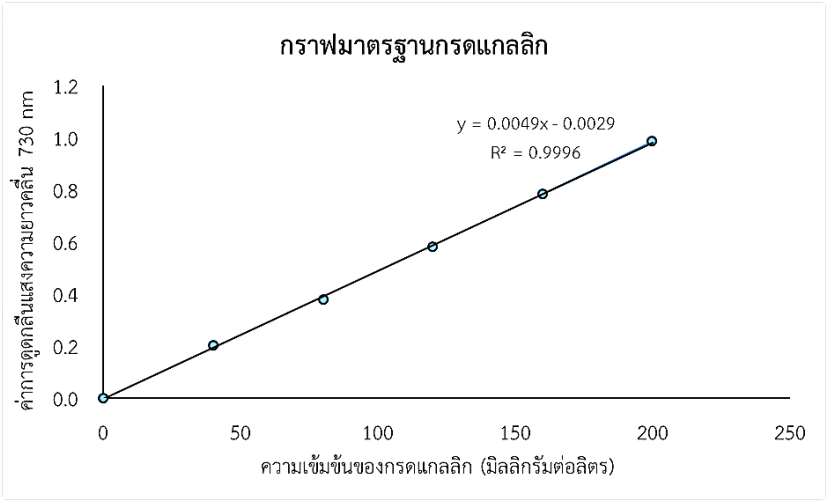
ภาพที่ ข–1 กราฟมาตรฐานของโทลอกซ์ที่ความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทดสอบ DPPH



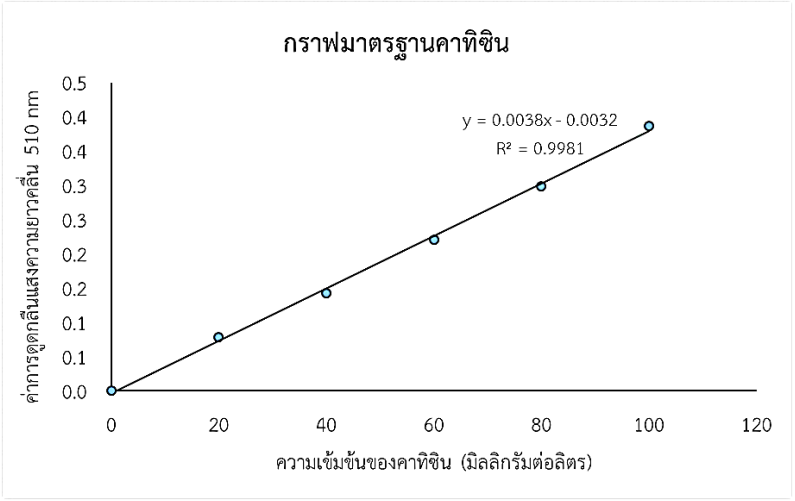
ภาพที่ ข–2 กราฟมาตรฐานของโทลอกซ์ที่ความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทดสอบ ABTS



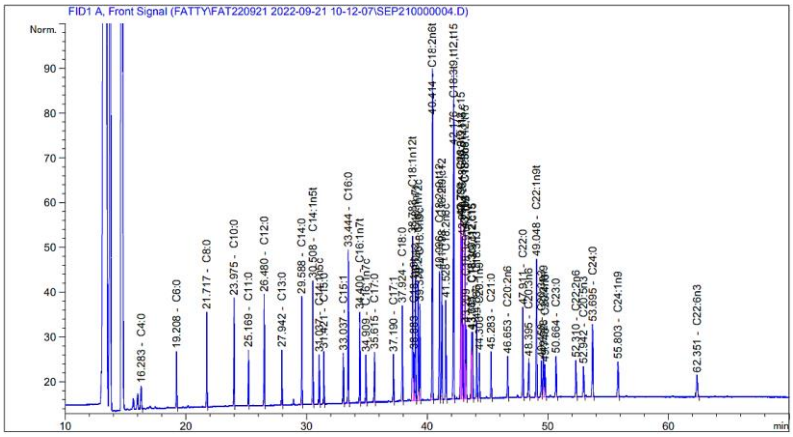
ภาพที่ ข–3 กราฟมาตรฐานของงเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0 – 1000 ไมโครโมลต่อลิตร



