

ผลของขนาดอนุภาคกัญชงต่อการสกัดแคนนาบินอยด์ (CBD) โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่วิกฤตยิ่งยวด

โสภิต บุชยะจารุ, ภ.บ.

กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร
ผู้เขียนหลัก e-mail: sopita.ahe@gmail.com

ธนพงศ์ เพ็งผล, ภ.บ.

กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร
e-mail: benzpengpon@gmail.com

วารสารเภสัชกรรมคลินิก. 2568;31(1):79-92.

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศรได้รับมอบหมายให้ดำเนินนโยบายกัญชาทางการแพทย์อย่างครบวงจร ตั้งแต่การปลูก ผลิต และนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ตั้งแต่ พ.ศ. 2562 ปัจจุบันได้รับมอบหมายให้ผลิตยาที่มีกัญชาและกัญชงเป็นส่วนผสมจำนวน 6 รายการเพื่อใช้ในโรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุข โดยเฉพาะครีมแคนนาบินอยด์ (CBD) สำหรับผู้ป่วยสะกดเงินและผิวหนังอักเสบ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลของขนาดอนุภาคดอกกัญชงต่อน้ำหนักของสารสกัด (yield) และปริมาณสารสำคัญ CBD และกรดแคนนาบินอยด์ (CBDA) ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

วิธีวิจัย: ซ่อดอกกัญชงบดแยกเป็น 3 ขนาดอนุภาค ได้แก่ ขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) ขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) ทำการสกัดที่ความดัน 32 เมกะปาสคาล อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 2.5-3 ลิตร/นาที่ เป็นเวลา 120 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ผ่านกระบวนการ decarboxylation ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที นำไปวิเคราะห์น้ำหนักของสารสกัด (yield) และปริมาณสารสำคัญ CBD และ CBDA

ผลการวิจัย: อนุภาคขนาดละเอียดให้ร้อยละของสารสกัดสูงสุดเฉลี่ย 15.74 รองลงมาคือขนาดกลางร้อยละ 12.94 และขนาดใหญ่ร้อยละ 11.71 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณ total CBD ที่พบว่าขนาดละเอียดให้ค่าเฉลี่ยร้อยละของ total CBD สูงสุด 7.46 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยร้อยละของ total CBD ของขนาดกลาง 6.05 และขนาดใหญ่ 5.70 ทั้งนี้ร้อยละของ total CBD ที่ได้จากขนาดกลางและขนาดใหญ่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ

สรุปผล: อนุภาคกัญชงขนาดเล็กให้ปริมาณสารสกัดและ total CBD มากกว่าขนาดใหญ่ ซึ่งจะเป็แนวทางในการกำหนดขนาดของกัญชงให้น้อยกว่า 0.25 มิลลิเมตร ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสาร CBD ให้ได้สารสำคัญในการผลิตยามากขึ้น

คำสำคัญ: สารแคนนาบินอยด์ (CBD); กัญชง; การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด; ขนาดอนุภาค

Effect of Hemp Particle Size on Cannabidiol (CBD) Extraction Using Supercritical Carbon Dioxide Extraction Technique

Sopit Bushyacharu, B.Sc. in Pharm.

Pharmacy Department, Chao Phya Abhaibhubejhr Hospital

Corresponding author e-mail: sopit.ahe@gmail.com

Thanapong Pengpon, B.Sc. in Pharm.

Pharmacy Department, Chao Phya Abhaibhubejhr Hospital

e-mail: benzpengpon@gmail.com

Thai J Clin Pharm. 2025;31(1):79-92.

Abstract

Background: Chao Phraya Abhaibhubejhr Hospital has been assigned to implement a comprehensive medical cannabis policy, covering cultivation, production, and medical applications since its initiation in 2019. Currently, the hospital is responsible for producing six pharmaceutical products containing cannabis and hemp for use in hospitals under the Ministry of Public Health, particularly a cannabidiol (CBD) cream for patients with psoriasis and inflammatory skin conditions.

Objective: To investigate the effect of hemp flower particle size on extraction yield and on the concentrations of cannabidiol (CBD) and cannabidiolic acid (CBDA) by using supercritical carbon dioxide extraction.

Methods: Hemp flowers were ground into three particle sizes: coarse (0.84–1.00 mm), medium (0.25–0.84 mm), and fine (<0.25 mm). The extraction was performed at a pressure of 32 MPa, a temperature of 60°C, and a carbon dioxide flow rate of 2.5–3 L/min for 120 minutes. The obtained extract was then subjected to decarboxylation at 120°C for 120 minutes before being analyzed for extraction yield and CBD and CBDA concentrations.

Results: The fine particles yielded the highest extraction percentage, averaging 15.74%, followed by the medium-sized particles (12.94%) and the coarse particles (11.71%). These findings were consistent with the total CBD content analysis, where the fine particles exhibited the highest total CBD content (7.46%), which was statistically significant compared to the medium-sized (6.05%) and coarse (5.70%) particles. No significant difference was observed between the medium and coarse particles regarding total CBD content.

Conclusion: Smaller hemp particle sizes result in higher extraction yields and total CBD content compared to larger particles. This finding suggests that reducing the particle size to less than 0.25 mm during the raw material preparation process could improve CBD extraction efficiency, thereby increasing the availability of active compounds for pharmaceutical production.

