

การพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญสำหรับ การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของกัญชา ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ศิริพร ทองประกายแสง และ จำเริญ ดวงงามยิ่ง

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ตามที่กระทรวงสาธารณสุขออกกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงเกี่ยวกับกัญชาและกัญชง 4 ฉบับ ในปี พ.ศ. 2564-2565 เพื่อให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ รวมทั้งนำส่วนต่างๆ ของพืชกัญชาและกัญชงมาใช้ประโยชน์ ในเชิงพาณิชย์ โดยควบคุมปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท คือ tetrahydrocannabinol (THC) ในผลิตภัณฑ์ สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้พัฒนาห้องปฏิบัติการบริการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ THC และ cannabidiol (CBD) ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ในปี พ.ศ. 2564 การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายทั้งภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ สาร THC และ CBD ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง จึงจัดให้มีโปรแกรมทดสอบความชำนาญ ซึ่งยังไม่มีผู้ให้บริการทดสอบ ความชำนาญ โดยพัฒนาการทดสอบความชำนาญของตัวอย่าง 2 ชนิด คือ ครีมที่มีความเข้มข้นของสาร THC ร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก และแซมพูที่มีความเข้มข้นของ CBD ร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนัก นำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน ความคงตัว และประเมินทางสถิติตามมาตรฐาน ISO 13528:2015 พบว่าตัวอย่างสูตรตำรับครีมที่ผสม THC มีความเป็นเนื้อ เดียวกัน ความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ในสภาวะเร่งที่ 45 ± 2 องศาเซลเซียส รวมถึงสภาวะการขนส่งมี ความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการดำเนินกิจกรรมเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ พบว่าสูตรตำรับแซมพูผสม CBD มีปัญหาด้านความคงตัวจำเป็นต้องพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป เพื่อนำไปสู่การขอรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2022 และ ขยายขอบข่ายการให้บริการด้านการทดสอบความชำนาญของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

คำสำคัญ: THC, CBD, เครื่องสำอาง, ทดสอบความชำนาญ, สารสกัดกัญชา

Corresponding author E-mail: Siriporn.t@dmsc.mail.go.th

Received: 11 January 2023

Revised: 4 August 2023

Accepted: 11 August 2023

บทนำ

เครื่องสำอาง ตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 หมายถึง วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นใดกับ ส่วนภายนอกของร่างกายมนุษย์และให้หมายรวมถึง การใช้กับฟันและเยื่อในช่องปาก โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะ ที่ปรากฏ หรือระงับกลิ่นกาย หรือปกป้องดูแลส่วนต่าง ๆ ให้อยู่ในสภาพดี รวมทั้งเครื่องประพินผิวต่าง ๆ แต่ไม่รวม เครื่องประดับและเครื่องแต่งตัว ซึ่งเป็นอุปกรณ์ ภายนอกร่างกาย⁽¹⁾ ปัจจุบันเครื่องสำอางเป็นปัจจัยที่ 5 ที่มีความสำคัญกับมนุษย์ทุกเพศทุกวัย ทำให้ธุรกิจ ด้านเครื่องสำอางระดับโลกเติบโตมาอย่างต่อเนื่อง คาดการณ์ว่าปี ค.ศ. 2021–2028 ธุรกิจนี้จะมีอัตราการเติบโตรายปีแบบผสม (compound annual growth rate, CAGR) ประมาณร้อยละ 8⁽²⁾

มนุษย์ใช้ประโยชน์จากกัญชาและกัญชงมา ตั้งแต่สมัยโบราณ ด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ ก้าวหน้าทำให้ปัจจุบันมนุษย์สามารถนำสารสำคัญต่าง ๆ ในกัญชาและกัญชงมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง สารสำคัญ ดังกล่าว ได้แก่ แคนนาบินอยด์ (cannabinoids) ซึ่งมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีฤทธิ์ต่อจิตและประสาท (psychotropic substances) เช่น tetrahydrocannabinol (THC) ได้แก่ Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, และ THCA เป็นต้น และกลุ่มที่ไม่มีฤทธิ์ต่อจิตและประสาท (non psychotropic substances) เช่น cannabidiol (CBD) cannabigerolic acid (CBGA) cannabidiolic acid (CBDA) และ cannabinolic acid (CBNA) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบ flavonoids และ terpenoids โดย cannabinoids ที่พบมาก คือ Δ^9 -THC และ CBD⁽³⁾ รัฐบาลเล็งเห็นการใช้ประโยชน์ จากกัญชาและกัญชงทางการแพทย์และในอุตสาหกรรม อื่น ๆ จึงได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อ ยาเสพติดให้โทษในประเภท 5⁽⁴⁾ ส่งผลให้ตั้งแต่วันที่ 9 มิถุนายน พ.ศ. 2565 กัญชาและกัญชงไม่ใช่ยาเสพติด ในกรณีสารสกัดที่มีปริมาณ THC เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และช่อดอกมีปริมาณ THC สูง จะถูกกำหนด