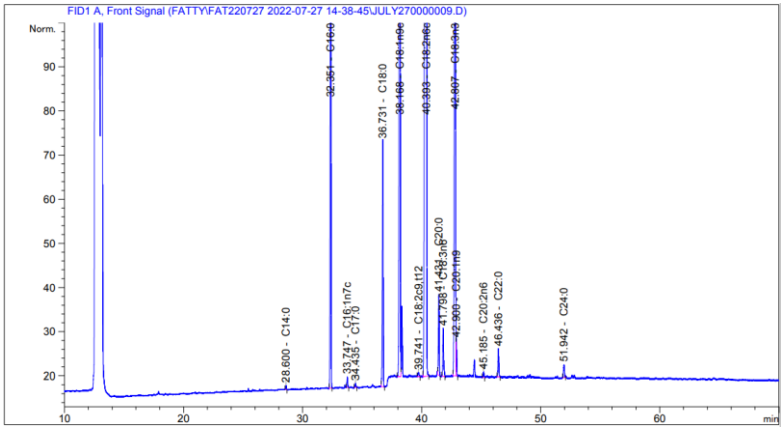
ภาพที่ ข–4 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0 – 200 มิลลิกรัมต่อลิตร



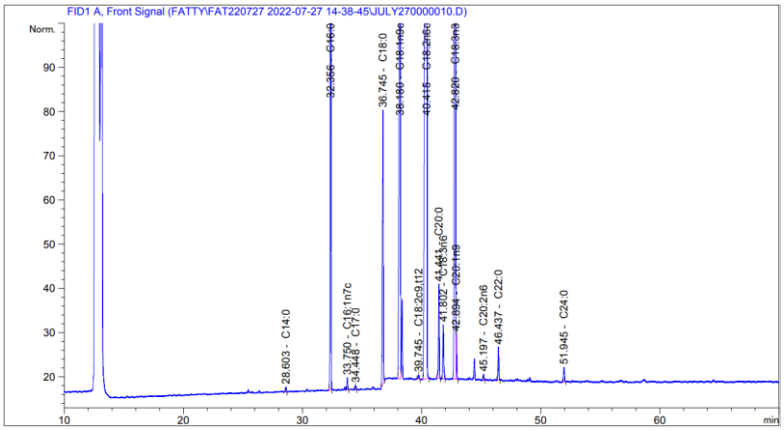
ภาพที่ ข–5 กราฟมาตรฐานของคาทิซินที่ความเข้มข้น 0 – 100 มิลลิกรัมต่อลิตร



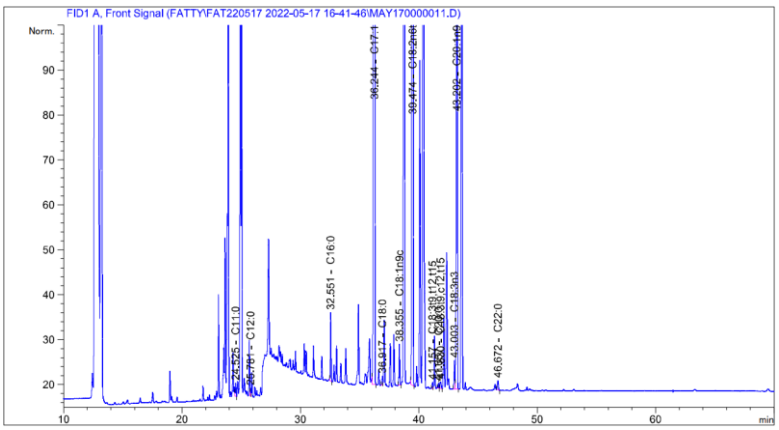
ภาพที่ ข–6 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดไขมัน 52 ชนิด