Keywords: cannabidiol (CBD); hemp; supercritical carbon dioxide extraction; particle size

บทนำ

ในปี พ.ศ. 2562 โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ได้รับมอบหมายให้ผลิตยาแก้ปวดเพื่อใช้ทางการแพทย์ ครอบคลุมตั้งแต่การปลูก การผลิต และการจ่ายยาให้กับผู้ป่วย โดยโรงพยาบาลมีการผลิตยาที่มีกัญชาและกัญชงเป็นส่วนผสมจำนวน 6 รายการ นอกจากการผลิตเพื่อใช้เอง ยังมีการกระจายยาให้กับสถานพยาบาลอื่น ๆ ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศ จากการติดตามการใช้ยาในระบบสาธารณสุข พบว่าแนวโน้มการสั่งใช้ยาที่มีสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (THC) เป็นส่วนประกอบหลักมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากกังวลเรื่องผลข้างเคียงต่อระบบประสาท ในทางตรงกันข้าม ความต้องการใช้ยาที่มีสารแคนนาบินอยด์ (CBD) กลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชัก ผู้ป่วยที่มีอาการปวดและผู้ป่วยโรคผิวหนังอักเสบ โดยเฉพาะในโรคผิวหนังอักเสบอย่างสะเก็ดเงินที่การรักษามาตรฐานยังไม่ได้ผลดีนัก การใช้ CBD ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่น่าสนใจ จากการทบทวนข้อมูลพบว่า CBD มีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดการอักเสบผ่านการยับยั้งการผลิตสารบ่งชี้การอักเสบ ได้แก่ IL-17 และ IFN γ ใน T-cell ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน¹ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในสัตว์ทดลอง² นอกจากนี้การทดลองทางคลินิกยังแสดงให้เห็นว่าครีม CBD สามารถลดความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงินได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับยาหลอก โดยช่วยลดทั้งความหนาและพื้นที่โดยรวมของรอยโรค ที่สำคัญคือพบผลข้างเคียงน้อยมากและเทียบเคียงได้กับยาหลอก สะท้อนให้เห็นถึงความปลอดภัยในการใช้ CBD สำหรับการรักษาโรคสะเก็ดเงิน³

CBD เป็นสารประกอบแคนนาบินอยด์ (cannabinoids) ที่พบมากในกัญชง (*Cannabis Sativa* L.) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Cannabaceae⁴ เช่นเดียวกับกัญชา ในการพัฒนาตำรับยาที่มี CBD เป็นสารออกฤทธิ์หลัก โรงพยาบาลได้คัดเลือกสายพันธุ์ Charlotte's Angel เนื่องจากมีปริมาณ CBD สูง THC ต่ำ และมีความผันแปรของสารสำคัญต่ำ ทั้งนี้ปริมาณสารสำคัญในกัญชงยังขึ้นอยู่กับปัจจัยการปลูก เช่น ช่วงแสง อุณหภูมิ และปริมาณ

ไนโตรเจนในดิน⁵ นอกจากนั้นแล้วการสกัด CBD จากดอกกัญชงให้มีประสิทธิภาพสูงยังเป็นความท้าทาย เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในไขมันและสารละลายอินทรีย์ จึงต้องเลือกเครื่องมือและกระบวนการที่เหมาะสมและคุ้มค่า แม้ปัจจุบันจะมีหลายวิธีในการสกัด แต่ละวิธีมีข้อจำกัด เช่น การบีบอัด (compression) แม้มีต้นทุนต่ำแต่ก็มีประสิทธิภาพต่ำ ส่วนการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ต้นทุนไม่สูงมาก แต่การสกัดก็จะได้คลอโรฟิลล์ปนเปื้อนออกมาด้วย และการใช้สารละลายอินทรีย์มีความเสี่ยงด้านความเป็นพิษในระยะยาว⁶ ดังนั้น โรงพยาบาลจึงเลือกใช้เทคนิคการสกัดสีเขียว (green extraction) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (supercritical carbon dioxide extraction) เนื่องจากสามารถสกัดสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่มีคลอโรฟิลล์ปนเปื้อน และปลอดภัยต่อทั้งผู้ผลิตและผู้ใช้⁷ แม้จะมีต้นทุนสูงกว่าวิธีการสกัดดั้งเดิม แต่ในอนาคตเมื่อมีการใช้เทคโนโลยีการสกัดสีเขียวกว้างขวางขึ้น ต้นทุนการผลิตก็จะลดลง

ในส่วนของการสกัดนั้น จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่ากระบวนการแปรรูปและการสกัดพืชสมุนไพรให้เหมาะสม สามารถเพิ่มผลผลิตและประสิทธิภาพการสกัด พืชเคมีในกัญชาและกัญชงได้ เช่น ขนาดอนุภาคที่ละเอียดขึ้นจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นของแคนนาบินอยด์ในสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดช่วยให้ผลผลิตน้ำมันดิบสูงสุด และมีสัดส่วนสารพืชเคมีที่สูงขึ้น รวมถึงตัวทำละลายแต่ละชนิดให้สารสกัดที่มีสีแตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้แตกต่างกัน⁸ จากการศึกษาของ Aitor Sainz Martinez และคณะ⁹ พบว่าขนาดอนุภาคที่เหมาะสมในการสกัดกัญชาและกัญชง ควรอยู่ระหว่าง 0.20-2.00 มิลลิเมตร และการศึกษาของ Da Porto C และคณะ¹⁰ พบว่าในการสกัดเมล็ดกัญชงด้วยเทคนิค supercritical carbon dioxide extraction สภาวะที่ให้น้ำหนักน้ำมันเมล็ดกัญชง (hemp seed oil) สูงสุดคือที่อุณหภูมิ 40 °C ความดัน 300 บาร์และขนาดอนุภาค 0.71 มิลลิเมตร ซึ่ง

hemp seed oil นี้ มีองค์ประกอบหลักเป็นกรดไขมัน (fatty acid) และมี CBD ในปริมาณต่ำไม่เกิน 0.003 ppm นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร¹¹ ส่วนการศึกษาการสกัดในส่วนช่อดอกกัญชงเพื่อใช้ทางการแพทย์ของ Hinane Boumghar และคณะ¹² ด้วยเทคนิค supercritical carbon dioxide extraction พบว่าแรงดันที่สูงขึ้นจะให้ปริมาณสารสกัดที่สูงขึ้น โดยผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาปัจจัยด้านขนาดอนุภาคของกัญชงที่มีผลต่อปริมาณของสารสกัด (yield) และปริมาณสารสำคัญ CBD ด้วยเทคนิค supercritical carbon dioxide extraction เนื่องจากการปรับลดขนาดอนุภาคเป็นสิ่งที่สามารถดำเนินการได้ในระดับสถานพยาบาลที่มีทรัพยากรการผลิตจำกัด โดยผลการศึกษาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตยาสมุนไพรในโรงพยาบาลอื่น ๆ ต่อไป

