

การพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนักในพืชกัญชา

วิชาดา จงมีวาสนา พนาวัลย์ กลิ่งกลางตอน วีรฤทธิ วิทยานันท์ สุพัฒน์ แสงสวຍ ธรณิศวรรค์ ไชยมงคล
และกรรกริรมย์ เลิศบำรุงชัย

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง นครบุรี 11000

บทคัดย่อ สืบเนื่องจากนโยบายกัญชาทางการแพทย์ ปี พ.ศ. 2562 ทำให้เกิดห่วงโซ่คุณค่าในการพัฒนาการปลูก การจำหน่ายและการผลิตผลิตภัณฑ์กัญชาอย่างรวดเร็ว สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างและโลหะปนเปื้อนเป็นรายการสำคัญ ที่ใช้ในการคัดกรองความปลอดภัยของวัตถุดิบพืชกัญชาสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ได้ดำเนินโครงการบูรณาการสร้างเครือข่ายห้องปฏิบัติการ และติดตามส่งเสริมห้องปฏิบัติการเครือข่ายให้มีความ สามารถในการตรวจวิเคราะห์ การศึกษาจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญพืชกัญชา โดยใช้วัตถุดิบ พืชกัญชาที่เป็นของกลางจากสำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติดที่พบสารตกค้างและสารปนเปื้อน โดยนำ มาเตรียม แบ่งบรรจุ และทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของสารคลอโรฟีลล์ และไซเปอร์เมทริน ด้วยเครื่อง GC-ECD/ FPD มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น 85.6 ± 3.5 และ $32,520 \pm 1,625$ ไมโครกรัมต่อกรัม ส่วนแคดเมียม มีความเข้มข้น 344 ± 18 ไมโครกรัมต่อกรัม เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-MS จากนั้นทดสอบความคงตัวในอุณหภูมิที่เลียนแบบสภาวะขนส่ง โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าปริมาณสารคลอโรฟีลล์ ไซเปอร์เมทริน และแคดเมียม มีความเข้มข้นที่ระดับ 89.6 ± 3.4 , $33,753 \pm 2,619$ และ 321 ± 11 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติมีความคงตัวอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ตัวอย่างพืชกัญชา ที่เตรียมขึ้นนี้สามารถนำไปใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มีคุณสมบัติเหมาะสม เป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับ ISO 13528: 2015 และใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักได้อย่างมีคุณภาพ

คำสำคัญ: ตัวอย่างทดสอบความชำนาญ, พืชกัญชา, สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง, โลหะปนเปื้อน

Corresponding author E-mail: wischada.j@gmail.com

Received: 16 July 2021

Revised: 7 September 2021

Accepted: 9 September 2021

บทนำ

กัญชาเป็นพืชในสกุล Cannabis จัดเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 แห่งพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 ได้มีการแก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7)⁽¹⁾ “มาตรา 26/2 ห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้า หรือส่งออกซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 เว้นแต่ ในกรณีจำเป็นเพื่อประโยชน์ของทางราชการ การแพทย์ การรักษาผู้ป่วย หรือการศึกษาวิจัย และพัฒนา ทั้งนี้ ให้รวมถึงการเกษตรกรรม พาณิชยกรรม วิทยาศาสตร์ หรืออุตสาหกรรม เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ด้วย ซึ่งได้รับใบอนุญาตจากผู้อนุญาตโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ” และมีประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2563 ได้มีการระบุยกเว้นวัตถุหรือสารของกัญชาและกัญชง (Hemp) ที่ผลิตในประเทศ ได้แก่ (ก) เปลือก ลำต้น เส้นใย กิ่ง ก้าน และราก (ข) ใบ ซึ่งไม่มียอดหรือช่อดอกติดมาด้วย (ค) สารสกัดที่มีสารแคนนาบินาไดรอล (cannabidiol, CBD) เป็นส่วนประกอบ และต้องมีสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (tetrahydrocannabinol, THC) ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก (ง) กากหรือเศษที่เหลือจากการสกัดกัญชาและต้องมีสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (tetrahydrocannabinol, THC) ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5⁽²⁾ เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการผลิตยาหรือสมุนไพรจากนโยบายการใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ในรูปแบบสารสกัดกัญชา น้ำมันกัญชา และยาตำรับแผนไทย ซึ่งการคัดกรองวัตถุดิบให้ได้คุณภาพตามที่ต้องการและลดความเสี่ยงสารตกค้างและสารปนเปื้อนก่อนนำมาใช้ในกระบวนการผลิตยาและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุตำรายา พ.ศ. 2561 ให้ตำรายาต่อไปนี้เป็นตำรายาแผนปัจจุบัน ได้แก่ ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย พ.ศ. 2560 และฉบับเพิ่มเติม (Thai Herbal Pharmacopoeia 2017 and Supplements) ในเบื้องต้นจึงมีการใช้เกณฑ์กำหนดปริมาณสารตกค้างและสารปนเปื้อนในพืชกัญชาอ้างอิงตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยฉบับดังกล่าว⁽³⁾ สำหรับ crude drugs มีการกำหนดปริมาณสูงสุด (maximum limits) สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ได้แก่ สารในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์และกลุ่มอื่น ๆ รวม 33 ชนิด และกำหนดปริมาณสูงสุดของโลหะปนเปื้อน 4 ชนิด ได้แก่ สารหนู (arsenic) แคดเมียม (cadmium) ตะกั่ว (lead) และปรอท (mercury) เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สำหรับวิธีวิเคราะห์สารตกค้างและโลหะปนเปื้อนทางห้องปฏิบัติการ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารฐานะห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านคุณภาพและความปลอดภัยอาหารของประเทศ ได้รับมอบหมายจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ให้รับผิดชอบการตรวจวิเคราะห์ด้านความปลอดภัยของกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ครอบคลุมชนิดตัวอย่างพืชกัญชา สารสกัดกัญชา น้ำมันกัญชาและตำรับยากัญชา รวมทั้งมีการถ่ายทอดเทคโนโลยีการวิเคราะห์ให้กับศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนภูมิภาค⁽⁴⁾ เพื่อเป็นการขยายหน่วยบริการรองรับความต้องการในพื้นที่ทั้ง 12 เขตสุขภาพ และสร้างเครือข่ายห้องปฏิบัติการที่มีคุณภาพ ให้เป็นที่ยอมรับในความเท่าเทียมกันของผลการวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการตรวจสอบความสามารถห้องปฏิบัติการ เช่น การเข้าร่วมเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison) การเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญ (proficiency testing) แต่เนื่องจากพืชกัญชา มีการควบคุมเป็นยาเสพติดและเป็นเรื่องใหม่ จึงไม่มีหน่วยงานทั้งภายในและภายนอกประเทศเป็นหน่วยบริการด้านแผนทดสอบความชำนาญในการวิเคราะห์สารตกค้างและโลหะปนเปื้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาและพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญพืชกัญชาให้มีคุณสมบัติเหมาะสมซึ่งอ้างอิงเกณฑ์ยอมรับการทดสอบความแม่นยำและความคงตัว ตามมาตรฐาน ISO 13528:2017⁽⁵⁾ เพื่อนำไปใช้ประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เชิงปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างและโลหะปนเปื้อนได้อย่างมีคุณภาพ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2010⁽⁶⁾