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข วันที่ 16 มิถุนายน พ.ศ. 2565 เรื่อง สมุนไพรควบคุม (กัญชา)⁽⁵⁾ ประเทศไทย มีผู้สนใจนำกัญชาและกัญชงมาเป็นส่วนผสมของ เครื่องสำอางจำนวนมาก โดยสารสำคัญที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ น้ำมันจากเมล็ดกัญชงมีคุณสมบัติเด่นในการรักษา สมดุลของสภาพผิว ช่วยลดริ้วรอย ชะลอความเสื่อมของ ผิว และ CBD เป็นสารที่ทำให้รู้สึกผ่อนคลายแต่ไม่มี ผลต่อจิตและประสาท มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ รักษาผิว แพ้ง่าย นอกจากนี้สารสกัดในรูปน้ำมัน CBD oil นิยม นำมาผสมร่วมกับ hemp seed oil หรือ coconut oil หรือผสมในครีมและแชมพู กระทรวงสาธารณสุขจึงได้ออกประกาศ เรื่อง การใช้ส่วนของกัญชงในเครื่องสำอาง⁽⁶⁾ และเรื่อง การใช้สารสกัดที่มีสารแคนนาบินอยด์ออกจากกัญชา และกัญชงในเครื่องสำอาง⁽⁷⁾ เพื่อความปลอดภัยของ ผู้บริโภค กล่าวคือ การใช้ประโยชน์จากน้ำมัน หรือ สารสกัดจากเมล็ดกัญชง หรือส่วนของใบ ราก กิ่ง และ ลำต้น การใช้สารสกัดที่มีสาร CBD ในผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอางปนเปื้อนของสาร THC ได้ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไม่เกินร้อยละ 0.001 โดยน้ำหนัก ใน เครื่องสำอางพร้อมใช้รูปแบบน้ำมันหรือ soft gelatin capsule ห้ามใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในช่องปากและ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้บริเวณจุดซ่อนเร้น โดยผู้ประกอบการ ที่ต้องการผลิตเครื่องสำอางผสมกัญชาและกัญชงต้อง ยื่นขอจดแจ้งกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งในการขอจดแจ้งผู้ประกอบการจำเป็นต้องมีเอกสาร แสดงผลทดสอบปริมาณ THC ในวัตถุดิบหรือ ผลิตภัณฑ์ทำให้ห้องปฏิบัติการทดสอบมีบทบาทสำคัญ ในการสนับสนุนและส่งเสริมการผลิตเครื่องสำอาง ผู้ประกอบการภายในของประเทศ

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านเครื่องสำอาง ของประเทศ ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 รายการทดสอบสาร Δ^9 -THC และ CBD โดยเครื่อง ultra-high performance liquid chromatograph (UPLC) ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ผสมกัญชาและกัญชง เมื่อวันที่ 11 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 เพื่อสนองนโยบายของรัฐบาลตระหนักถึงความสำคัญ

ของการพัฒนาขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการ และการพัฒนาโครงสร้างพื้นฐานด้านคุณภาพของประเทศ (national quality infrastructure, NQI) ตลอดจนข้อกำหนดของ ISO/IEC 17025:2017 ข้อ 7.7⁽⁸⁾ ซึ่งกำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องสร้างความมั่นใจ เรื่องความถูกต้องของผลการทดสอบ ซึ่งวิธีการที่นิยม คือ interlaboratory comparison และ/หรือ proficiency test ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีการพัฒนาตัวอย่างต้นแบบ เครื่องสำอางสำหรับทดสอบความชำนาญรายการทดสอบ THC และ CBD ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ ครีมผสม THC และแชมพูผสม CBD โดยดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของตัวอย่างที่เตรียมตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2010⁽⁹⁾ และประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว โดยใช้สถิติตามมาตรฐาน ISO 13528:2015⁽¹⁰⁾ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของการนำไปใช้ประโยชน์ในการขยายขอบข่ายของการให้บริการทดสอบความชำนาญของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) (Lipomed[®], AG, Switzerland) ความเข้มข้น 1.025 mg/mL เกรดวัสดุ อ้างอิง ค่าความไม่แน่นอน 0.40% (total uncertainty), cannabidiol (CBD) ความบริสุทธิ์ 99.85% ได้รับจาก สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สารเคมีใช้สำหรับเตรียมตัวอย่างครีมและแชมพู

sodium polyacrylate, dicaprylyl ether, glycerine, mineral oil, sodium stearyl glutamate, sodium lauryl ether sulfate (28% surfactant), cocamidopropyl betaine, coco-glucoside (and) glyceryl oleate และ cocamide diethanolamine เกรดวัตถุดิบ โดยเป็นสารเคมีที่ซื้อจากร้านฮงฮวด กรุงเทพมหานคร