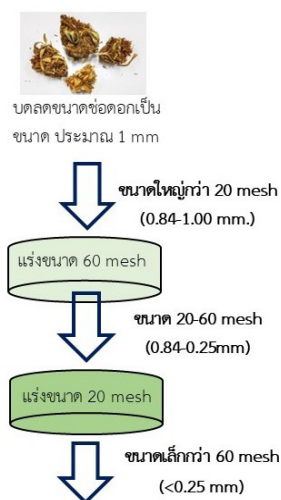
วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของขนาดอนุภาคช่อดอกกัญชงต่อปริมาณของสารสกัด (yield) และปริมาณสารสำคัญแคนนาบิไดออล (CBD) และกรดแคนนาบิไดออลิก (CBDA) ด้วยเทคนิค supercritical carbon dioxide extraction

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. การเตรียมวัตถุดิบกัญชง

ช่อดอกกัญชง (*Cannabis Sativa* L.) ที่ใช้ในการทดลองเป็นส่วนช่อดอกเพศเมีย สายพันธุ์ Charlotte's Angel นำมาคัดแยกสิ่งปนเปื้อนและบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร (ของ Toptech รุ่น ZFJ-200 ประเทศจีน) ให้มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร นำไปอบในตู้อบลมร้อน (ของ MEMMERT รุ่น UN110 ประเทศเยอรมนี) เพื่อให้ความชื้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 ชั่วโมง โดยควบคุมปริมาณความชื้นด้วยวิธี loss on drying ไม่มากกว่า 10 %w/w¹³ ซึ่งการปฏิบัติเดิมโรงพยาบาลย่อยขนาดของกัญชงให้มีขนาด 1 มิลลิเมตรเท่านั้น ในการศึกษาครั้งนี้ได้ประยุกต์การศึกษาข้างต้นมาใช้ กล่าวคือโรงพยาบาลได้ใช้แรงมาตรฐาน (U.S.A. standard sieve ของ HUMBOLDT ขนาด 20 และ 60 mesh ประเทศสหรัฐอเมริกา) ขนาด 60 mesh ซึ่งรูตะแกรงมีขนาด 250 ไมครอน (0.25 มิลลิเมตร) และแรงมาตรฐานขนาด 20 mesh ซึ่งรูตะแกรงมีขนาด 841 ไมครอน (0.84 มิลลิเมตร) เป็นเครื่องมือในการกำหนดขนาดอนุภาคเป็น 3 ขนาดดังรูปที่ 1 กล่าวคือ อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 20 mesh (0.84-1.00 มิลลิเมตร) อนุภาคขนาดกลาง 20-60



รูปที่ 1 วิธีการแยกผงของช่อดอกกัญชงด้วยการร่อนเป็น 3 ขนาด

mesh (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดละเอียดเล็กกว่า 60 mesh (<0.25 มิลลิเมตร) ทำการคัดแยกและชั่งผงของช่อดอกกัญชงด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียด 0.01 กรัม (ของ AND (A&D) รุ่น FX-2000i ประเทศญี่ปุ่น) ตามขนาด ขนาดละ 1,200 กรัม จำนวนขนาดละ 3 ซ้ำ

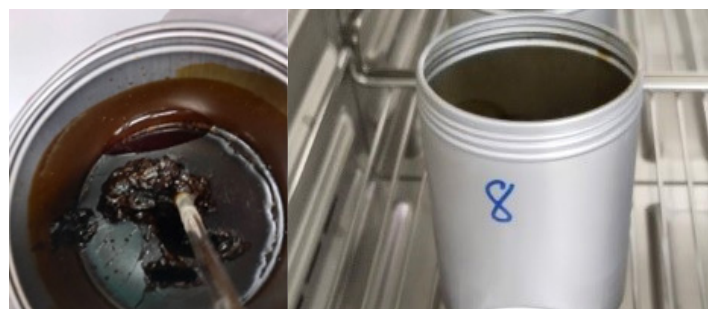
2. การสกัดสารจากดอกกัญชง

นำผงของช่อดอกกัญชงตามขนาดทั้ง 3 ช่วง คือ ขนาดใหญ่กว่า 20 mesh (0.84-1.00 มิลลิเมตร) ขนาดกลาง 20-60 mesh (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และขนาดละเอียดเล็กกว่า 60 mesh (<0.25 มิลลิเมตร) ที่ชั่งเตรียมไว้แล้ว ไปสกัดด้วยเครื่อง supercritical fluid extraction ขนาด 5 ลิตร (ของ Lio Lab รุ่น SE-051B ประเทศไต้หวัน) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ดังรูปที่ 2 กำหนดความดันในการสกัดเท่ากับ 32 เมกะปาส-

กาล (MPa) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส กำหนดอัตราการไหลของของไหลวิกฤตยิ่งยวดของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 2.5-3 ลิตร/นาที ระยะเวลาการสกัดเท่ากับ 120 นาที โดยดัดแปลงจากงานวิจัยของ Hinane Boumghar และคณะ ในปี 2023¹² ทำการสกัดด้วยวิธีเดียวกันทั้ง 3 ขนาด เก็บสารสกัดจากถังแยก (separation) ดังรูปที่ 3 จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักสารสกัดเก็บตัวอย่างในภาชนะอลูมิเนียมปิดสนิทที่ 2-8 องศาเซลเซียส นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเบื้องต้นด้วยเครื่อง high pressure liquid chromatography (HPLC) โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์เดียวกับ การวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัด จากนั้นนำสารสกัดผ่านกระบวนการ decarboxylation ด้วยการนำเข้าอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อกำจัดหมู่คาร์บอกซิลออกจากโมเลกุล ในพืช