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ตัวอย่างกัญชาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นพืชกัญชาที่เป็นของกลาง มีลักษณะเป็นกัญชาแห้งอัดแท่ง จำนวน 5 ก้อน น้ำหนักรวม 5 กิโลกรัม ได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด ตามหนังสือ ที่ ยส 1102/15458 ลงวันที่ 7 สิงหาคม 2562 โดยที่สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นหน่วยงานที่มีภารกิจในการตรวจวิเคราะห์และศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์สารพิษ สารปนเปื้อน และสารสำคัญของกัญชาและกัญชง ซึ่งมีการดำเนินงานภายใต้โครงการบูรณาการพัฒนากัญชาทางการแพทย์และผลิตภัณฑ์สุขภาพจากพืชกัญชา จึงเป็นผู้ได้รับอนุญาตมีไว้ในครอบครอง ซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 (หนังสือสำคัญ ที่ 25/2562) และเป็นผู้รับอนุญาตจำหน่าย ซึ่งยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 (หนังสือสำคัญ ที่ 8/2563)

สารละลายมาตรฐานทั้งหมดเป็น certified reference material (CRM) grade และเป็นผลิตภัณฑ์ของ CPA chem ประเทศฝรั่งเศส ประกอบด้วย สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ synthetic pyrethroid pesticide standard 8 components ความเข้มข้น 100 mg/l, organophosphorus pesticide standard 25 components ความเข้มข้น 100 mg/l โดยมีค่า uncertainty value ≤ 2.6 mg/l และสารละลายมาตรฐานโลหะหนัก ประกอบด้วย ตะกั่ว แคดเมียม สารหนู และปรอท ความเข้มข้น 1,000 mg/l มีค่า uncertainty value ≤ 4.9 mg/l

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า 3 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง, เครื่องบด (Mill Machine, POWTEQ HM100), เครื่องผสมอาหาร ขนาด 3 ลิตร, เครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน (heat sealer machine), เครื่อง GC-ECD/FPD (Gas Chromatograph-Electron Capture Detector/Flame Photometric Detector), เครื่องย่อยระบบไมโครเวฟ ยี่ห้อ Mile stone รุ่น UltraWave, เครื่อง Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), เครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer (GFAAS), เครื่อง Mercury Analyzer (cold vapour atomic absorption spectrometry technique), เครื่องระเหยด้วยไนโตรเจน, micropipettes ขนาด 2-20 μ l, 20-200 และ 200-1000 μ l, volumetric flask ขนาด 5 ml, 10 ml และ 25 ml, round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร, centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร, Quartz sample tube ขนาด 1 มิลลิลิตร, มีดสแตนเลส, ช้อนสแตนเลส, ขອງพลาสติกลามิเนตอลูมิเนียมฟอยด์

วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ QuEChERS Extraction Packet, AOAC Method P/N 5982-7755; MgSO_4 6 g และ NaOAc 4 g, dispersive SPE P/N 5982-5421; MgSO_4 150 mg, C18EC 50 mg, GCB 50 mg และ 50 mg PSA

การเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

การดำเนินแผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์พืชกัญชามีการวางแผนดำเนินการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 : 2010 โดยขั้นตอนการวางแผนมีการพิจารณาและกำหนดประเด็นสำคัญ ตามข้อกำหนด 4.4.1 ได้แก่ วัตถุประสงค์ กลุ่มเป้าหมายสมาชิกห้องปฏิบัติการ ชนิดสาร ช่วงปริมาณการวิเคราะห์ การจัดการตัวอย่างทดสอบ วิธีที่ใช้ในการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว กำหนดเกณฑ์การประเมินผล จัดเตรียมเอกสารที่จำเป็นสำหรับสมาชิก รูปแบบการรายงาน และรายละเอียดอื่น ในการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ตามข้อกำหนด 4.4.2 จะต้องพิจารณาลักษณะชนิดตัวอย่าง ปริมาณสารที่ตรวจวัด สมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว เพื่อใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญได้อย่างมีคุณสมบัติเหมาะสม ซึ่งตัวอย่างทดสอบความชำนาญเป้าหมายที่ต้องการ คือ ตัวอย่างที่เตรียมจากพืชกัญชาที่มีสารตกค้างและสารปนเปื้อนอยู่แล้ว (incurred sample) จึงได้มีการคัดเลือกพืชกัญชาที่เป็นของกลาง ซึ่งมีรายงานการตรวจพบสารตกค้างและสารปนเปื้อน ทั้งนี้ตัวอย่างที่เตรียมจะมีชนิดและปริมาณสารที่ตรวจวัดตามสถานการณ์จริงของตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์จะได้รับ การเตรียมตัวอย่างเริ่มจาก

นำกัญชาแห้งอัดแท่งน้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม หั่นแบ่งชิ้นส่วนด้วยมีดให้เป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 1 นิ้ว จากนั้น บดละเอียดด้วยเครื่องบดปั่น (Mill Machine, POWTEQ HM100) ก่อนนำมาผสมรวมกันแล้วร่อนผ่านตะแกรง สแตนเลส (Standard Sieve, Aperture 1.0 mm) ได้ตัวอย่างพืชกัญชาที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นผง ขนาดไม่เกิน 1.0 มิลลิเมตร น้ำหนักรวม 840 กรัม นำตัวอย่างที่ได้ผสมรวมกันด้วยเครื่องผสมอาหารหัวตะกร้อ แล้วใช้ช้อนสแตนเลส ตักเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม จำนวน 3 จุด เพื่อนำตัวอย่างแต่ละจุดไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเบื้องต้น เมื่อผลการทดสอบปริมาณสารผ่านเกณฑ์ของการทำซ้ำ (Relative Standard Deviation) น้อยกว่าร้อยละ 22 ทำการแบ่งบรรจุโดยนำผงพืชกัญชามาผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมอาหารหัวตะกร้อ นาน 30 นาที พร้อมทั้งกวนให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอในแต่ละครั้งที่มีการสุ่มตัก บรรจุใส่ของพลาสติกกลาไมเนตอลูมิเนียมฟอยด์ที่ติดฉลากเรียงหมายเลขตามลำดับการบรรจุ ซึ่งน้ำหนักประมาณ 15 กรัมต่อซอง ผนึกปากซองปิดสนิทด้วยเครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน (heat sealer machine) และรวบรวมซองตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกปิดฝา เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน -10 องศาเซลเซียส เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างที่เตรียมได้ไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวกรณีที่พบว่าผลเป็นไปตามเกณฑ์ ISO 13528 : 2015 จะถือว่าตัวอย่างดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