สารสำคัญในการเตรียมตัวอย่างทดสอบครีมและแชมพู

cannabis extracts (THC และ CBD extract) ได้รับความอนุเคราะห์จากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา วิทยาเขตสมุทรสงคราม เตรียมจากส่วนช่อดอกกัญชาที่ได้จากการปลูก ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา วิทยาเขตสมุทรสงคราม นำมาทำความสะอาด ผึ่งลมให้แห้ง ก่อนนำมาสกัดด้วยเอทานอล ได้สารสกัดในรูปน้ำมันดิบ สีเหลืองทอง นำมาผ่านกระบวนการแยกไขด้วยเทคนิค winterization และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค molecular distillation แยก THC และ CBD โดยใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ด้วยเครื่อง Glass Wiped (Thin) Film (Molecular) Distillation System (Valuen[®], People's Republic of China) สารสกัดที่ได้เก็บในขวดแก้วสีชา ปิดฉลากระบุชื่อ และวันที่เตรียม เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค HPLC

acetonitrile, methanol และ isopropanol (HPLC gradient grade, Thomas Baker, Mumbai, India), formic acid (AR grade, Darmstadt, Germany)

เครื่องมือและอุปกรณ์

ultra-high performance liquid chromatograph (UPLC) (WatersTM, Waters Corporation, United States) with Photodiode array detector (PDA), water purification (MilliporeTM, Merck Millipore, Germany), hotplate-Stirrer (IKATM, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Germany), vortex mixer (GenieTM, Scientific Industries, Inc., United States), incubator (MammertTM, Memmert GmbH & Co. KG, Germany), homogenizer (Huxi, Shanghai yanhe, People's Republic of China)

วิธีการ

การวิเคราะห์ปริมาณสาร THC และ CBD ในสารสกัด

นำcannabis extract (THC และ CBD extract) ผ่านกระบวนการ decarboxylation โดยละลายด้วย methanol 50 มิลลิลิตรใน evaporating dish ใช้แห้งแก้ว คนจนสารสกัดละลายหมด นำไปให้ความร้อนบน hot plate ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นจะได้ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาล โดยอนุพันธ์ของ THC extract และ CBD extract ที่ได้ กำหนดชื่อว่า cannabis extract A และ cannabis extract B ตามลำดับ จากนั้นทดสอบหาปริมาณ

Δ^9 -THC และ CBD ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ โดยวิธีทดสอบ ที่ได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025:2017⁽¹¹⁾ สภาวะของ เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ คอลัมน์ชนิด (Kinetex[®] C18, 2.6 $\mu\text{m} \times 2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ หรือ Acquity[®] BEH C18, 1.7 μm λ_{max} 280 นาโนเมตร) ปริมาตรที่ฉีด 2 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ 45 องศาเซลเซียส วัฏภาค เคลื่อนที่ (mobile phase) ใช้โปรแกรมปรับเปลี่ยน อัตราส่วนผสม (gradient program) ของอัตราส่วน A คือ 0.1% formic acid in deionized water และ อัตราส่วน B คือ 0.1% formic acid in acetonitrile ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Gradient program ของอัตราส่วนผสมของ A และ B

	Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B
1	Initial	0.45	40	60
2	9	0.45	15	85
3	10	0.45	40	60

การเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญสำหรับทดสอบ THC และ CBD ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

การเตรียมตัวอย่างครีมสำหรับทดสอบหาปริมาณ THC ตามสูตร 3 กิโลกรัม คำนวณส่วนผสมตามสัดส่วน ร้อยละ ดังแสดงในตารางที่ 2 การผสมส่วนที่เป็น oil based คือ A1, A2 และ A3 ให้เป็นเนื้อเดียวกันได้ เป็นส่วนผสม A จากนั้นละลายสารสกัด B2 ด้วย B1 จนหมด ได้เป็นส่วนผสม B แล้วนำไปผสมกับส่วนผสม A กวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นส่วนผสม AB เตรียม ส่วนผสม C โดยผสม C1 และ C2 เข้าด้วยกัน จากนั้น นำส่วนผสม AB และ C ผสมรวมกันและกวนให้เป็น เนื้อเดียวกันด้วย homogenizer จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มี ลักษณะเป็นครีมสีขาว แบ่งบรรจุในตลับแก้ว ฝาเกลียว