รูปที่ 2 เครื่องสกัด supercritical fluid extraction ขนาดบรรจุ 5 ลิตร



รูปที่ 3 ลักษณะสารสกัดที่ได้ในภาชนะบรรจุสารสกัด

กัญชาจะมีสาร cannabinoids ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปที่เป็นกรด เช่น กรดแคนนาบิไดออลิก (CBDA) กรดเตตระไฮโดรแคนนาบินอล (THCA) กรดแคนนาบิเจอร์ออลิก (CBGA) เป็นต้น รูปแบบที่เป็นกรดจะมีหมู่คาร์บอกซิลติดอยู่และเป็นที่รู้กันว่าเป็นรูปแบบที่ออกฤทธิ์น้อยกว่า ซึ่งรูปแบบที่เป็นกรดนี้เป็นสารตั้งต้นของรูปแบบแคนนาบินอยด์ที่ออกฤทธิ์มากขึ้น เช่น CBD, THC, แคนนาบิเจอร์อล (CBG) เป็นต้น บันทึกน้ำหนักสารสกัดที่ได้หลังกระบวนการ decarboxylation

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด

ซึ่งน้ำหนักสารสกัดที่ผ่านกระบวนการ decarboxylation ทั้งหมด จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญของกัญชา คือ CBD และ CBDA โดยวิเคราะห์เทียบกับสารละลายมาตรฐานของ CBD ที่เตรียมในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.5-100 µg/ml และสารละลายมาตรฐาน CBDA ที่เตรียมในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.5-100 µg/ml ด้วยเครื่อง HPLC (ของ SHIMADZU รุ่น Prominence-ILC 2030 ประเทศญี่ปุ่น) วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Lab-Solutions โดยใช้ column NexLeaf CBX for Potency (C18), 2.7µm x 4.6 x 150 mm กำหนดสภาวะของระบบ^{14,15} detector คือ photodiode array detector ในการวิเคราะห์หาความเข้มข้น อุณหภูมิการวิเคราะห์ที่

35 องศาเซลเซียส อัตราการไหล (flow rate) เท่ากับ 1.6 mL/min ใช้ความยาวคลื่น 220 nm กำหนด mobile phase A คือ 0.085% orthophosphoric acid ใน de-ionized water และ mobile phase B คือ 0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile แบบ gradient ดังแสดงในตารางที่ 1

ปริมาณของสารสำคัญ CBD และ CBDA ในตัวอย่างสารสกัดจะคำนวณปริมาณสารสำคัญเป็น CBD (%w/w) และ CBDA (%w/w) และคำนวณหาปริมาณสารสำคัญ CBD (กรัม) CBDA (กรัม) และคำนวณเป็นปริมาณ CBD รวม (total CBD)¹⁶ (กรัม) ที่ได้จากการคำนวณสารสกัดของช่อดอกกัญชา 1,200 กรัม ในแต่ละขนาด และคำนวณ %total CBD ที่ได้จากการสกัดด้วยสมการ total CBD = CBD + (CBDA x 0.877)

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองจะรายงานค่าข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มตัวอย่างจะใช้การทดสอบการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, one-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's honest significant different (HSD) กำหนดค่า p-value <

ตารางที่ 1 Solvent elution gradients ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
	(0.085% orthophosphoric acid ใน deionized water)	(0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile)
0.01	30	70
3.00	30	70
7.00	28	72
7.10	5	95
8.00	5	95
8.10	30	70
10.00	30	70

0.05 หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยโปรแกรม STATA เวอร์ชัน 14.2

ผลการวิจัย

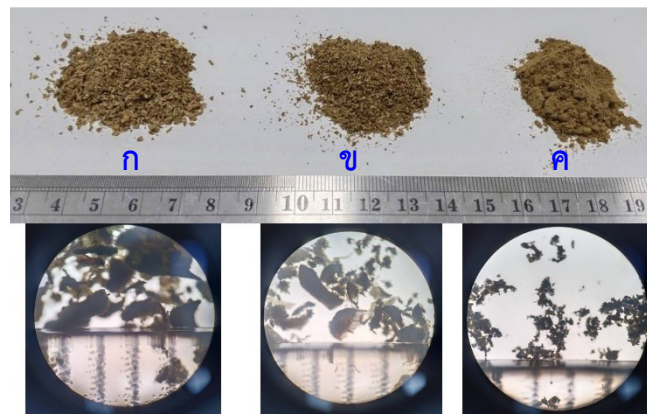
1. ผลการเตรียมวัตถุดิบกัญชง

ช่อดอกกัญชง (*Cannabis Sativa* L.) ที่ใช้ในการทดลองเป็นส่วนช่อดอกเพศเมียสายพันธุ์ Charlotte's Angle หลังจากบดหยาบขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร นำไปอบในตู้อบลมร้อนเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นบดเพื่อแยกขนาดอนุภาคเป็น 3 ขนาด คือ อนุภาคขนาดใหญ่ 20 mesh (0.84-1.00 มิลลิเมตร) อนุภาคขนาดกลาง 20-60 mesh

(0.25-0.84 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดละเอียดเล็กกว่า 60 mesh (<0.25 มิลลิเมตร) โดยมีลักษณะของผงสมุนไพรแสดงดังรูปที่ 4

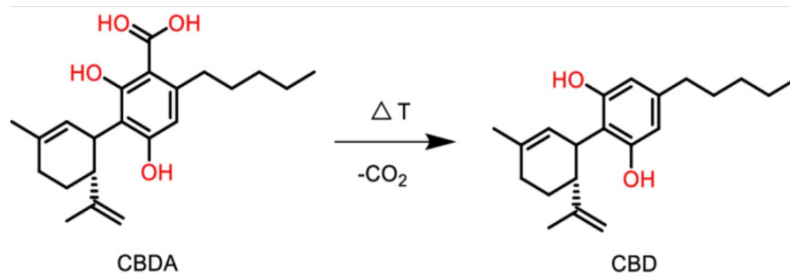
2. ผลการสกัดสารจากดอกกัญชง

ผลการเก็บสารสกัดจากดอกกัญชง พบว่าสารสกัดที่ได้ยังคงมีน้ำมันออกมากับชั้นน้ำมันของสารสกัด ซึ่งเกิดจากความชื้นของผงดอกกัญชงและความชื้นภายในระบบของเครื่องสกัด นำไปผ่านกระบวนการ decarboxylation ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง¹⁷ เพื่อกำจัดหมู่กรดคาร์บอกซิลิก (-COOH) ออกจากโมเลกุลของ CBDA ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็น CBD และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีปฏิกิริยาทางเคมีดังรูปที่ 5



รูปที่ 4 ขนาดผงของช่อดอกกัญชงและภาพกำลังขยาย 40 เท่า หลังการร่ง 3 ขนาด คือ

- (ก) อนุภาคขนาดใหญ่กว่า 20 mesh (0.84 มิลลิเมตร)
- (ข) อนุภาคขนาดกลาง 20-60 mesh (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และ
- (ค) อนุภาคขนาดละเอียด เล็กกว่า 60 mesh (<0.25 มิลลิเมตร)



รูปที่ 5 ปฏิกิริยา decarboxylation เปลี่ยนกรดแคนนาบิไดออลิก (CBDA) เป็น แคนนาบิไดออล (CBD)
(จาก <https://www.cannify.us/education/the-plant/chemistry/introduction-to-cbd/>)

โดยน้ำหนักสารสกัดที่ได้ของผงดอกกัญชงทั้ง 3 ขนาด หลังกระบวนการ decarboxylation ที่มีการกำจัดน้ำออกจากโมเลกุลของสารสกัด ส่งผลให้น้ำหนักสารสกัดที่ได้ลดลง โดยอนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดเล็ก (<0.25 มิลลิเมตร) มีน้ำหนักสารสกัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value <0.05) ดังแสดงในตารางที่ 2

จากน้ำหนักสารสกัดที่ได้ เมื่อนำมาคำนวณร้อยละของสารสกัดหลังการทำ decarboxylation พบว่าอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดเล็ก (<0.25 มิลลิเมตร) ด้ร้อยละของน้ำหนักสารสกัดเท่ากับ 11.71 ± 0.91 , 12.94 ± 0.43 และ 15.74 ± 1.33 ตามลำดับ โดยร้อยละของน้ำหนักสารสกัดของอนุภาคขนาดเล็ก (<0.25 มิลลิเมตร) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value <0.05) เมื่อเทียบกับทั้งอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดกลาง

(0.25-0.84 มิลลิเมตร)

3. ผลการวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัด

วิเคราะห์สารสกัดที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการ decarboxylation เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ CBD และ CBDA ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า CBD จะออกมาที่เวลา 3.7-3.8 นาที และ CBDA จะออกมาที่เวลา 3.1-3.2 นาที จากโครมาโทแกรมจะพบว่าขนาดของพีค CBD มีขนาดสูงขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการ decarboxylation ในขณะที่ขนาดของพีค CBDA ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปฏิกิริยาการกำจัดหมู่กรดคาร์บอกซิลิกออกจาก CBDA และเกิดเป็น CBD เพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 6

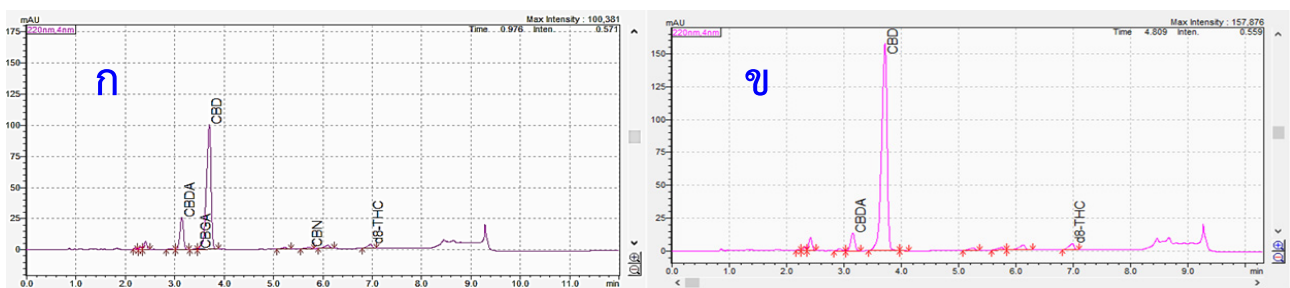
สารละลายมาตรฐาน CBD ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.5-100 $\mu\text{g/ml}$ มีสมการเส้นตรง คือ $y = 13180X - 9252.8$

มีค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.9986

สำหรับสารละลายมาตรฐาน CBDA ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.5-100 $\mu\text{g/ml}$ มีสมการเส้นตรง คือ

ตารางที่ 2 น้ำหนักของสารสกัดก่อนและหลังกระบวนการ decarboxylation ที่ได้จากการสกัดช่อดอกกัญชงแยกตามขนาดของผงช่อดอกกัญชง

ขนาดอนุภาคของผงช่อดอกกัญชง (มิลลิเมตร)	น้ำหนักเฉลี่ยสารสกัดที่ได้ (กรัม)		p -value
	ก่อน decarboxylation	หลัง decarboxylation	
อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	161.54 ± 20.28	140.46 ± 10.91	0.077
อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	177.54 ± 5.29	155.22 ± 5.19	<0.001
อนุภาคขนาดเล็ก (<0.25)	204.70 ± 20.69	188.87 ± 15.98	0.030



รูปที่ 6 โครมาโทแกรมของสารสกัดจากการสกัดผงของช่อดอกกัญชงอนุภาคขนาดเล็ก (<0.25 มิลลิเมตร) (ก) ก่อนกระบวนการ decarboxylation และ (ข) หลังกระบวนการ decarboxylation

$$y = 14699X - 11421$$

มีค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.9983

โดยปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างทั้ง CBD และ CBDA จากการสกัดผงของช่อดอกกัญชงในแต่ละขนาดอนุภาค เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนและหลังกระบวนการ decarboxylation พบว่า CBDA เกิดกระบวนการ decarboxylation เปลี่ยนเป็น CBD ส่งผลให้ปริมาณ CBD เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ CBDA ที่ลดลง ในทุก ๆ สารสกัดที่สกัดจากอนุภาคขนาดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

จากผลการศึกษาผลที่ได้จากการสกัดตัวอย่างน้ำหนัก 1,200 กรัม ได้น้ำหนักของสารสกัดและสามารถคำนวณร้อยละของน้ำหนักสารสกัดที่ได้โดยอนุภาคขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) ให้ร้อยละของน้ำหนักสารสกัดสูงสุด รองมาคือ อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร)

ตามลำดับ และผลการคำนวณปริมาณสาร CBD และ CBDA จากความเข้มข้นของ CBD และ CBDA กับน้ำหนักของสารสกัดจากการทดลองในแต่ละขนาดอนุภาคดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อนำปริมาณสารสำคัญ CBD และ CBDA ที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณเป็นปริมาณ CBD รวม (total CBD) โดยผลการคำนวณ total CBD และร้อยละของ total CBD ที่ได้จากการสกัดแยกตามขนาดอนุภาค พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละขนาดอนุภาคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value <0.05) ดังตารางที่ 5

ผลการเปรียบเทียบความแตกต่าง total CBD และร้อยละของ total CBD พบว่าอนุภาคขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) ให้ค่าของ total CBD และร้อยละของ total CBD ที่ได้จากการสกัดมากกว่าขนาดอนุภาคขนาดกลางและอนุภาคขนาดใหญ่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value <0.05) ส่วนปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้จาก

ตารางที่ 3 ปริมาณ CBD และ CBDA ก่อนและหลังกระบวนการ decarboxylation ในสารสกัด

ขนาดอนุภาค (มิลลิเมตร)	สถานะ	สารสำคัญ	ปริมาณสารสำคัญในตัวอย่าง (ไมโครกรัม)	สารสำคัญในสารสกัด (%w/w)
อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	ก่อน decarboxylation	CBD	47.15±10.35	34.67±2.47
		CBDA	11.86±3.79	8.61±1.08
	หลัง decarboxylation	CBD	82.78±8.65	46.47±1.97
		CBDA	4.67±0.55	2.63±0.17
อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	ก่อน decarboxylation	CBD	48.07±1.42	34.10±0.39
		CBDA	12.91±0.31	9.16±0.18
	หลัง decarboxylation	CBD	71.93±7.08	43.55±0.95
		CBDA	5.95±0.57	3.61±0.28
อนุภาคขนาดละเอียด (<0.25)	ก่อน decarboxylation	CBD	46.57±4.32	39.25±3.76
		CBDA	10.62±1.28	8.95±1.08
	หลัง decarboxylation	CBD	79.31±0.36	44.49±0.68
		CBDA	5.98±0.85	3.35±0.45

ตารางที่ 4 น้ำหนักสารสกัดและปริมาณ CBD และ CBDA ที่ได้จากกระบวนการสกัด

ขนาดอนุภาค (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก สารสกัดที่ได้ (กรัม)	ร้อยละของสารสกัด		สารสำคัญ	ปริมาณสารสำคัญ ที่ได้จากการสกัด (กรัม)
		หลังการทำ decarboxylation	p-value		
อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	140.96±10.91	11.71 ± 0.91	0.006*	CBD	65.15±3.02
				CBDA	3.70±0.44
อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	155.22±5.19	12.94 ± 0.43		CBD	67.63±3.44
				CBDA	5.61±0.57
อนุภาคขนาดเล็กละเอียด (<0.25)	188.87±15.98	15.74 ± 1.33		CBD	83.97±6.13
				CBDA	6.36±1.38

* นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 5 ผลการคำนวณ total CBD และร้อยละของ total CBD ที่ได้จากกระบวนการสกัด

ขนาดอนุภาค (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยปริมาณ total CBD ที่ได้ (กรัม)	p-value	ค่าเฉลี่ยร้อยละของ total CBD ที่ได้	p-value
อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	68.39±2.67	0.05*	5.7±0.27	0.006*
อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	72.55±3.20		6.05±0.33	
อนุภาคขนาดเล็กละเอียด (<0.25)	89.55±5.98		7.46±0.61	

* นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 6 ผลการเปรียบเทียบ total CBD และร้อยละของ total CBD ระหว่างแต่ละขนาดอนุภาค

การเปรียบเทียบ		Mean difference total CBD ที่ได้ (กรัม)	p-value	Mean difference %total CBD	p-value
อนุภาคขนาดเล็กละเอียด (<0.25)	กับ อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	-17.003	0.016*	-1.420	0.017*
อนุภาคขนาดเล็กละเอียด (<0.25)	กับ อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	-21.153	0.006*	-1.760	0.006*
อนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84)	กับ อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00)	-4.150	0.611	-0.350	0.614

* นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

อนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) และอนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) พบว่าให้ค่าของ total CBD และร้อยละของ total CBD ที่ได้จากการสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p -value >0.05) ดังข้อมูลในตารางที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ total CBD ที่ได้ พบว่าอนุภาคขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) มีค่าสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 89.55 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 7.46) รองมาคืออนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.55 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 6.05) และอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.39 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 5.70) ตามลำดับ

อภิปรายผล

การสกัดกัญชง (*Cannabis Sativa* L. Subsp. *Sativa*) ด้วยเครื่อง supercritical fluid extraction โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย โดยกำหนดความดัน 32 เมกะปาสกาล (MPa) อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของของไหลวิกฤตยิ่งยวดของคาร์บอนไดออกไซด์ 2.5-3 ลิตร/นาที่ โดยดัดแปลงวิธีการสกัดมาจากงานวิจัยของ Hinane Boumghar และคณะ ในปี 2023¹² ขนาดนำร่อง (pilot scale) ปริมาตร 5 ลิตร ผลการสกัดพบว่าสารสกัดจากถังแยก (separation) ที่ได้มีน้ำปนออกมา ซึ่งเกิดจากความชื้นของผงกัญชงและความชื้นภายในระบบของเครื่องสกัด โดยความชื้นนี้อาจเป็นสาเหตุให้ความเข้มข้นของก๊าซ carbon dioxide ไม่สม่ำเสมอในแต่ละตัวอย่างการสกัด หากมีการควบคุมความชื้นก่อนการสกัดอาจทำให้คุณภาพการสกัดดีขึ้น สารสกัดที่ได้หลังผ่านกระบวนการ decarboxylation ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ทำให้ปริมาณของสารสำคัญ CBD จากการสกัดของอนุภาคทั้ง 3 ขนาดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณสารสำคัญ CBDA เนื่องจากการเปลี่ยนโมเลกุลสาร CBDA เป็น CBD

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคที่ให้ร้อยละของสารสกัด (yield) สูงสุดคือ การสกัดจากอนุภาคขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) มีค่าเฉลี่ยร้อยละของสารสกัดเท่ากับ

15.74 รองมาคือ การสกัดจากอนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) มีค่าเฉลี่ยร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 12.94 และการสกัดจากอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.71 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการคำนวณ total CBD โดยอนุภาคของช่อดอกกัญชงขนาดละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) จะให้ร้อยละของ total CBD เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7.46 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับอนุภาคขนาดกลางและอนุภาคขนาดใหญ่ รองลงมาคืออนุภาคขนาดกลาง (0.25-0.84 มิลลิเมตร) จะให้ร้อยละของ total CBD เฉลี่ยเท่ากับ 6.05 และอนุภาคขนาดใหญ่ (0.84-1.00 มิลลิเมตร) จะให้ร้อยละของ total CBD เฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 5.70 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sai Uday Kumar Reddy Sagili และคณะ³ ที่ทำการศึกษากัญชงด้วยเครื่อง supercritical fluid extraction โดยใช้ ethanol, butanol และ hexane เป็นตัวทำละลาย โดยขนาดอนุภาคที่เล็กกว่าจะมีพื้นที่ผิวที่มากขึ้นในการสัมผัสกับตัวทำละลาย ทำให้กระบวนการสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่ในบางการศึกษาพบว่าค่าของขนาดอนุภาคที่เหมาะสมช่วงหนึ่งเท่านั้นที่จะสามารถสกัดสารได้ในปริมาณมาก เช่น เมื่อขนาดอนุภาคของ *Cleome coluteoides* Boiss. ที่ให้พื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นจะทำให้ผลผลิตที่ได้เพิ่มขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง เมื่อเพิ่มขึ้นไปอีกจะส่งผลให้ผลผลิตลดลง¹⁷ หากพิจารณาถึงต้นทุนของยา 1% CBD cream 30 กรัม การเพิ่มร้อยละของ total CBD จากร้อยละ 5.08 เป็น 7.46 จะทำให้ต้นทุนกลุ่มสารเคมีของยา 1% CBD cream ขนาด 30 กรัม ลดลงจาก 150.70 บาท เป็น 103.60 บาท ลดลงประมาณร้อยละ 34.86 ดังนั้น จากผลการศึกษาข้างต้น โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศรได้พิจารณาปรับปรุงแนวทางการสกัดกัญชงโดยกำหนดขนาดอนุภาคของกัญชงในการสกัดให้น้อยกว่า 0.25 มิลลิเมตร ด้วยการผ่านร่อน 60 mesh (และอาจเพิ่มการควบคุมไม่ให้เล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร เพราะอาจทำให้เกิดการตันของแผ่นกรองสแตนเลสของเครื่องสกัด supercritical fluid extraction ได้) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสาร

สำคัญ การศึกษานี้ยังคงมีข้อจำกัดในการกำหนดขนาดอนุภาคละเอียดที่ไม่ได้ครอบคลุมถึงขนาดต่ำสุดของอนุภาคที่ใช้ สามารถกำหนดได้เพียงขนาดที่ต่ำกว่า 0.25 มิลลิเมตร อีกทั้งต้องมีการปรับขนาดอนุภาคและการวัดขนาดให้มีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งยังพบอนุภาคมีลักษณะยาวกว่าขนาดที่กำหนดแต่ยังคงผ่านแรงตามขนาดที่ระบุได้ โดยการพัฒนาประสิทธิภาพการสกัดอาจเพิ่มเติมการศึกษาในด้านปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความชื้นของกัญชงหลังแยกขนาดอนุภาคก่อนการสกัดซ้ำ ปริมาณน้ำที่อยู่ในสารสกัด อุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของ carbon dioxide ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยพบว่าขนาดของอนุภาคกัญชงมีผลกับการสกัดสาร CBD ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบว่าอนุภาคกัญชงขนาดเล็กให้ปริมาณสารสกัดและ total CBD มากกว่าอนุภาคกัญชงขนาดใหญ่ ซึ่งจะเป็แนวทางในการกำหนดขนาดของกัญชงให้น้อยกว่า 0.25 มิลลิเมตร ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสาร CBD ให้ได้สารสำคัญในการผลิตยาในโรงพยาบาลมากขึ้น มียาใช้อย่างต่อเนื่องในการนำไปใช้รักษาพยาบาล รวมทั้ง

ต้นทุนการผลิตที่ลดลง ช่วยส่งเสริมการพึ่งพาตนเองของประเทศด้านสุขภาพด้วยสมุนไพร

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ เป็นส่วนหนึ่งในการพัฒนากระบวนการผลิตยาเพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดขนาดอนุภาคดอกกัญชงให้มีประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้นด้วยเครื่อง supercritical fluid extraction ขนาด 5 ลิตร โดยร้อยละของ total CBD ของโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร เดิมประมาณร้อยละ 5.08 แต่การใช้ขนาดอนุภาคละเอียด (<0.25 มิลลิเมตร) ร้อยละของ total CBD สูงสุดเฉลี่ยเป็นร้อยละ 7.46 นั่นคือเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 46.85 ส่งผลให้ได้ปริมาณสาร CBD เพิ่มขึ้น แนวทางการกำหนดขนาดอนุภาคสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการสกัดดอกกัญชงได้ โดยหากเครื่องสกัด supercritical fluid extraction มีการเปลี่ยนขนาดควรต้องทำการทดสอบสภาวะการสกัด เช่น อุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของ carbon dioxide ระยะเวลาการสกัด ควบคู่กับขนาดอีกครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น รวมถึงขนาดของตะแกรงในคุณลักษณะเฉพาะของเครื่องสกัด โดยที่ขนาดอนุภาคต้องไม่เล็กกว่าช่องตะแกรงที่อาจเกิดการอุดตันส่งผลถึงการสกัดได้

เอกสารอ้างอิง

1. Tsiogkas SG, Apostolopoulou K, Papagianni ED, Mavropoulos A, Dardiotis E, Zafiriou E, et al. Cannabidiol mediates *in vitro* attenuation of proinflammatory cytokine responses in psoriatic disease. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2024;9(1):134-46. doi: 10.1089/can.2023.0237.
2. Zamansky M, Yariv D, Feinshtein V, Ben-Shabat S, Sintov AC. Cannabidiol-loaded lipid-stabilized nanoparticles alleviate psoriasis severity in mice: a new approach for improved topical drug delivery. *J Molecules.* 2023;28(19):6907. doi: 10.3390/molecules28196907.
3. Puaratanaarunkon T, Sittisaksomjai S, Sivapornpan N, Pongcharoen P, Chakkavittumrong P, Ingkaninan K, et al. Topical cannabidiol-based treatment for psoriasis: a dual-centre randomized placebo-controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022;36(9):e718-20. doi: 10.1111/jdv.18215.
4. Fishedick JT, Hazekamp A, Erkelens T, Choi

- YH, Verpoorte R. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry*. 2010;71(17-18):2058-73. doi: 10.1016/j.phytochem.2010.10.001.
5. De Prato L, Ansari O, Hardy GEStJ, Howieson J, O'Hara G, Ruthrof KX. The cannabinoid profile and growth of hemp (*Cannabis sativa* L.) is influenced by tropical daylengths and temperatures, genotype and nitrogen nutrition. *Ind Crops Prod*. 2022;178:114605. doi: 10.1016/j.indcrop.2022.114605.
6. Qamar S, Torres YJM, Parekh HS, Robert Falconer J. Extraction of medicinal cannabinoids through supercritical carbon dioxide technologies: a review. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2021;1167:122581. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122581.
7. กรองกาญจน์ กิ่งแก้ว. หลักการของการสกัดสีเขียวของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี [อินเทอร์เน็ต]*. 2562 [สืบค้นเมื่อ 10 ก.พ. 2568];34 (2):28-29. สืบค้นจาก: https://opac.tistr.or.th/Multimedia/STJN/2019-3402/tistr-stjn_3402-06.pdf
8. Sagili SUKRU, Addo PW, MacPherson S, Shearer M, Taylor N, Paris M, et al. Effects of particle size, solvent type, and extraction temperature on the extraction of crude cannabis oil, cannabinoids, and terpenes. *ACS Food Sci Technol*. 2023;3(7):1203-15. doi: 10.1021/acsfoodscitech.3c00129.
9. SainzMartinezA, LanaridiO, StigelK, Halbwirth H, Schnürch M, Bica-Schröder K. Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis. *Nat Prod Rep*. 2023;40(3):676-717. doi: doi: 10.1039/D2NP00059H.
10. Da Porto C., Voinovich D., Decorti D., Natolino A. Response surface optimization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) oil yield and oxidation stability by supercritical carbon dioxide extraction. *J Supercrit Fluids*. 2012;68:45-51. doi: 10.1016/j.supflu.2012.04.008.
11. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 425) พ.ศ. 2564 เรื่อง เมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง โปรตีนจากเมล็ดกัญชง และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของเมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง หรือโปรตีนจากเมล็ดกัญชง. [สืบค้นเมื่อ 2 ก.ค. 2562]. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 49 ง (ลงวันที่ 4 มีนาคม พ.ศ.2564). สืบค้นจาก: <https://food.fda.moph.go.th/food-law/announ-moph-425/>
12. Boumghar H, Sarrazin M, Banquy X, Boffito DC, Patience GS, Boumghar Y. Optimization of supercritical carbon dioxide fluid extraction of medicinal cannabis from Quebec. *Processes*. 2023;11(7):1953. doi: 10.3390/pr11071953.
13. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. สำนักยาและวัตถุเสพติด. Thai Herbal Pharmacopoeia 2021 Supplement 2024 [อินเทอร์เน็ต]. นนทบุรี: สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2567 [สืบค้นเมื่อ 10 ก.พ. 2568]. สืบค้นจาก: <https://bdn.go.th/thp/ebook/qQOcBKtlpR9gC3q0GT5gMJq0qT5co3uw> [ต้องใช้รหัสผ่าน]
14. Wilson WB, Abdul-Rahman M. Determination of 11 cannabinoids in hemp plant and oils by liquid chromatography and photodiode array detection. *Chromatographia*. 2022;85(1):115-25. doi: 10.1007/s10337-021-04114-y.
15. Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Gallina Toschi T. Fast detection of 10 cannabinoids by

- RP-HPLC-UV method in *Cannabis sativa* L. *Molecules*. 2019;24(11):2113. doi: 10.3390/molecules24112113.
16. Sarma ND, Waye A, ElSohly MA, Brown PN, Elzinga S, Johnson HE, et al. Cannabis inflorescence for medical purposes: USP considerations for quality attributes. *J Nat Prod*. 2020;83(4):1334-51. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01200.
17. Souza AAF, Silva AFM, Abreu LR, Silva TF, Greco G, Santos SS, et al. Medicinal uses of *Cannabis* sp. *Res Soc*. 2021;10(7):e58010716930. doi: 10.33448/rsd-v10i7.16930.
18. Sodeifian G, Ardestani NS, Sajadian SA, Ghorbandoost S. Application of supercritical carbon dioxide to extract essential oil from *Cleome coluteoides* Boiss: Experimental, response surface and grey wolf optimization methodology. *J Supercrit Fluids*. 2016;114:55-63. doi: 10.1016/j.supflu.2016.04.006.