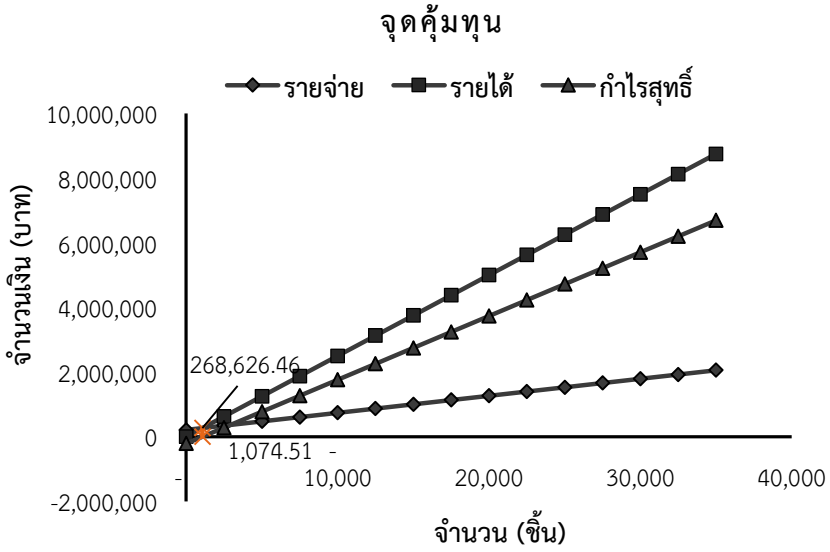
ภาพที่ ข–7 โครมาโทแกรมองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันสารสกัดเมล็ดกัญชงสดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ ข–8 โครมาโทแกรมองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันสารสกัดเมล็ดกัญชงแห้งด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ ข–9 โครมาโทแกรมองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันสารสกัดขมิ้นชันแห้งด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด



ภาพที่ ข–10 กราฟจุดคุ้มทุนผลิตภัณฑ์รั่มลดริ้วรอย

ภาคผนวก ค
ตาราง

ตารางที่ ค-1 ปริมาณสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครง ด้วยเทคนิคน้ำกึ่งวิกฤตยิ่งยวด

Temperature (°C)	Yield (%)			
	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
60	22.61±0.22^{d}	12.45±0.62^{d}	5.83±0.62^{d}	24.83±0.67^{d}
80	26.47±0.55^{c}	14.09±0.15^{c}	6.84±0.15^{c}	27.24±0.24^{c}
100	29.52±0.61^{b}	18.49±0.26^{b}	13.86±0.31^{b}	30.57±0.78^{b}
121	31.46±0.21^{a}	21.71±0.10^{a}	19.73±0.36^{a}	35.63±0.52^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ ค-2 ปริมาณสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงอุณหภูมิ 30-150 องศาเซลเซียส ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Temperature (°C)	Yield (%)			
	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
30	0.52±0.01^{d}	1.27±0.09^{d}	0.60±0.01^{e}	0.04±0.05^{e}
60	0.57±0.04^{c}	1.30±0.04^{d}	0.43±0.01^{d}	0.09±0.06^{d}
90	0.58±0.02^{c}	1.53±0.01^{c}	0.46±0.00^{c}	0.25±0.03^{c}
120	0.93±0.06^{b}	1.96±0.00^{b}	0.57±0.01^{b}	0.50±0.07^{b}
150	2.04±0.14^{a}	3.63±0.01^{a}	1.18±0.09^{a}	0.81±0.01^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ ค-3 ปริมาณสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงความดัน 80-160 บาร์ ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Pressure (bar)	Yield (%)			
	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
80	0.61±0.02^{e}	5.68±0.09^{d}	3.87±0.08^{d}	1.12±0.07^{e}
100	2.43±0.05^{d}	8.64±0.34^{c}	4.33±0.18^{c}	1.15±0.01^{d}
120	3.91±0.02^{c}	9.35±0.09^{b}	4.94±0.15^{b}	1.26±0.01^{c}
140	4.23±0.03^{b}	9.49±0.10^{a}	5.00±0.12^{b}	1.43±0.05^{b}
160	4.82±0.14^{a}	9.51±0.01^{a}	5.25±0.09^{a}	2.16±0.05^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ ค-4 ปริมาณสารสกัดกัญชง ขมิ้นชัน และเห็ดแครงระยะเวลา 30-120 นาที ด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Time (min)	Yield (%)			
	Hemp (Leaves)	Hemp (Seed)	Turmeric	Split gill
30	1.46 ± 0.09^{d}	3.51 ± 0.10^{c}	3.19 ± 0.13^{d}	0.58 ± 0.03^{d}
60	4.83 ± 0.18^{a}	9.51 ± 0.19^{b}	5.25 ± 0.10^{c}	2.16 ± 0.05^{c}
90	4.99 ± 0.14^{a}	9.58 ± 0.08^{b}	5.66 ± 0.07^{b}	2.37 ± 0.08^{b}
120	5.23 ± 0.11^{a}	10.85 ± 0.02^{a}	5.88 ± 0.09^{a}	3.45 ± 0.10^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขในตารางหมายถึงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรพิมพ์เล็ก a-d ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ ค-5 ประมาณการยอดขายผลิตภัณฑ์เซรั่ม