พลาสติก ปริมาตร 30 กรัม จำนวน 80 ตลับ ตัดฉลาก และหมายเลขกำกับว่า cream sample 1-80

เตรียมตัวอย่างแชมพูสำหรับทดสอบ CBD ตาม สูตร 3 กิโลกรัม คำนวณส่วนผสมตามสัดส่วนร้อยละ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยค่อยๆ ละลายสารสกัด cannabis extract B ในส่วนประกอบที่ 2, 3 และ 4 กวน ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ค่อยๆ เติมส่วนประกอบที่ 1 และ 7 ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง homogenizer ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นสารละลายหนืด สี ไม่มีสี ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่างช่วง 6-7 แบ่งบรรจุ ในขวดพลาสติก ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จำนวน 80 ขวด ตัดฉลากและหมายเลขกำกับว่า shampoo sample 1-80

ตารางที่ 2 สูตร cannabis PT cream

	ส่วนประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
A1	sodium polyacrylate	1.20
A2	dicaprylyl ether	3.00
A3	glycerine	4.00
B1	mineral oil	4.00
B2	cannabis extract A	0.05
C1	sodium stearyl glutamate	0.20
C2	water	87.55
	รวม	100.00

ตารางที่ 3 สูตร cannabis PT shampoo

	ส่วนประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
1	sodium lauryl ether sulfate 28% surfactant	33.33
2	cocamidopropyl betaine	5.00
3	coco-glucoside (and) glyceryl oleate	5.00
4	cocamide diethanolamine	3.33
5	cannabis extract B	0.10
6	water	53.24
	รวม	100.00

การศึกษาความใช้ได้ของตัวอย่างทดสอบ (validation of sample for proficiency test)

การทดสอบคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity testing) ตามมาตรฐาน ISO 13528:2015⁽¹⁰⁾

สุ่มตัวอย่างครีมและแชมพูที่เตรียมแบบสุ่มอิสระ (random sampling) โดยใช้คำสั่ง RANBETWEEN ในโปรแกรม Excel ชนิดละ 10 ตัวอย่าง นำมาทดสอบหาปริมาณสาร THC ในครีม และ CBD ในแชมพู

นำผลวิเคราะห์ของตัวอย่างทดสอบ จำนวน 10 ตัวอย่าง ๆ ละ 2 ขั้ว ทดสอบความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่าง (within-sample standard deviation) โดยใช้

Cochran's test คำนวณและเปรียบเทียบค่าที่ได้กับ Cochran critical value ที่ 95% CI หากค่าที่ได้จากการคำนวณน้อยกว่า แสดงว่าไม่มีความแตกต่างภายในตัวอย่างทดสอบ จากนั้นทดสอบความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง (between-sample standard deviation, s_s) โดยเปรียบเทียบค่าความเบี่ยงเบนของการประเมินการทดสอบความชำนาญ (σ_{pt}) ถ้า $s_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$ แสดงว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกัน (adequately homogeneous)

วิธีทดสอบความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่าง (within-sample variation) โดยใช้ Cochran's test คำนวณค่า C_{cal} ดังนี้

$$C_{cal} = \frac{D^2_{max}}{\sum D_i^2}$$

เมื่อ

$$D_i = \text{ค่าแตกต่างของค่าซ้ำ คู่ที่ } i = 1, 2, 3 \dots, 10$$

$$D_{max} = \text{ค่าแตกต่างของค่าซ้ำ คู่ที่มีค่าสูงสุด}$$

วิธีทดสอบความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง (between-sample standard deviation, s_s) โดยใช้สูตร

$$s_s = \sqrt{S_x^2 - \left(\frac{S_w^2}{2}\right)}$$

เมื่อ

$$S_x = \text{standard deviation of sample average}$$

$$S_w = \text{within-sample standard deviation}$$

การคำนวณค่าความเบี่ยงเบนของการประเมินการทดสอบความชำนาญ (σ_{pt}) ได้จากการคำนวณจากสมการ Horwitz equation⁽¹²⁾ ดังนี้

$$RSDp = 2^{(1-0.5\log C)} = 2C^{-0.1505}$$

$$C = \text{fractional concentration}$$

การประเมินผลความคงตัวของตัวอย่างทดสอบ (stability testing)⁽¹⁰⁾

สุ่มตัวอย่างครีมและแชมพูที่เตรียมแบบสุ่มอิสระ (random sampling) โดยใช้คำสั่ง RANBETWEEN ในโปรแกรม Excel เพื่อทดสอบความคงตัว 3 สภาวะ ดังนี้