วิธีวิเคราะห์การตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

วิธีวิเคราะห์ที่ใช้เป็น modified QuEChERS^(7,8) Smart DI 0600 SOP 0005 : In-house method based on AOAC (2019) 2007.01 ซึ่งตัวอย่างพืชกัญชาที่บดละเอียด 1.0 กรัม ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นหรือน้ำ (deionized water) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 30 นาที เพื่อเพิ่มความชื้นจนตัวอย่างดูดซับน้ำและฟองตัว ใส่แท่งเซรามิกเพื่อช่วยในการกวนผสม จากนั้นเติม 1% acetic acid in acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 1 นาที เติมสารผสม extraction kit (AOAC 2007.01) แล้วเขย่าให้เข้ากันด้วยมืออีก 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ตัวอย่างจะเกิดการแยกชั้น ปิเปต 1 มิลลิลิตร ดูดสารสกัดชั้นบนนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย dispersive SPE ที่เหมาะสม จากนั้น centrifuge อีกครั้ง ที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างของแข็งและของเหลว ปิเปตสารละลายด้านบน 0.5 มิลลิลิตร ระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายผสมระหว่าง n-hexane และ ethyl acetate นำไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณด้วยเครื่องมือ GC-ECD สำหรับการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ และ GC-FPD สำหรับการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาฟอสฟอรัส วิเคราะห์ด้วยเทคนิค matrix-matched calibration curve มีการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ โดยทำการสกัดและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างชา (dried tea) ที่ตรวจไม่พบสารตกค้าง (blank sample) แล้วเติมสารมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ใช้เกณฑ์ยอมรับการคืนกลับ (recovery) อยู่ในช่วง 70-120% วิธีที่ใช้วิเคราะห์ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี และความคุ้มครองกระบวนการวิเคราะห์ตามเอกสาร SANTE/12682/2019 ซึ่งเป็นแนวทางวิธีการตรวจสอบความถูกต้องและข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ในสหภาพยุโรป เพื่อให้มั่นใจในความถูกต้องของข้อมูลที่ใช้สำหรับตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ระบุปริมาณการตกค้างสูงสุดที่สามารถยอมรับได้ตามกฎหมาย หรือนำข้อมูลไปใช้ในการประเมินการสัมผัสสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

วิธีวิเคราะห์การปนเปื้อนของโลหะหนัก

การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของแคดเมียม (Cadmium) ด้วยวิธี In-house method based on AOAC (2019) 2015.01⁽⁹⁾ โดยซึ่งตัวอย่างพืชกัญชาที่บดละเอียด 0.6 กรัม ลงใน Quartz sample tube เติมน้ำกลั่นหรือน้ำ (deionized water) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันตัวอย่างเกิดการระเหิดจากการเติมกรดไนตริกเข้มข้น (min. 67% w/v,

high purity for trace analysis) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยไมโครเวฟจนสารละลายใสไม่มีตะกอน ยกออกจากเครื่องและปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย deionized water ให้เป็น 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดหาความเข้มข้นของแคดเมียมโดยใช้เครื่องมือ ICP-MS

การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของตะกั่ว (Lead) และสารหนูทั้งหมด (Total Arsenic) โดยย่อยตัวอย่างพร้อมกันแล้ววัดหาปริมาณสารทั้งสองชนิดด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน ดังนี้ ซึ่งตัวอย่างพืชผักที่บดละเอียด 0.3 กรัม ลงใน Quartz sample tube เติมน้ำ deionized water ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันตัวอย่างเกิดการระเหยจากการเติมกรดไนตริกเข้มข้น (min. 67% w/v, high purity for trace analysis) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยไมโครเวฟจนสารละลายใสไม่มีตะกอน ยกออกจากเครื่องและปล่อยให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย deionized water ให้เป็น 25 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายปริมาตรประมาณ 1 - 2 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดหาความเข้มข้นของตะกั่วด้วยเครื่อง GFAAS ตาม Smart DI 0600 SOP 0012: AOAC (2019) 999.10⁽¹⁰⁾ และตรวจสารละลายปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ internal standard ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดหาความเข้มข้นของสารหนูทั้งหมดด้วยเครื่อง ICP-MS ตาม In-house method based on AOAC (2019) 2015.01

การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของปรอททั้งหมด (Total Mercury) ใช้วิธี Smart DI 0600 SOP 0013: In-house method based on AOAC (2019) 997.15⁽¹¹⁾ โดยซึ่งตัวอย่างพืชผักที่บดละเอียด 0.3 กรัม ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกรดผสมเข้มข้นระหว่างกรดไนตริกและกรดซัลฟิวริก อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ตั้งบนเปลวไฟเพื่อเร่งการย่อยสารอินทรีย์และอนินทรีย์จนกลายเป็นสารละลายใสไม่มีตะกอน ยกออกจากเปลวไฟและปล่อยให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง เติมน้ำสารละลาย KMnO₄ เพื่อออกซิไดส์ปรอทให้อยู่ในรูป Hg²⁺ จากนั้นเติมน้ำสารละลาย Tin (II) chloride เพื่อรีดิวซ์ปรอทให้อยู่ในรูป Hg⁰ ซึ่งอยู่ในสถานะไอ สามารถตรวจวัดปรอททั้งหมดโดยเครื่อง mercury analyzer ซึ่งเรียกว่า cold vapour atomic absorption spectrometry technique

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

สุ่มของบรรจุตัวอย่างพืชผักที่เตรียมได้ แบบสุ่มอิสระ (random sampling) จำนวน 10 ซอง โดยใช้คำสั่ง RANDBETWEEN ในโปรแกรม Excel ก่อนนำมาวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก โดยทำการวิเคราะห์ซองละ 2 ซ้ำ ตามวิธีวิเคราะห์ที่ระบุดังกล่าวข้างต้น นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติเพื่อตรวจสอบค่าสุดต่าง (maximum difference) โดยใช้ Cochran's test ในการทดสอบความแปรปรวนภายในของตัวอย่าง (within sample variation) จากนั้นทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันตาม ISO 13528: 2015 โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย One way ANOVA single factor for homogeneity test ได้ค่า mean square between (MSB) และ mean square within (MSW) คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (S_s , between samples standard deviation)

$$\text{จากสูตร} \quad S_s = \frac{\sqrt{MSB-MSW}}{\sqrt{2}}$$

โดยใช้เกณฑ์ยอมรับที่ S_s ของทุกรายการวิเคราะห์ ควรมีค่าน้อยกว่า 0.3 ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานประเมินผลการทดสอบความชำนาญ (standard deviation ของ PT, σ_{pt})

การทดสอบความคงตัว

สุ่มของบรรจุตัวอย่างพืชกัญชา แบบสุ่มอิสระ จำนวน 3 ของ นำมาบรรจุในซองกระดาษ วางไว้ในพื้นที่ที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 3 วัน เพื่อเลียนแบบสภาวะการขนส่งที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ในช่วงเวลาการเดินทางจากสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ไปถึงห้องปฏิบัติการสมาชิก จากนั้นนำมาเก็บไว้ที่ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน นำมาวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก โดยควบคุมสภาวะที่เหมือนกันตลอดกระบวนการทดสอบคงตัวและการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ได้แก่ วิธีวิเคราะห์ ผู้วิเคราะห์ และเครื่องมือ นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน พิจารณาการยอมรับจากเกณฑ์กำหนดตาม ISO 13528 : 2015

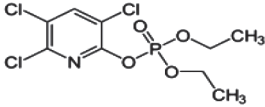
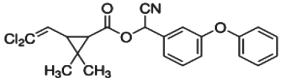
ผล

ตัวอย่างพืชกัญชาที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นผง ขนาดไม่เกิน 1.0 มิลลิเมตร น้ำหนักรวม 840 กรัม เมื่อสุ่มตัวอย่างจาก 3 จุด และนำแต่ละจุดมาตรวจวิเคราะห์ พบว่ามีการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ chlorpyrifos และ cypermethrin และตรวจพบการปนเปื้อนของโลหะหนัก ได้แก่ cadmium, lead, total arsenic และ total mercury โดยผลการทดสอบปริมาณสารผ่านเกณฑ์ของการทำซ้ำ น้อยกว่าร้อยละ 22 ของทุกสาร จากนั้นทำการแบ่งบรรจุ ได้ตัวอย่างจำนวน 56 ของ งานวิจัยครั้งนี้ต้องการนำเสนอรายละเอียดผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัวของสาร 3 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin และ cadmium ซึ่งสมบัติทางเคมีและความเป็นพิษของสารเหล่านี้ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ของสารดังกล่าวจากตัวอย่าง 10 ของ ทำการวิเคราะห์ของละ 2 ซ้ำ พบปริมาณสารและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ดังนี้ chlorpyrifos 85.6 ± 3.5 , cypermethrin $32,520 \pm 1,625$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ cadmium 344 ± 18 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อประเมินค่าความเบี่ยงเบนทางสถิติของปริมาณสารตกค้างภายในซองตัวอย่างเดียวกัน และระหว่างซองตัวอย่างที่ต่างกัน จากเกณฑ์กำหนด ตาม ISO 13528 : 2015 การวิเคราะห์ค่าสุดต่างโดย Cochran's test เพื่อทดสอบความแปรปรวนภายในของตัวอย่าง และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (between samples standard deviation, s_b) พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง มีค่าน้อยกว่า 0.3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมายที่คำนวณจาก Horwitz' equation และค่าเฉลี่ยของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (ค่า $s_b < 0.3\sigma_{pt}(\text{Horwitz})$) ซึ่งแสดงว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันและเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ดังแสดงในตารางที่ 2

เนื่องจากคุณสมบัติสำคัญของตัวอย่างทดสอบความชำนาญต้องมีทั้งความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว ในช่วงเวลาที่กำหนดเพื่อดำเนินแผนทดสอบความชำนาญ ดังนั้นเมื่อตัวอย่างพืชกัญชาที่เตรียมผ่านการทดสอบและมีสมบัติของความเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว จำเป็นจะต้องศึกษาความคงตัวของสารในตัวอย่าง เพื่อให้มั่นใจว่าตัวอย่างดังกล่าวมีความเหมาะสมที่จะใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ จากการออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาความคงตัวโดยเก็บตัวอย่างในบริเวณที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งตัวอย่างจะอยู่ในสภาวะสัมผัสกับอุณหภูมิในช่วง 28-34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาเก็บไว้ที่ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน ก่อนนำมาวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและการวิเคราะห์โลหะหนักด้วยวิธีวิเคราะห์เดียวกันกับการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน มีค่าเฉลี่ยจากการทดสอบความคงตัวและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานดังนี้ chlorpyrifos 89.6 ± 3.4 , cypermethrin $33,75 \pm 2,619$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ cadmium 321 ± 11 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีและความเป็นพิษของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักในตัวอย่างพืชผัก

Chemicals	Properties	Toxicity
Organophosphorus pesticide: chlorpyrifos 	CAS Number 2921-88-2 Molecular Formula $C_9H_{11}Cl_2NO_3PS$	Acute toxicity, (Category 3), H301 Toxic if swallowed Acute toxicity, (Category 1), H400 Very toxic to aquatic life. Aquatic Chronicity, (Category 1), H410 Very toxic to aquatic life with long lasting effects Acceptable Daily Intake (ADI): 0.01 mg/kg body weight (JMPR in 2004) ⁽¹²⁾
Synthetic pyrethroid Pesticide: cypermethrin (mix isomers) 	CAS Number: 52315-07-8 Molecular Formula $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	Acute toxicity, Oral (Category 3), H301 Acute toxicity, Inhalation (Category 4), H332 Specific target organ toxicity - single exposure (Category 3), Respiratory system, H335 Acceptable Daily Intake (ADI): 0-0.02 mg/kg body weight, summary for cypermethrins, including alpha-cypermethrin and zeta-cypermethrin (JMPR in 2006) ⁽¹³⁾
Food Contaminant: Cadmium Cd^{2+}	CAS Number: 7440-43-9	Mutagenicity, (category 1B), H340 May cause genetic defects Carcinogenicity, (category 1B), H350 May cause cancer Reproduction toxicity, (category 1), H360 May damage fertility or the unborn child. Eye irritation (category 2A), H319 Causes serious eye irritation. Provisional tolerable monthly intake (PTMI): 25 µg/kg body weight ⁽¹⁴⁾

วิเคราะห์ผลความคงตัวโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย จากการทดสอบความคงตัวเป็นเนื้อเดียวกันและค่าเฉลี่ย จากการทดสอบความคงตัว ซึ่งผลของการศึกษาความคงตัวของปริมาณสาร chlorpyrifos cypermethrin และ cadmium เมื่อเก็บในสภาวะเลียนแบบการขนส่งโดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 3 วัน พบว่ามีความคงตัวเพียงพอตามมาตรฐาน ISO 13528 : 2015 รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักในตัวอย่างพืชกัญชา

รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ($\mu\text{g/kg}$)				ปริมาณโลหะปนเปื้อน ($\mu\text{g/kg}$)	
	Chlorpyrifos		Cypermethrin		Cadmium	
	Duplicate 1	Duplicate 2	Duplicate 1	Duplicate 2	Duplicate 1	Duplicate 2
#MJ-05	86.6	83.2	33,833	34,134	357	314
#MJ-10	92.9	84.6	30,632	32,299	362	346
#MJ-14	81.5	87.3	30,694	32,939	347	324
#MJ-18	92.7	83.0	29,825	32,411	344	347
#MJ-22	81.7	82.5	29,051	32,043	326	333
#MJ-28	90.6	87.4	35,670	32,374	358	328
#MJ-49	84.7	83.0	32,438	33,055	364	359
#MJ-51	84.6	88.1	31,791	34,089	317	353
#MJ-55	87.6	84.2	33,391	33,055	349	317
#MJ-56	84.9	81.5	34,679	32,002	371	369
Mean _{homogeneity}	85.6		32,520		344	
SD	3.5		1,625		18	
Cochran _{critical}	0.602		0.602		0.602	
Cochran _{calculation}	0.367		0.229		0.311	
$\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	18.8		3,080		65	
$s_s(\text{between samples standard deviation})$	0		537.8		8	
$0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	5.6		924		19	
$s_s < 0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	Passed		Passed		Passed	

หมายเหตุ s_s (between samples standard deviation) คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง

$$\text{คำนวณ จาก } s_s = \frac{\sqrt{|\text{MSB}-\text{MSW}|}}{\sqrt{2}}$$

$\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมายที่คำนวณจาก Horwitz' equation และค่าเฉลี่ยของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเพื่อใช้ประเมินผลการทดสอบความชำนาญ

เมื่อนำค่าปริมาณสารตกค้างและสารปนเปื้อนที่ได้จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และทดสอบความคงตัว แสดงเป็น scatter plot เพื่อสังเกตแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างลำดับหมายเลขตัวอย่างหรือลำดับของการแบ่งบรรจุ โดย แกน x คือ หมายเลขตัวอย่างที่ซ่อง และ แกน y คือ ปริมาณสาร โดยปริมาณสารทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin และ cadmium มีการกระจายตัว ดังแสดงในภาพที่ 1-3 ตามลำดับ จากภาพที่ 1 พบว่าผลการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันของสาร chlorpyrifos มีการกระจายตัวอยู่ในช่วง $\pm 0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$ มีค่าเฉลี่ยของความเป็นเนื้อเดียวกันที่ความเข้มข้น 85.6 ± 3.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ร้อยละ 4.1 และค่าเฉลี่ยความคงตัวที่ 89.6 ± 3.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ เนื่องจาก $|y_1 - y_2| < 0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$

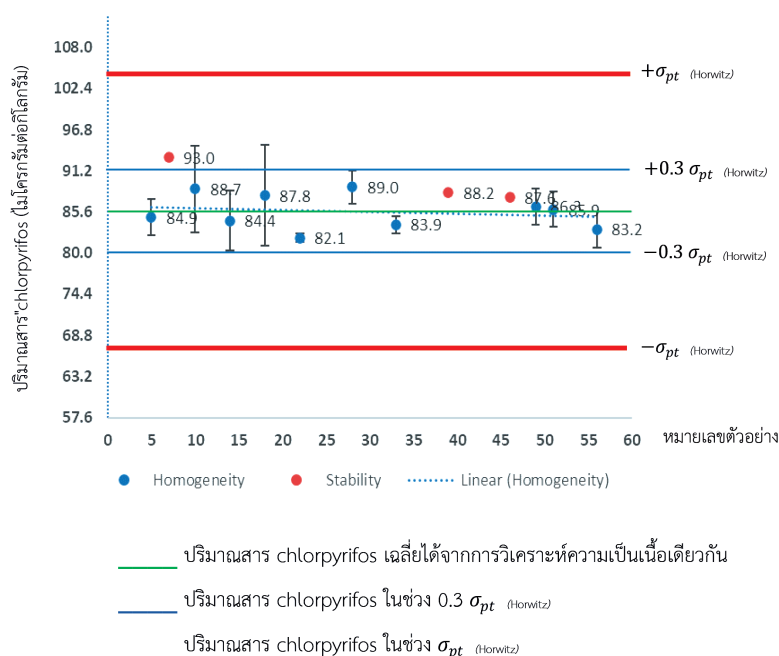
ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคงตัวของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักในตัวอย่างพืชผัก

รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ($\mu\text{g/kg}$)				ปริมาณโลหะปนเปื้อน ($\mu\text{g/kg}$)	
	Chlorpyrifos		Cypermethrin		Cadmium	
	Duplicate 1	Duplicate 2	Duplicate 1	Duplicate 2	Duplicate 1	Duplicate 2
#MJ-07	95.3	90.8	35,296	35,213	303	335
#MJ-39	89.7	86.6	33,478	33,267	322	326
#MJ-46	89.3	85.9	36,302	28,961	322	317
Mean _{(stability): y2}	89.6		33,753		321	
SD	3.4		2,619		11	
Mean _{(homogeneity): y1}	85.6		32,520		344	
$ y_1 - y_2 $	4.0		1,233		23	
$\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	18.8		3,080		65	
$0.3\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	5.6		924		19	
$ y_1 - y_2 < 0.3\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$	Passed		Not Passed ^a		Not Passed ^a	
$0.3\sigma_{\text{pt(Horwitz)} + 2\sqrt{u^2(y_1) + u^2(y_2)}}$	-		2,028		27	
$ y_1 - y_2 < 0.3\sigma_{\text{pt(Horwitz)} + 2\sqrt{u^2(y_1) + u^2(y_2)}}$	-		Passed ^b		Passed ^b	

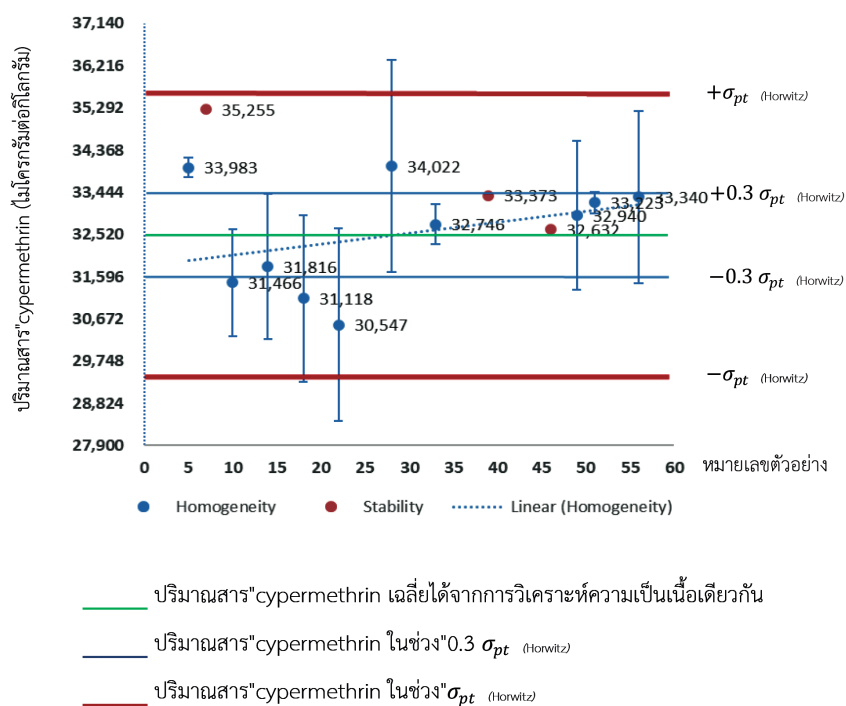
หมายเหตุ: ^a ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและปริมาณสารจากการทดสอบความคงตัว มีค่ามากกว่า 0.3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย ที่คำนวณจาก Horwitz' equation เพื่อใช้ประเมินผลการทดสอบความชำนาญ

^b ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและปริมาณสารจากการทดสอบความคงตัวอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ เมื่อค่าความไม่แน่นอนขยายของค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและการทดสอบความคงตัว รวมกับ 0.3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย ที่คำนวณจาก Horwitz' equation

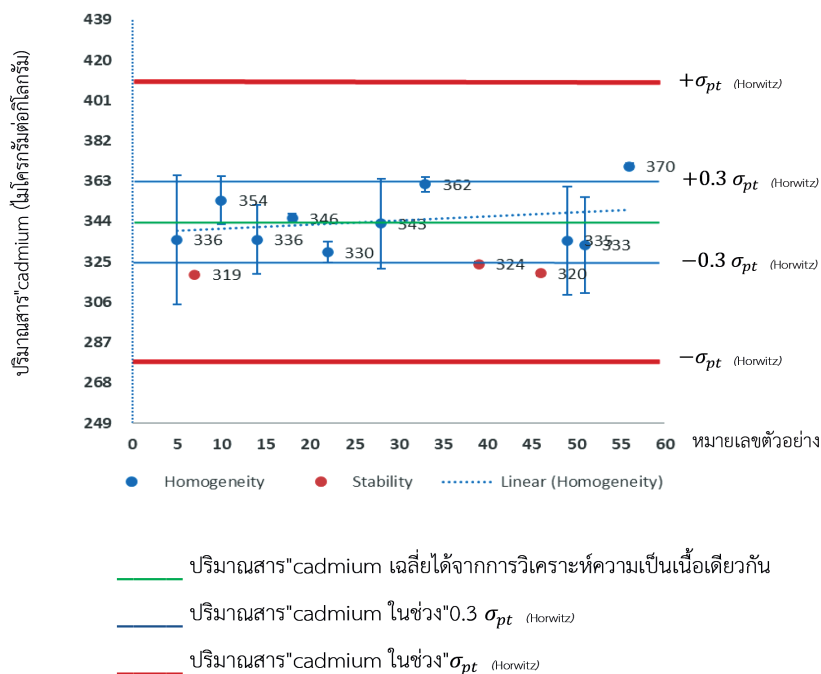
ผลการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันของสาร cypermethrin ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่ามีการกระจายตัวอยู่ในช่วง $\pm 0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$ มีค่าเฉลี่ยของความเป็นเนื้อเดียวกันที่ความเข้มข้น $32,520 \pm 1,625$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า RSD ร้อยละ 5.0 ในเบื้องต้นผลค่าเฉลี่ยของการทดสอบความคงตัวที่ $33,750 \pm 2,619$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าไม่อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อนำค่าความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty) ของค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและการทดสอบความคงตัว รวมกับ 0.3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย ที่คำนวณจาก Horwitz' equation ซึ่งเป็นการขยายช่วงเกณฑ์ยอมรับ คำนวณจากสูตร $|y_1 - y_2| < 0.3 \sigma_{\text{pt(Horwitz)} + 2\sqrt{u^2(y_1) + u^2(y_2)}}$ จะพบว่าสาร cypermethrin ในตัวอย่างมีความคงตัวอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ สำหรับผลการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันของ cadmium จะพบว่าการกระจายตัวอยู่ในช่วง $\pm 0.30.3\sigma_{\text{pt(Horwitz)}}$ มีค่าเฉลี่ยของความเป็นเนื้อเดียวกันที่ความเข้มข้น 344 ± 18 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า RSD ร้อยละ 5.2 ในเบื้องต้นผลค่าเฉลี่ยของการทดสอบความคงตัวที่ 321 ± 11 มีค่าไม่อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อนำค่าความไม่แน่นอนขยายช่วงเกณฑ์ยอมรับโดยพิจารณาค่าความไม่แน่นอนเช่นเดียวกันกับกรณีการทดสอบความคงตัวของสาร cypermethrin พบว่า cadmium มีความคงตัวอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 1 การกระจายตัวของผลวิเคราะห์ปริมาณสาร chlorpyrifos จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและการทดสอบความคงตัว



ภาพที่ 2 การกระจายตัวของผลวิเคราะห์ปริมาณสาร cypermethrin จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความคงตัว



ภาพที่ 3 การกระจายตัวของผลวิเคราะห์ค่าปริมาณโลหะ cadmium จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน การทดสอบความคงตัว

วิจารณ์

การศึกษาพัฒนาตัวอย่างทดสอบพืชผัก โดยเลือกชนิดตัวอย่างที่ตรวจพบการตกค้างอยู่แล้ว (incurred sample) เนื่องจากพืชผักมีการดูดซึมสารเหล่านี้เข้าไปในเนื้อเยื่อพืชได้จากสิ่งแวดล้อมหรืออาจได้รับการฉีดพ่นในแปลงเกษตร หรือฉีดพ่นเพื่อทำลายแมลงที่อาจก่อให้เกิดความเสียหายในขณะเก็บรักษาผักแห้ง เป็นต้น ซึ่งจะเป็นสภาพตัวอย่างจริงที่ห้องปฏิบัติการจะได้รับ ทั้งนี้ตัวอย่างดังกล่าวจะเกิดประโยชน์ในการใช้ประเมินประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติสมาชิกเครือข่ายที่อาจผ่านการศึกษา single laboratory validation โดยใช้ spiked sample เพียงอย่างเดียว แม้ว่าจะมีค่าใช้จ่ายของการกลับคืนในการควบคุมคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่เป็น incurred sample อาจมีผลวิเคราะห์ที่เบี่ยงเบนไปในทางลบ หรือน้อยกว่าค่าปริมาณสารในตัวอย่างทดสอบที่เป็นค่ากำหนด สังเกตจากผลการประเมินมีค่า z-score เป็นลบนอกเกณฑ์กำหนด ซึ่งห้องปฏิบัติการควรพิจารณาสาเหตุสำคัญ ได้แก่ การเลือกใช้ตัวทำละลายที่ไม่เหมาะสมหรือมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ ที่จะละลายหรือสกัดสารที่อยู่ในเนื้อเยื่อของตัวอย่างออกมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นพืชแห้ง ในการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและการวิเคราะห์โลหะหนัก จำเป็นต้องมีขั้นตอนการเติมน้ำลงในตัวอย่างทั้งนี้เพื่อให้เนื้อเยื่อของตัวอย่างและเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดเมื่อเติมตัวทำละลาย ในกรณีที่ไม่มีการเติมน้ำจะพบว่าผลการวิเคราะห์มีปริมาณสารน้อยกว่าเมื่อเติมน้ำเนื่องจากตัวทำละลายจะสามารถสกัดสารที่เคลือบอยู่ที่บนผิวของตัวอย่างได้เท่านั้น การใช้ตัวอย่างทดสอบความชำนาญลักษณะดังกล่าวจึงสอดคล้องกับหลักการออกแบบตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มุ่งให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิกล้วนจะต้องคำนึงถึงชนิดและปริมาณสารที่ตรวจวัดให้สอดคล้องใกล้เคียงกับตัวอย่างจริงที่ห้องปฏิบัติการทำการวิเคราะห์ รวมทั้งใช้สารมาตรฐานที่มีสมบัติการสลายตัวได้ทางมาตริวิทยา ทำให้สามารถต่อยอดพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มีคุณสมบัติ

เป็นวัสดุอ้างอิงเนื่องจากมีเป็นความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความคงตัวที่เหมาะสมและมีค่าความไม่แน่นอนที่มีความสมเหตุสมผลน่าเชื่อถือ อย่างไรก็ตามการค้นหาคำว่าตัวอย่างที่เป็น incurred sample ที่มีชนิดสารและปริมาณที่เหมาะสมกับการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการนั้นเป็นเรื่องยาก อาจต้องมีการคัดเลือกตัวอย่างจากหลายแหล่งเพื่อนำมาวิเคราะห์ทราบปริมาณสารในเบื้องต้นที่เหมาะสมแล้วนำมาเตรียมเป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญต่อไป

จากผลการวิเคราะห์ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน พบชนิดสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ได้แก่ chlorpyrifos มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 85.6 ± 3.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเทียบกับปริมาณสูงสุด (maximum limits, ML) ของ chlorpyrifos ที่ระบุ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (หรือ 200 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) คิดเป็นปริมาณตกค้างน้อยกว่าค่า ML ประมาณ 0.4 เท่า ในขณะที่พบสาร cypermethrin ที่ $32,520 \pm 1,625$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็นปริมาณตกค้างมากกว่าค่า ML 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (หรือ 1,000 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) ถึง 32.5 เท่า และพบการปนเปื้อนของ cadmium ที่ระดับความเข้มข้น 344 ± 18 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับค่า ML ที่ระบุ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (300 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย พ.ศ. 2560 และฉบับเพิ่มเติม ดังนั้นตัวอย่างพืชกัญชาที่เตรียมได้มีชนิดและปริมาณสารที่สามารถใช้เป็นตัวแทนชนิดสาร ที่มีการควบคุมปริมาณสารตกค้างและโลหะหนักปนเปื้อนในวัตถุดิบกัญชาสำหรับการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์จากผลศึกษาความคงตัวโดยเก็บไว้ในพื้นที่ที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิเพื่อเลียนแบบสถานะในขณะขนส่ง ซึ่งตัวอย่างที่เตรียมได้มีการสัมผัสกับอุณหภูมิในช่วง 28-34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างพืชกัญชาที่เตรียม มีสมบัติของความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวเพียงพอ ตามเกณฑ์กำหนดมาตรฐาน ISO 13528: 2015 สามารถใช้เป็นตัวอย่างเป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มีคุณภาพในการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) เพื่อระบุชนิดของสารและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) ของห้องปฏิบัติการสมาชิกเครือข่ายได้ต่อไป

สรุป

ตัวอย่างทดสอบความชำนาญพืชกัญชาที่เตรียมได้มีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวที่เหมาะสมเป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน ISO 13528: 2015 สามารถนำไปใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก ทั้งการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสาร chlorpyrifos, cypermethrin และ cadmium ในพืชกัญชา ซึ่งอ้างอิงการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดเพื่อควบคุมปริมาณสารตกค้างและสารปนเปื้อนในวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย พ.ศ. 2560 การจัดทำแผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์กัญชาที่ใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามประเมินผลและพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการเครือข่าย ให้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชกัญชาโดยตรงเนื่องจากพืชกัญชาเป็นกลุ่มตัวอย่างชนิดใหม่ซึ่งหลายห้องปฏิบัติการอาจไม่มีประสบการณ์วิเคราะห์ และการใช้ตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มีลักษณะเป็น incurred sample ที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างจริง ทำให้เกิดประโยชน์ในการประเมินประสิทธิภาพ วิธี และความสามารถของผู้วิเคราะห์ จากการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นวิธีการควบคุมคุณภาพจากภายนอก (external quality control) ตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017⁽¹⁵⁾ นอกเหนือจากการใช้ spiked sample ซึ่งห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control) ทั้งนี้เมื่อห้องปฏิบัติการนำผลวิเคราะห์ จากการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการมาปรับปรุงคุณภาพการวิเคราะห์นั้น เป็นการส่งเสริมพัฒนาความสามารถเครือข่ายห้องปฏิบัติการของประเทศให้มีคุณภาพ เป็นที่ยอมรับในความเท่าเทียมกันของผลการวิเคราะห์ และสร้างความมั่นใจให้กับผู้ที่นำผลการวิเคราะห์ไปใช้ประโยชน์ในการคัดกรองวัตถุดิบพืชกัญชาให้ได้คุณภาพตามที่ต้องการและลดความเสี่ยงของสารตกค้างและสารปนเปื้อนก่อนนำมาใช้ในการผลิตยาและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ภายใต้โครงการบูรณาการพัฒนากัญชาทางการแพทย์และผลิตภัณฑ์สุขภาพจากพืชกัญชา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562-2565 และได้รับการสนับสนุนให้ดำเนินงานจนสำเร็จจากผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ขอขอบคุณนางสาวจิตตภา สันต์ตรบ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ ที่ให้คำปรึกษาในการวางแผนทดสอบความชำนาญ และนางสาวบุษยา แสงวิรุฬห์ หัวหน้าฝ่ายสารพิษและสารปนเปื้อนที่เป็นที่ปรึกษาในการวิเคราะห์โลหะหนัก

เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ ฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2562). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 136 ตอนที่ 19 ก (วันที่ 18 กุมภาพันธ์ 2562). หน้า 1.
2. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 (พ.ศ. 2563). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 137 ตอนพิเศษ 290 ง (วันที่ 14 ธันวาคม 2563). หน้า 33.
3. Department of Medical Sciences. Thai herbal pharmacopoeia 2017. Nonthaburi, Thailand : Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health; 2017.
4. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร. รายงานประจำปี 2563. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 10 ก.ค. 2564]; [97 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL : http://bqsf.dmshc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish/annual_report/BQSF%20Annual%20Report-2020.pdf.
5. ISO 13528 : 2015. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Geneva, Switzerland : International Organization for Standardization; 2015.
6. ISO/IEC 17043 : 2010. Conformity assessment – general requirements for proficiency testing. Geneva, Switzerland : International Organization for Standardization; 2010.
7. AOAC Official Method 2007.01 : Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. In : Official methods of analysis. 19th ed. Rockville, Maryland : AOAC International; 2012.
8. รติยากร ศรีโคตร, วิชาดา จงมีวาสนา. วิธีลดปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้. ว รมวิทย์ พ 2564; 63(1) : 38-50.
9. Briscoe. M. Determination of heavy metals in food by inductively coupled plasma-mass spectrometry : First Action 2015.01. J AOAC Int 2015; 98(4) : 1113-20.
10. AOAC Official Method 999.10 : Lead, cadmium, zinc, copper, iron in foods. Atomic absorption spectrophotometry after microwave digestion. In : Official methods of analysis. 21th ed. Rockville, Maryland : AOAC International; 2019.
11. AOAC Official Method 997.15 : Lead in sugars and syrups. Graphite furnace atomic absorption method. In : Official method of analysis. 21th ed. Rockville, Maryland : AOAC International; 2019.
12. World Health Organization. Pesticide residues in food 2004 : joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment and the WHO core assessment

- group. 20–29 September 2004. Rome, Italy : Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004. p. 44–48.
13. World Health Organization. Pesticide residues in food 2006 : joint FAO/WHO meeting on pesticide residue. Rome, Italy : Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006. p. 95–101.
 14. World Health Organization. Preventing disease through health environments. Exposure to cadmium : a major public health concern. Geneva, Switzerland : WHO; 2010.
 15. ISO/IEC 17025 : 2017. General requirement for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, Switzerland : International Organization for Standardization; 2017.
-

Development of Cannabis Proficiency Test Sample for Pesticide Residue and Heavy Metal Analysis

Wischada Jongmevasna Panawan Kluengklangdon Weerawut Wittayanon Supat Sangsuay
Thoranit Chaimongkol and Kanpirom Lertbumroongchai

*Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000,
Thailand*

ABSTRACT Since 2019, the medicinal cannabis policy has been established, the value chains related to cannabis plantation, distribution and product development have then been dramatically increasing. For the quality and safety of medical product' concerns, pesticide residues and heavy metals are highly recommended parameters for cannabis raw material analysis. To monitor and enhance the competency of DMSc network laboratories, the Department of Medical Sciences, a reference laboratory for medical services and public health has planned for setting the cannabis proficiency testing. Therefore, this study focused on the development of a cannabis proficiency test (PT) sample. The dried cannabis containing incurred pesticide residues and heavy metals provided by the Office of the Narcotics Control Board was prepared, packed and tested for its homogeneity. The result showed that the candidate PT sample was sufficiently homogeneous, the average concentration and standard deviation determined by using GC-ECD/FPD for chlorpyrifos and cypermethrin were in the range of 85.6 ± 3.5 and $32,520 \pm 1,625$ $\mu\text{g/kg}$, respectively. That of cadmium analyzed by using ICP-MS was 344 ± 18 $\mu\text{g/kg}$. In addition, temperature effects during transportation for 3-day at uncontrolled temperature and 2-month at -10°C storage were carried out. Chlorpyrifos, cypermethrin and cadmium concentrations still remained at the level of 89.6 ± 3.4 , $33,753 \pm 2,619$ and 321 ± 11 $\mu\text{g/kg}$, respectively. As a result of statistical analysis, it indicated that those analytes in the prepared PT sample were satisfactorily homogeneous and stable. It could be concluded that the prepared sample was successfully developed as a potential PT sample with sufficiently homogeneous and stable properties following ISO 13528: 2015 and suitably used for the laboratory evaluation of pesticide residues and heavy metals.

Keywords: Proficiency test sample, Cannabis, Pesticide residue, Trace element