ลำดับที่	ชื่อสินค้า / บริการ	ประมาณการยอดขาย ปีที่ 1-5				
		ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	ปีที่ 4	ปีที่ 5
1	ผลิตภัณฑ์เซรั่ม	7,500,000	7,650,000	7,803,000	7,959,060	8,118,241.20
ยอดขายรวม		7,500,000	7,650,000	7,803,000	7,959,060	8,118,241.20
Growth			2%	2%	2%	2%

ภาคผนวก ง
เอกสารแนบ

แบบ กัญชง 1-1

ใบอนุญาต
ผลิต (ปลูก) ยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 เฉพาะกัญชง

เลขที่อ้างอิง ตก 39/2564 (ป)

ใบอนุญาตฉบับนี้ให้ไว้แก่
นายมัว สว่างเจริญทรัพย์

โดยมี นาย มัว สว่างเจริญทรัพย์ เป็นผู้ดำเนินกิจการ

เพื่อแสดงว่าเป็นผู้รับอนุญาตผลิต (ปลูก) ยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 เฉพาะกัญชง

ใบอนุญาตที่ ตก 39/2564 (ป) พื้นที่ลำดับที่ 1

ณ สถานที่ปลูกชื่อ -

วัตถุประสงค์ในการขอรับใบอนุญาต คือ

1. เพื่อประโยชน์ในเชิงพาณิชย์หรืออุตสาหกรรม

ตั้งอยู่เลขที่ หมู่บ้านรวมไทยพัฒนา 13 หมู่ที่ 3

ตรอก/ซอย - ถนน -

ตำบล/แขวง คีรีราษฎร์ อำเภอ/เขต พบพระ

จังหวัด ตาก รหัสไปรษณีย์ 63160 โทรศัพท์ 06 5030 5951

โทรสาร -

รูปแบบการปลูก กลางแจ้ง (Outdoor) ขนาดพื้นที่แปลงปลูก 14 ไร่

ค่าพิกัดแปลงปลูก 16.532139, 98.816633

ชื่อพันธุ์ RPF 3 แหล่งที่มา สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

ส่วนที่ใช้ในการปลูก เมล็ด วิธีการปลูก -

ใบอนุญาตฉบับนี้ให้ใช้ได้จนถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2564 และให้ใช้เฉพาะที่ซึ่งระบุไว้ในใบอนุญาตเท่านั้น

ให้ไว้ ณ วันที่ 10 สิงหาคม 2564

ตำแหน่ง ผู้อนุญาต

ภาพที่ ง–1 ใบอนุญาตปลูกกัญชงที่ใช้ในการทำงานวิจัย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวจันทรรัตน์ พิภักดี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 6340320402

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2561

ทุนการศึกษา

1. ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีงบประมาณ 2564
2. ทุนสนับสนุนการศึกษา ศูนย์วิจัยผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงโอเลโอเคมีแบบครบวงจร ปีงบประมาณ 2564

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

1. ผู้ช่วยวิจัย มหาวิยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี