

คุณค่าทางโภชนาการ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของชาใบกัญชา

Nutritional Value, Antioxidant Activity and Microbiological Quality of *Cannabis sativa* Leaf Tea

บุญเลี้ยง สุพิมพ์¹, สุระเดช ไชยตอกเกีย¹, อัญชลี โกกะนุช², สุทิน แสงชมภู³, นภัสสร วงเปริยาว^{1*}

Bunliang Suphim¹, Suradech Chaitokkia¹, Anchalee Kokanuch², Sutin Sangchompoo³, Napatson Wongpriaw^{1*}

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาปริมาณสารสำคัญ (delta-9-tetrahydro-cannabinol (THC) และ cannabinalol CBD) และวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของชาใบกัญชา โดยนำเฉพาะส่วนของใบกัญชามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาใบกัญชา และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ THC และ CBD คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และคุณภาพด้านจุลชีววิทยา วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า ผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาใบกัญชามีปริมาณสาร THC เท่ากับ 0.303 g/100g และ CBD เท่ากับ 0.109 g/100g มีความชื้น ร้อยละ 5.97 ± 0.02 มีคุณค่าทางโภชนาการประกอบด้วยโปรตีน ร้อยละ 5.87 ± 0.03 โดยน้ำหนัก ไขมัน ร้อยละ 1.35 ± 0.01 โดยน้ำหนัก คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 12.62 ± 0.03 โดยน้ำหนัก และเถ้า ร้อยละ 2.66±0.01 โดยน้ำหนัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 79.10±0.60 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ มิลลิลิตรของตัวอย่าง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 131.45 ± 3.56 ไมโครกรัมสมมูลของTroloxต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง และชาใบกัญชามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, รา และยีสต์ ที่ปนเปื้อนในชา ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกตัว ผลการศึกษาในครั้งนี้อาจสามารถนำไปถ่ายทอดให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชนผู้ปลูกกัญชาและประชาชนที่สนใจเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาใบกัญชาให้มีคุณภาพเป็นไปตามเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

คำสำคัญ: คุณค่าทางโภชนาการ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, คุณภาพด้านจุลชีววิทยา, ชาใบกัญชา

Citation:

Suphim B, Chaitokkia S, Kokanuch A, Sangchompoo S, Wongpriaw N. Nutritional value, antioxidant activity and microbiological quality of cannabis sativa leaf tea. Health Sci J Thai 2024; 6(3): 85-94. (in Thai); <https://doi.org/10.55164/hsjt.v6i3.264855>

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย 42000

² คณะวิทยาการจัดการ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย 42000

³ สำนักงานสาธารณสุขอำเภอท่าลี่ จังหวัดเลย 42140

¹ Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University 42000, Thailand

² Faculty of Management Science, Loei Rajabhat University 42000, Thailand

³ Thali District Public Health Office, Loei, 42140, Thailand

* Corresponding author: wannusa_2528@hotmail.com, Tel. 084-4008055

Received: Sep 8, 2023; Revised: Apr 8, 2024; Accepted: Jul 27, 2024

<https://doi.org/10.55164/hsjt.v6i3.264855>

Abstract

The purposes of this research are: to figure out the essence quantity for delta-9-tetrahydro-cannabinol (THC), and cannabinal (CBD) and to examine the nutritional value, antioxidant activity, and microbiological quality of cannabis leaf tea. Especially the part of leaf of *Cannabis sativa* to develop a prototype of cannabis tea product. Cannabis leaf tea was analyzed to figure out the THC and CBD quantity, nutritional value, total phenolic content, antioxidant activity, and microbiological quality. Data were analyzed by descriptive statistics such as frequency, percentage, average, and standard deviation. The results showed that the prototype of cannabis leaf tea product had the substances was 0.303g/100g THC and 0.109g/100g CBD. The moisture in the dried leaf for tea product was 5.97 ± 0.02 %w/w. Tea product's nutrition consists of protein was 5.87 ± 0.03 %w/w, fat was 1.35 ± 0.01 %w/w, carbohydrate was 12.62 ± 0.03 %w/w, and ash was 2.66 ± 0.01 %w/w. Total phenolic content was 79.10 ± 1.26 μ g GAE/ml sample. Cannabis leaf tea had antioxidant activity which showed DPPH free radical inhibition was 131.45 ± 3.56 μ g TEAC/ml sample. Cannabis leaf tea had the quantitative of total microbes, coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, fungi, and yeast within acceptable limits. This study may be conveyed to community enterprises where *Cannabis sativa* growers and people who are interested in developing cannabis leaf tea products whose quality is within legal specifications and safe for consumers.

Keywords: Nutritional value, Antioxidant activity, Microbiological quality, *Cannabis sativa* leaf tea

บทนำ

กัญชา (*Cannabis sativa*) เป็นพืชในวงศ์ Cannabaceae โดยสายพันธุ์ที่พบได้มากในประเทศไทย คือ สายพันธุ์ *Cannabis sativa* เจริญเติบโตได้ดีในภูมิประเทศที่มีอากาศแบบร้อนชื้น⁽¹⁾ สารสำคัญที่เป็นตัวออกฤทธิ์หลักในกัญชา คือ สาร delta-9-tetrahydro-cannabinol (THC) เป็นสารที่ออกฤทธิ์จิตและประสาท ทำให้มีอาการเคลิบเคลิ้ม มึนเมา รู้สึกผ่อนคลาย เป็นต้น จึงมีการนำสาร THC มาใช้ในทางการแพทย์ เช่น ใช้เป็นยาแก้ปวด ยาต้านอาเจียน ยาลดการอักเสบ และยาต้านออกซิเดชั่น และสาร cannabinal (CBD) เป็นสารที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท มีฤทธิ์ลดอาการปวด อาการอักเสบ และลดความกังวลได้ นำมาใช้ทางการแพทย์เพื่อระงับอาการวิตกกังวล ลดอาการคลื่นไส้อาเจียน และลดอาการอักเสบของแผล⁽²⁻³⁾ จากข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกัญชา พบว่า สารสกัดจากกัญชา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽⁴⁾ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์⁽⁵⁾ ฤทธิ์ต้านการอักเสบของปอดที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อโคโรนาไวรัส-2019⁽⁶⁾ ฤทธิ์ลดอาการคลื่นไส้อาเจียน⁽⁷⁾ ฤทธิ์ต้านอาการชัก⁽⁸⁾ และฤทธิ์ช่วยให้นอนหลับ โดยพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ดื่มชาที่มีส่วนผสมของใบกัญชาร้อยละ 5 และ 7 มีคุณภาพการนอนหลับดีขึ้นแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้ดื่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽⁹⁾ นอกจากนี้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของกัญชาที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังพบว่าการได้รับสาร THC จากกัญชายังทำให้เกิดทั้งพิษเฉียบพลัน เช่น มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิตต่ำ กระวนกระวาย กลัว และประสาทหลอน และพิษเรื้อรังจะส่งผลกระทบต่อการทำงาน

ของสมอง ความนึกคิด ความจำ การทำงาน การนอนหลับ การเดินของหัวใจ ความดันโลหิตต่ำ ถ้ายังใช้ต่อเนื่องจะทำให้มีอาการป่วยทางจิต หลอน หัวใจเต้นเร็ว ความดันโลหิตต่ำ อ่อนภูมिर่างกายลดลง และเคลื่อนไหวช้า⁽¹⁰⁾ นโยบายเกี่ยวกับกัญชาประเทศไทย จากเดิมตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 ระบุไว้ว่า กัญชาอยู่ในกลุ่มยาเสพติดให้โทษ ประเภทที่ 5 โดยห้ามมิให้มีการนำมาผลิตเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์ ต่อมาพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ.2562 ระบุใจความสำคัญเกี่ยวกับการผ่อนปรนในการนำกัญชามาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ การรักษาผู้ป่วย การศึกษาวิจัยและพัฒนาได้⁽¹¹⁾ สำหรับการส่งเสริมสมุนไพรกัญชาเป็นพืชเศรษฐกิจ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้มีการออกกฎหมายใหม่และปรับปรุงกฎหมายต่าง ๆ ที่มีอยู่เดิมเพื่อเปิดทางสู่การนำไปใช้เชิงพาณิชย์มากขึ้น โดยการออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2565 เพื่อยกเว้นสารสกัดจากกัญชาที่มีสารเตตราไฮโดรแคนบินอล (tetrahydrocannabinol, THC) ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก เฉพาะส่วนที่ได้รับอนุญาตให้สกัดจากพืชกัญชาที่ปลูกภายในประเทศ และสารสกัดจากเมล็ดของพืชกัญชาที่ได้จากการปลูกภายในประเทศ⁽¹²⁾ และรัฐบาลได้มีการส่งเสริม สนับสนุนให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชนทั่วประเทศได้ปลูกกัญชาเป็นพืชเศรษฐกิจนั้น โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านเมียงได้ร่วมกับกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีไทบ้านจำนวน 18 ครัวเรือนปลูกต้นกัญชาที่ให้ผลผลิตใบ 50 กิโลกรัม ลำต้น 70 กิโลกรัม และราก 20 กิโลกรัม ทดลองผลิตชากัญชาจากส่วน

ของราก ลำต้น และใบดังกล่าว โดยผลผลิตที่ได้อยู่ในรูปแบบของชาสด และชาแห้งผงบรรจุซอง โดยมีเป้าหมายหลักทางการแพทย์และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ ทั้งนี้ได้แจ้งและได้รับการอนุญาตจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเลย ใบอนุญาตเลขที่เลย-1-1/2565 เรื่อง ใบอนุญาตให้ศึกษาวิจัยสมุนไพรควบคุมตามพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พ.ศ. 2542

กัญชาเป็นพืชที่มีทั้งประโยชน์และโทษมหันต์ หากนำมาใช้โดยขาดความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องอาจทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพได้ และจากการลงพื้นที่เพื่อสำรวจข้อมูลเพิ่มเติมโดยไม่ได้นัดหมาย คณะผู้วิจัยได้สัมภาษณ์ผู้ที่เกี่ยวข้องพบว่า กลุ่มเกษตรกรวิสาหกิจชุมชนยังขาดองค์ความรู้ที่ถูกต้องเกี่ยวกับเก็บใบกัญชาเพื่อการแปรรูป กระบวนการแปรรูปกัญชาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องทำตามหลักวิชาการ จากเหตุผลดังกล่าวจึงมีวัตถุประสงค์การวิจัยพัฒนาเพื่อสร้างสรรค์และยกระดับผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาจากใบกัญชา โดยเน้นความถูกต้องตามหลักวิชาการและเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ผลการวิจัยในครั้งนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ได้หลายมิติประกอบด้วย 1) มิติเชิงเศรษฐกิจ ชุมชนบนพื้นฐานของกระบวนการผลิตที่ถูกต้อง เกษตรกรกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสามารถสร้างรายได้จากต้นกัญชาได้โดยไม่ผิดกฎหมาย รวมทั้งลดความเสี่ยงที่อาจส่งผลให้เกิดโทษต่อร่างกายเนื่องจากเกิดจากความไม่รู้ในการผลิต 2) มิติทางด้านสุขภาพ โดยหน่วยงานรับอนุญาตการปลูกและทดลองการใช้ประโยชน์จากกัญชาสามารถนำผลผลิตจากการสร้างสรรค์ไปสู่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แผนไทย และ 3) มิติเชิงสังคมที่เกิดจากความเข้มแข็ง การรู้จักสามัคคีของสมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีบ้าน อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเลย ที่เกิดจากการบูรณาการการทำงานร่วมกันระหว่างหน่วยงานราชการในพื้นที่ คือ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านเมี่ยง สถาบันการศึกษา คือ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย และประชาชนที่เป็นสมาชิกกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีบ้าน อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเลย

วิธีการวิจัย

สารเคมี

Folin-Ciocalteu phenol reagent (LOBA CHEMIE PVT.CTE, India), Garlic acid (Sigma-Aldrich, USA), Trolox acid (Sigma-Aldrich, USA), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, USA), Sodium carbonate (Na_2CO_3) (QreC, New Zealand), Methanol (RCI Labscan, Thailand), Plate count agar, Peptone water, Mannitol salt agar, Nutrient agar, 2% brilliant green lactose bile (BGLB) broth, Lauryl sulfate tryptose (LST) broth, Escherichia coli (EC) broth, Eosin methylene blue agar, and

Sabouraud dextrose agar from Himedia (HiMedia Laboratories Pvt.Ltd., India)

การพัฒนาชาใบกัญชา

จากการประชุมกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีบ้านบ้านเมี่ยง ตำบลท่าลี่ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเลยผู้ปลูกกัญชา พบว่าสมาชิกกลุ่มส่วนใหญ่มีความประสงค์จะพัฒนาชาใบกัญชา 100% ผู้วิจัยจึงได้นำใบกัญชาที่ปลูกโดยกลุ่มวิสาหกิจชุมชน ในช่วงเดือนกันยายน – พฤศจิกายน 2564 โดยมีอายุประมาณ 2 เดือน มีสีเขียวเข้ม ไม่มีสีเหลือง ไม่มีจุดดำหรือน้ำตาลซึ่งเป็นใบที่มีโรค นำเฉพาะส่วนใบไม่มีก้าน ไม่มีช่อดอก มาล้างด้วยน้ำสะอาด นำมาผึ่งลมในที่ร่มให้ใบกัญชาแห้ง ประมาณ 8 ชั่วโมงโดยผึ่งลมในภาชนะที่สามารถป้องกันแมลงและฝุ่นขนาดใหญ่ตกใส่ได้ จากนั้นอบด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส⁽¹³⁾ ที่ระยะเวลา 1.30, 4.30 และ 6 ชั่วโมง บดให้ละเอียดนำไปวัดปริมาณความชื้นเพื่อให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 6 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 356 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิทแห่งบันทึกข้อมูลปริมาณความชื้น และนำใบชาอบแห้งบดละเอียดไปวิเคราะห์ปริมาณสาร delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระคุณค่าทางโภชนาการ และคุณภาพจุลินทรีย์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณสาร delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD)

การวิเคราะห์ปริมาณสาร (THC) และ (CBD) ในตัวอย่างกัญชาเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาใบกัญชา ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้ใช้ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร (THC) และ (CBD) จากห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับมาตรฐาน ISO/IEC 17025 หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานเทียบเท่า กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดังนั้นผู้วิจัยได้ส่งตัวอย่างชาใบกัญชาอบแห้งตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการที่ได้รับมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งใช้วิธีลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry; LC-MS/MS method) ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร THC และ CBD ตามวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแคนนาบินอยด์ 4 ชนิดในกลุ่มผลิตภัณฑ์สำหรับอุปโภคบริโภค 40 ชนิด (TM-601-33)⁽¹⁴⁾

การเตรียมตัวอย่างน้ำชาใบกัญชาสำหรับการวิเคราะห์

นำชาใบกัญชาที่เตรียมได้ ปริมาณ 1.50 กรัมต่อของไปแช่น้ำเดือด 200 มิลลิลิตร นาน 5 นาที⁽¹³⁾ นำของชาออกและนำน้ำชาที่ได้ไปทำการศึกษาต่อไป

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของชาใบกัญชา

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการในตัวอย่างชาใบกัญชา ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ตามวิธี AOAC⁽¹⁵⁾

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-ciocalteu method ดัดแปลงจากวิธีของ Tsai และคณะ⁽¹⁶⁾ และ Srimoon & Tachai⁽¹⁷⁾ ปิเปตสารละลาย 10% Folin-ciocalteu phenol reagent ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมน้ำชาใบกัญชา ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานผลเป็นไมโครกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก ต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ครั้ง

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay ของน้ำชาใบกัญชา ดัดแปลงจาก Jandaruang และคณะ⁽¹⁸⁾ ปิเปตน้ำชาใบกัญชา จำนวน 0.1 มิลลิลิตรลงใน 2.9 มิลลิลิตร ของ 0.1 mM DPPH เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตัวอย่างควบคุม คือ สารละลายมาตรฐานไทโรลอคซ์ ความเข้มข้น 50, 100, 150, 250, 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารมาตรฐาน ถ้าหากชาใบกัญชา มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลง จากนั้นนำมาคำนวณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยสูตร ดังนี้ %Radical scavenging activity = $[(\text{Control OD} - \text{Sample OD}) / \text{Control OD}] \times 100$ นำค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารไทโรลอคซ์ แสดงค่าในรูปของไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอคซ์ต่อมิลลิลิตร ของตัวอย่าง

การศึกษาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของชาใบกัญชา

การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) โดยวิธี Aerobic plate count ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (FDA) (2001)⁽¹⁹⁾ ปิเปตน้ำชาใบกัญชา 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ จากนั้นเทอาหาร Plate count agar ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตรต่อจาน หมุนจานให้ตัวอย่างผสมเข้ากับอาหาร ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวน colony ที่เกิดขึ้น ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณเป็น CFU/g (colony forming unit/gram) ของตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ครั้ง

การตรวจหาปริมาณ Total coliform และ *Escherichia coli*

โดยวิธี Most Probable Number (MPN) ใช้ระบบ 5 หลอด มีขั้นตอน ดังนี้⁽²⁰⁾

การตรวจสอบขั้นแรก (Presumptive test)

เป็นการตรวจสอบหาเชื้อแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้โดยปิเปตน้ำชาใบกัญชาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulfate tryptose (LST) broth ดังนี้ คือ ชุดที่ 1 LST broth 2 เท่า หลอดละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด ชุดที่ 2 LST broth 1 เท่า หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด และชุดที่ 3 LST broth 1 เท่า หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด เขย่าหลอดเบา ๆ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นของอาหารและแก๊สในหลอดดักแก๊ส ถ้ามีให้อ่านเป็นผลบวก นับจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สแล้วนำไปหาค่า MPN จากตาราง MPN

การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

1) การตรวจสอบขั้นยืนยันสำหรับโคลิฟอร์ม (Confirmation test for Coliforms)

ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกในขั้นแรกลงในอาหาร 2% Brilliant green lactose bile broth (BGLB) หลอดละ 2 หลบ เขย่าหลอดเบา ๆ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สในหลอดดักแก๊ส ถือว่าให้ผลบวก จึงอ่านผลโดยการนับจำนวนหลอดที่มีแก๊ส แล้วนำตัวเลขที่ได้ไปหาค่า MPN จากตาราง MPN (อาหารเลี้ยงเชื้อ 2%BGLB มีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อที่สามารถเจริญต้องเป็นแบคทีเรียแกรมลบ คือ โคลิฟอร์มแบคทีเรียเท่านั้นที่เจริญได้)⁽²¹⁾

2) การตรวจสอบขั้นยืนยันสำหรับฟีคัลโคลิฟอร์ม (Confirmation test for Fecal Coliform)

ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารที่ให้ผลบวกในขั้นตอนการยืนยันเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ลงในอาหาร EC broth หลอดละ 2 หลบ เขย่าหลอดเบา ๆ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 44 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สในหลอดดักแก๊ส ถือว่าให้ผลบวก อ่านผลโดยการนับจำนวนหลอดที่มีแก๊ส และนำตัวเลขที่ได้ไปหาค่า MPN จากตาราง MPN⁽²¹⁾

3) การตรวจหาเชื้อ *E. coli* โดยวิธี Most Probable Number (MPN)

ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารที่ให้ผลบวกในขั้นตอนการยืนยันเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรียมา streak ลงในอาหาร นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการสังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. coli* จะมีเงาโลหะสีเขียว (metallic sheen) และนำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วยวิธี ImViC test เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อ หากเป็นเชื้อ *E. coli* จะให้ผล ImViC test เป็น (+) (+) – (–) (–)⁽²¹⁾

การตรวจหาปริมาณยีสต์และรา โดยวิธี Standard pour plate ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ FDA (2001)⁽²²⁾ ปิเปตตัวอย่างน้ำชาใบกัญชา 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร Sabouraud dextrose agar ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตรต่อจาน หมุนจานให้ตัวอย่างผสมเข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ในให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน นับจำนวน colony ของยีสต์และราที่เกิดขึ้นในช่วง 30-300 โคโลนีคำนวณเป็น CFU/g ของตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ครั้ง

การตรวจหาเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Spread plate method ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ FDA (2019)⁽²³⁾ ปิเปตตัวอย่างน้ำชาใบกัญชา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol salt agar ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม กลั้ยให้แห้งและทั่วอาหาร นำไปบ่มเพาะเชื้อ

ที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีสีเหลืองล้อมรอบด้วยโซนสีขาวขุ่น นำมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ Catalase โดยการหยดเชื้อมากลั้ยให้เข้ากับ 3% Hydrogen peroxide ถ้าเป็นเชื้อ *S. aureus* จะมีการสร้างฟองแก๊สเกิดขึ้น นับจำนวนโคโลนีที่ได้ผลบวกและคำนวณเป็น CFU/g ของตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1) ข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และคุณภาพด้านจุลินทรีย์รายงานเป็นค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย *E. coli* ยีสต์ รา และ *S. aureus* ที่พบในชาใบกัญชาตามเกณฑ์มาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ (Table) 1

Table 1 Quality criteria of pathogenic microorganisms in foods

Pathogenic microorganisms in foods	Quality criteria
Total viable count*	$< 5 \times 10^7$ cfu/1 g
Coliform bacteria**	< 2.2 MPN/100 mL
<i>E. coli</i> **	Not detected
Yeast**	< 100 cfu/1 g
Fungi**	< 100 cfu/1 g
<i>S. aureus</i> ***	< 100 cfu/1 g

Note: * Announcement of the Herbal Products Committee on quality control methods and specifications of herbal products and criteria, methods and conditions regarding certificates of herbal product analysis results, B.E. 2021⁽²⁴⁾

** Notification of Ministry of Public Health (No. 356) B.E. 2556 (2013) Re: Beverages in Sealed Container in dried form⁽²⁵⁾

*** Notification of Ministry of Public Health (No. 416) B.E. 2563 (2020) Issued by virtue of the Food Act B.E. 2522 Re: Prescribing the quality or standard, principles, conditions and methods of analysis for pathogenic microorganisms in foods⁽²⁶⁾

ผลการศึกษา

การพัฒนาชาใบกัญชา

จากกระบวนการพัฒนาชาใบกัญชา 100% ตามข้อแนะนำในการพัฒนาชาจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ที่เวลา 1.30, 4.30 และ 6 ชั่วโมง พบว่าการอบชาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำให้ชา มีความชื้น ร้อยละ 5.97 ± 0.02 โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นไปตาม

ข้อกำหนดความชื้นตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 356) พ.ศ. 2556 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ชนิดแห้ง ที่กำหนดไว้น้อยกว่าร้อยละ 6 เป็นดังแสดงในตารางที่ (Table) 2 และจากการส่งตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร THC และ CBD พบว่าชาใบกัญชา มีปริมาณสาร THC เท่ากับ 0.303 กรัมต่อ 100 กรัม และมีปริมาณสาร CBD เท่ากับ 0.109 กรัมต่อ 100 กรัม

Table 2 Percentage of Moisture of cannabis leaf tea

Sample/Drying time	Moisture (% w/w)		
	1.30 hr.	4.30 hr.	6.00 hr.
cannabis leaf tea	8.83 ± 1.27	6.87 ± 0.73	5.97 ± 0.02

Note: Data represent mean $\pm$ SD. from 3 experiments.

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ 5.87 ± 0.03 โดยน้ำหนัก ไขมันร้อยละ 1.35 ± 0.01 โดยน้ำหนัก
จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของชาใบกัญชา คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 12.62 ± 0.03 โดยน้ำหนัก และเถ้าร้อยละ
ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง พบว่า ชาใบกัญชา 2.66 ± 0.01 โดยน้ำหนัก เป็นดังแสดงในตารางที่ (Table) 3
มีความชื้นร้อยละ 5.97 ± 0.02 โดยน้ำหนัก โปรตีนร้อยละ

Table 3 Percentage of Nutritional Value of cannabis leaf tea

Sample	Moisture	Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash
cannabis leaf tea	5.97 ± 0.02	5.87 ± 0.03	1.35 ± 0.01	12.62 ± 0.03	2.66 ± 0.01

Note: Data represent mean $\pm$ SD. from 3 experiments, units as % w/w

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและ ของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 131.45 ± 3.56 ไมโครกรัมสมมูลของ Trolox ต่อ
จากผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและ ต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง เป็นดังแสดงในตารางที่ (Table) 4 และ
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาใบกัญชา พบว่า ชาใบกัญชามีปริมาณ ภาพที่ (Figure) 1A – 1B
สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 79.10 ± 0.60 ไมโครกรัมสมมูล

Table 4 Total phenolic content, and antioxidant activity with DPPH assay of cannabis leaf tea

Sample	Total phenolic contents (μg GAE/ml sample)	Antioxidant activity of DPPH (μg TEAC/ml sample)
Cannabis leaf tea	79.10 ± 0.60	131.45 ± 3.56

Note: Data represent mean $\pm$ SD. from 3 experiments.

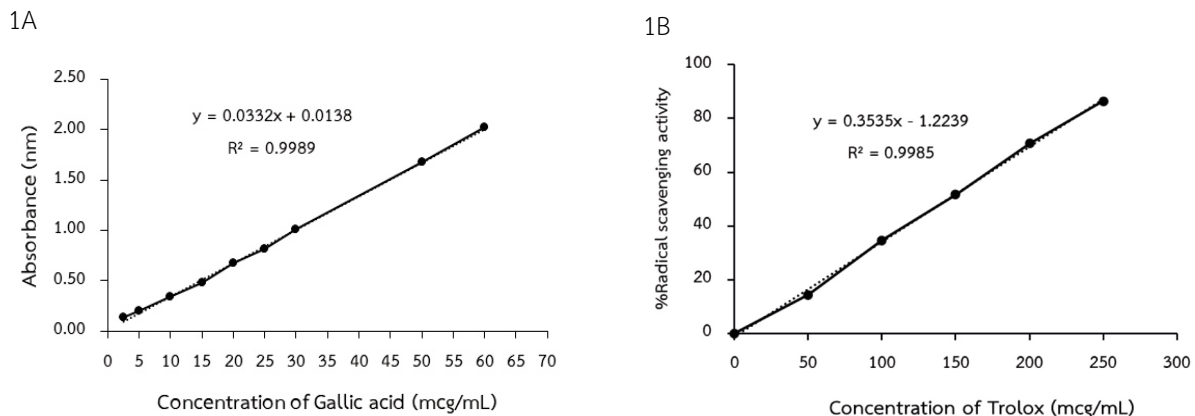


Figure 1 Calibration curve (1A) Standard solution of Gallic acid and (1B) Standard solution of Trolox

การวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยา *coli* ไม่พบการปนเปื้อน เชื้อ *Staphylococcus aureus*
จากผลการวิเคราะห์คุณภาพจุลชีววิทยาของชาใบกัญชา พบการปนเปื้อน 34.67 ± 0.58 cfu/g เชื้อรา ไม่พบการปนเปื้อน
พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบการปนเปื้อน 2.33 ± 1.16 และยีสต์ พบการปนเปื้อน 0.33 ± 0.58 cfu/g ผ่านเกณฑ์
cfu/g, Coliform bacteria ไม่พบการปนเปื้อน เชื้อ *Escherichia*

อภิปรายผล

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร THC และ CBD ซึ่งเป็นสาร
กลุ่มแคนนาบินอยด์ ในตัวอย่างใบกัญชาอบแห้ง มีปริมาณสาร
THC เท่ากับ 0.303 กรัมต่อ 100 กรัม และสาร CBD เท่ากับ
0.109 กรัมต่อ 100 กรัม โดยข้อมูลปริมาณสาร THC และ CBD
ที่ได้จะไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบชา
ใบกัญชา ไม่ให้มีปริมาณสาร THC และ CBD ต่อหน่วยบรรจุ

เกินที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด สอดคล้องกับการศึกษาของ
Pacifi และคณะ⁽²⁷⁾ ได้ศึกษาปริมาณสาร THC และ CBD ในน้ำชา
กัญชาและน้ำมันกัญชา พบว่า ในน้ำมันกัญชามีปริมาณสาร THC
และ CBD สูงกว่าน้ำชากัญชาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แตกต่าง
จากการศึกษาของ Thongchin และคณะ⁽²⁸⁾ ได้ศึกษาพัฒนา
วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารแคนนาบินอยด์ (CBD, CBN และ THC)
ในสารสกัดใบกัญชาที่สกัดด้วยเอทานอล ด้วยวิธี reflux กรอง

Table 5 Microbiological quality of cannabis leaf tea

Sample	Total viable count ($<5 \times 10^7$ cfu/g)	Coliform bacteria (<2.2 MPN/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (Not detected)	<i>Staphylococcus aureus</i> (<100 cfu/g)	Fungi (<100 cfu/g)	Yeasts (<100 cfu/g)
Cannabis leaf tea	2.33 ± 1.16	Not detected	Not detected	34.67 ± 0.58	Not detected	0.33 ± 0.58
Pass the quality criteria	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

Note: Data represent mean $\pm$ SD. from 3 experiments.

และนำสารสกัดมาระเหยแห้งจากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC พบว่า ปริมาณสาร CBD, CBN และ THC ในสารสกัดเอทานอลของใบกัญชา มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.006, 0.009 และ 0.003 โดยน้ำหนัก (กรัมต่อ 100 กรัม) ซึ่งในการศึกษครั้งนี้สารสกัดจากใบกัญชามีปริมาณสาร THC และ CBD สูงกว่าการศึกษาอื่น อาจเนื่องมาจากในงานวิจัยครั้งนี้ได้ส่งตัวอย่างจากใบกัญชาอบแห้งไปวิเคราะห์หาปริมาณ THC และ CBD ที่ห้องปฏิบัติการที่ได้รับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งใช้วิธีลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร THC และ CBD ตามวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแคนนาบินอยด์ 4 ชนิด ในกลุ่มผลิตภัณฑ์สำหรับอุปโภคบริโภค 40 ชนิด (TM-601-33)⁽¹⁴⁾ และจากข้อมูลจะเห็นได้ว่าชาใบกัญชา 100% มีปริมาณสาร THC และ CBD ที่อาจเกินประกาศกระทรวงสาธารณสุข ดังนั้นในการพัฒนาชาใบกัญชาอาจปรับลดปริมาณใบกัญชาลง จนได้สูตรที่มีปริมาณใบกัญชาเหมาะสม มีปริมาณสาร THC และ CBD ไม่เกินประกาศกระทรวงสาธารณสุข

ผลการศึกษาค่าทางโภชนาการของชาใบกัญชา พบว่าชาใบกัญชามีความชื้น (ร้อยละ 5.97) ไม่เกินมาตรฐานกำหนด มีโปรตีน ร้อยละ 5.87 โดยน้ำหนัก ไขมัน ร้อยละ 1.35 โดยน้ำหนัก คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 12.62 โดยน้ำหนัก และเถ้า ร้อยละ 2.66 โดยน้ำหนัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 79.10 ± 0.60 μg GAE/ml sample และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 131.45 ± 3.56 μg TEAC/ml sample สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ahmed และคณะ⁽²⁹⁾ พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบกัญชา มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 29.98 ± 0.56 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง และยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 34.2 ± 1.10 และการศึกษาของ Niyomdech & Niyomdech⁽³⁰⁾ พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบกัญชายับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 22.46 ± 0.01 จากผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยของใบกัญชา จากทั้ง 2 การศึกษามีความ

ใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอาจจะแตกต่างจากการศึกษาของ Ahmed และคณะ⁽²⁹⁾ ซึ่งอาจเนื่องมาจากวิธีการในสกัดสารจากใบกัญชา โดยการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยใช้วิธีการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำจากชาใบกัญชา ด้วยวิธีการขังเป็นน้ำชาโดยนำชาใบกัญชาที่เตรียมได้ ปริมาณ 1.5 กรัมต่อของไปแช่ในน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร นาน 5 นาที ซึ่งเป็นวิธีการที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุขแนะนำ⁽¹³⁾ แต่ในการศึกษาของ Ahmed และคณะ⁽²⁹⁾ ใช้ใบกัญชาแห้ง 100 กรัมแช่ในน้ำ 400 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาระเหยตัวทำละลายน้ำออกได้สารสกัดหยาบ แต่วิธีการศึกษาในครั้งนี้ไม่ได้ระเหยน้ำออกและใช้ปริมาณกัญชาแห้งเพียง 1.5 กรัม ทำให้ได้ปริมาณสารสำคัญน้อยกว่าวิธีการสกัดของ Ahmed และคณะ⁽²⁹⁾

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์แบบชาใบกัญชา พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ Coliform bacteria เชื้อ *Escherichia coli* เชื้อ *Staphylococcus aureus* เชื้อรา และยีสต์ ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกเชื้อ เป็นไปตามประกาศคณะกรรมการผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2564 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 356) พ.ศ. 2556 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ชนิดแห้ง และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าขั้นตอนการเก็บใบกัญชา การล้างกัญชา อุณหภูมิ ระยะเวลาในการอบใบกัญชา และวิธีการเตรียมน้ำชาสำหรับวิเคราะห์ โดยการขังในน้ำเดือด สามารถควบคุมคุณภาพด้านจุลินทรีย์ ทำให้ไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจทำให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคชาใบกัญชาได้

โดยสรุปข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ พบว่า กระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาใบกัญชา ได้แก่ การคัดเลือกใบชา การล้างใบชา อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการอบใบชาให้แห้ง เป็นกระบวนการที่เหมาะสม ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ผ่านเกณฑ์

มาตรฐาน และกระบวนการดังกล่าวยังคงคุณค่าทางโภชนาการของใบชา และชายังมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ และได้ข้อมูลปริมาณสาร THC และ CBD ของผลิตภัณฑ์ต้นแบบชาใบกัญชา ซึ่งกระบวนการที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะนำไปถ่ายทอดให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีบ้าน บ้านเมี่ยง ตำบลหนองผือ อำเภอท่าลี่ จังหวัดเลย และประชาชนที่สนใจ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาจากใบกัญชาให้มีคุณค่าทางโภชนาการ ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ คุณภาพด้านจุลชีววิทยาผ่านเกณฑ์มาตรฐานและมีปริมาณสาร THC และ CBD ไม่เกินที่กฎหมายกำหนด และเพิ่มการศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณสาร THC และ CBD ของใบกัญชาที่เก็บในช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลให้กับชุมชนในการพัฒนาชาจากใบกัญชาต่อไป ข้อจำกัดของงานวิจัย เนื่องจากการวิจัยนี้เป็นการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาจากใบกัญชา ดังนั้นหากมีข้อมูลผลการศึกษาความเป็นพิษของชาใบกัญชา จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีข้อมูลความปลอดภัยเกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยและนวัตกรรมการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2564 และขอขอบคุณสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเลย โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านเมี่ยง และวิสาหกิจชุมชนเกษตรอินทรีย์วิถีบ้าน บ้านเมี่ยง ตำบลหนองผือ อำเภอท่าลี่ จังหวัดเลย ที่ให้ความอนุเคราะห์ใบกัญชา และข้อมูลเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Sripanidkulchai B. Medical Uses of Cannabis. Isan Journal of Pharmaceutical Science 2019; 15(4): 1 – 26. (In Thai)
2. Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, et al. *Cannabis sativa*: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. J Ethnopharmacol 2018; 5: 227:300-315.
3. Prandi C, Blangetti M, Namdar D, Koltai H. Structure-activity relationship of cannabis derived compounds for the treatment of neuronal activity related diseases. Molecules 2018; 23(7): E1526.
4. Stasiłowicz-Krzemień A, Sip S, Szulc P, Cielecka-Piontek J. Determining Antioxidant Activity of Cannabis Leaves Extracts from Different Varieties—Unveiling Nature’s Treasure Trove.

Antioxidants 2023; 12(7), 1390.

5. Elhendawy MA, Wanas AS, Radwan MM, Azzaz NA, Toson ES, ElSohly MA. Chemical and Biological Studies of *Cannabis sativa* Roots. Med Cannabis Cannabinoids 2018; 1: 104 – 111.
6. Anil SM, Shalev N, Vinayaka AC, Nadarajan S, Namdar D, Belausov E, et al. Cannabis compounds exhibit anti-inflammatory activity in vitro in COVID-19-related inflammation in lung epithelial cells and pro-inflammatory activity in macrophages. Sci Rep 2021; 11(1): 1462.
7. Whiting PF, Wolff RF, Deshpande S, Di Nisio M, Duffy S, Hernandez AV, et al. Cannabinoids for medical use: a systematic review and meta-analysis. JAMA 2015; 313(24): 2456-73.
8. Szaflarski JP, Bebin EM, Cutter G, DeWolfe J, Dure LS, Gaston TE, et al. Cannabidiol improves frequency and severity of seizures and reduces adverse events in an open-label add-on prospective study. Epilepsy & behavior: E&B 2018; 87: 131 – 136.
9. Srithat D, Tongkasee, P. Effectiveness of Cannabis-containing Tea on Insomnia. Health Science Journal of Thailand 2023; 5(1), 25–32. (In Thai)
10. Niaz K, Khan F, Maqbool F, Momtaz S, Ismail Hassan F, Nobakht-Haghighi N, et al. Endo-cannabinoids system and the toxicity of cannabinoids with a biotechnological approach. EXCLI journal 2017; 16: 688-711.
11. Maneechot, S, Phommet, S, Chaiphet, C, Rungsee, P. An Analysis on Agenda Setting of Free Cannabis Policy in Thailand through Kingdon's Model. Journal of Social Sciences and Modern Integrated Sciences 2022; 3(2): 54-67. (In Thai)
12. Ministry of Public Health. Notification of Ministry of Public Health: Specify the name of the narcotics category 5 B.E. 2022. [Internet]. 2022 [Cited in 5th May, 2022]. Available from: <https://ockt.dtam.moph.go.th/index.php/law/277-0902-2565>.
13. Food and Drug Administration office. Guidelines for the development and licensing of hemp and hemp-derived medicinal products that are exempt from category 5 narcotics. [Internet]. 2021 [Cited in 21st December, 2021]. Available from:

- https://www.fda.moph.go.th/Herbal/SitePages/canabis_e-sub.html.
14. Meng Q, Buchanan B, Zuccolo J, Poulin MM, Gabriele J, Baranowski DC. A reliable and validated LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of 4 cannabinoids in 40 consumer products. *PLoS one* 2018; 13(5): e0196396.
 15. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2012.
 16. Tsai TH, Tsai PJ, Ho SC. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Several Commonly Species. *Journal of Food Science* 2005; 70(1): 93 – 97.
 17. Srimoon R, Tachai S. Total phenolic compounds and free radicals scavenging content in processing fruit juice in Chanthaburi province. *Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal* 2014; 7(1): 24 – 30. (In Thai)
 18. Jandaruang J, Siritapetawee J, Thumanu K, Songsiririthigul C, Krittanai C, Daduang S, et al. The Effects of Temperature and pH on Secondary Structure and Antioxidant Activity of *Crocodylus siamensis* Hemoglobin. *Protein Journal* 2012; 31: 43 – 50.
 19. U.S. Food & Drug Administration. Bacteriology Analytical Manual, 8th edition, Revision A, 1998. Chapter 12: Aerobic Plate Count. [Internet]. 2001 [Cited in 21st December, 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>.
 20. Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences. Analytical method of Coliforms, Fecal coliforms, and *E. coli* in water, ice and beverage. [Internet]. 2015 [Cited in 21st December, 2021]. Available from: <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/index.php/download/sop-no-20-02-213/>.
 21. Suphim B, Choomsee P, Panpetch O. Microbiological quality of ready-to-eat foods in Loei Rajabhat university canteen. *Journal of Science & Technology, Ubon Ratchathani University, Special issue*. 2017:72-81.
 22. U.S. Food & Drug Administration. Bacteriology Analytical Manual, 8th edition, Revision A, 1998. Chapter 18: Yeast, Mold, and Mycotoxin. [Internet]. 2001 [Cited in 21st December, 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>.
 23. U.S. Food & Drug Administration. Bacteriology Analytical Manual, 8th edition, Revision A, 1998. Chapter 12: *Staphylococcus aureus*. [Internet]. 2019 [Cited in 21st December, 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>.
 24. Herbal Products Committee, Ministry of Public Health. Announcement of the Herbal Products Committee on quality control methods and specifications of herbal products and criteria, procedures, and conditions regarding certificates of herbal product analysis results. [Internet]. 2021 [Cited in 10st August, 2023]. Available from: <https://herbal.fda.moph.go.th/law-herbal/category/notification-of-the-committee-herba>.
 25. Ministry of Public Health. Notification of Ministry of Public Health (No. 356) B.E. 2013 Re: Beverages in sealed container in dried form. [Internet]. 2013 [Cited in 10st August, 2023]. Available from: <https://food.fda.moph.go.th/food-law/f2-beverage-sc>.
 26. Ministry of Public Health. Notification of Ministry of Public Health (No. 416) B.E. 2020 issued by virtue of the Food Act B.E. 1979 re: Prescribing the quality or standard, principles, conditions and methods of analysis for pathogenic microorganisms in foods. [Internet]. 2020 [Cited in 10st August, 2023]. Available from: <https://food.fda.moph.go.th/food-law/category/contaminants-03>.
 27. Pacifici R, Marchei E, Salvatore F, Guandalini L, Busardò FP, Pichini S. Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 2017; 55(10): 1555–1563.
 28. Thongchin T, Marsud S, Thiemthieprat P, Ruengkhet S, Ontong S, Banyati P, et al. Development and Method Validation of Cannabinoid Contents in *Cannabis sativa* L. Leaves by Ultra High Performance Liquid Chromatography. *Bulletin of the Department*

- of Medical Science 2021; 63(3): 505 – 523. (In Thai)
29. Ahmed M, Ji M, Qin P, Gu Z, Liu Y, Sikandar A, et al. Phytochemical screening, total phenolic and flavonoids contents and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis* L. and *Cannabis sativa* L. Applied Ecology and Environmental Research 2019; 17(3): 6961 – 6979.
30. Niyomdecha S, Niyomdecha M. Phytochemical screening and antioxidant activities of cannabis. Journal of Public and Private Management 2022; 4(2): 155 – 166. (In Thai)