สภาวะอุณหภูมิห้อง (27–30 องศาเซลเซียส) รวมระยะเวลา 60 วัน โดยนำตัวอย่างครีมและแชมพูที่สุ่มไว้อย่างละ 12 ตัวอย่าง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สุ่มทดสอบครั้งละ 2 ตัวอย่าง ดำเนินการทดสอบทุก 10 วัน รวม 6 ครั้ง

สภาวะอุณหภูมิเร่ง (45±2 องศาเซลเซียส)⁽¹³⁾ รวมระยะเวลา 50 วัน นำตัวอย่างครีมและแชมพูที่สุ่มไว้อย่างละ 10 ตัวอย่าง ใส่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

สุ่มทดสอบครั้งละ 2 ตัวอย่าง ดำเนินการทดสอบทุก 10 วัน รวม 5 ครั้ง

สภาวะของการขนส่ง นำตัวอย่างครีมและแชมพูที่สุ่มไว้อย่างละ 8 ตัวอย่าง ส่งไปรษณีย์ไปจังหวัดตัวแทน 4 ภาค ได้แก่ ภาคใต้ (ภูเก็ต) ภาคตะวันออก (ฉะเชิงเทรา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อุบลราชธานี) และภาคเหนือ (เชียงใหม่) จังหวัดละ 2 ตัวอย่างต่อชนิด รวมเป็น 4 ตัวอย่างต่อจังหวัด เมื่อตัวแทนแต่ละจังหวัดได้รับตัวอย่างแล้วให้ส่งกลับทางไปรษณีย์เพื่อทำการทดสอบ

นำผลการทดสอบมาหาค่าเฉลี่ยและเปรียบเทียบกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดสอบความชำนาญ โดยใช้เกณฑ์การยอมรับ (ISO 13528)⁽¹⁰⁾ ดังนี้

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt}$$

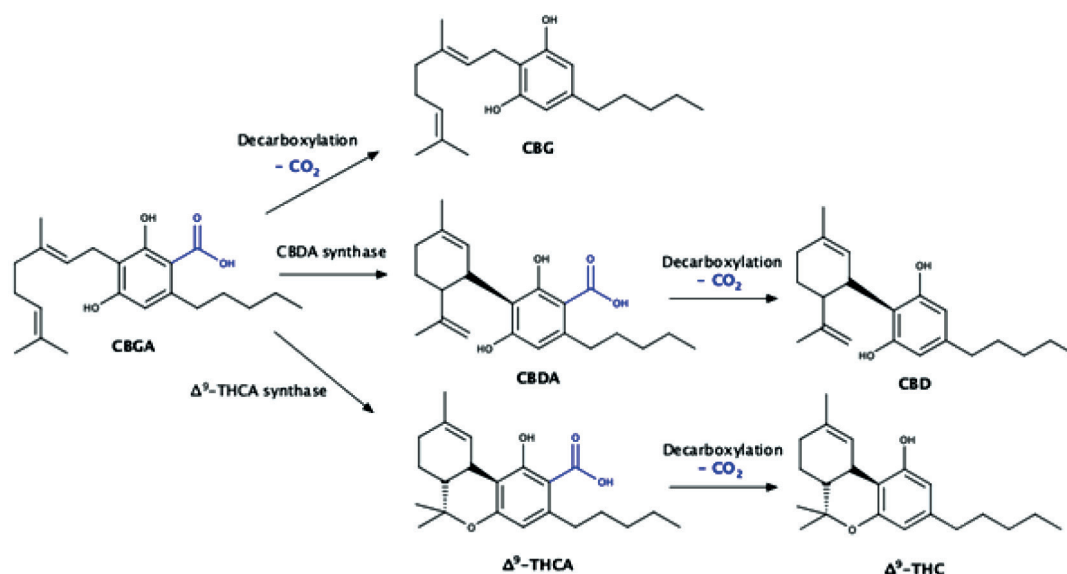
$\bar{y}_1$ = ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารที่วิเคราะห์เมื่อทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ($\bar{y}_{\text{homo}}$)

$\bar{y}_2$ = ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารที่วิเคราะห์แต่ละสภาวะ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง หรืออุณหภูมิเร่งทุก 10 วัน หรือการขนส่งในแต่ละภาค 4 แห่ง

σ_{pt} = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดสอบความชำนาญ ได้จากการคำนวณจากสมการ Horwitz equation

ผล

กระบวนการ decarboxylation เป็นการให้ความร้อนแก่สารสกัดกัญชาและกัญชง (cannabis extracts) เพื่อเปลี่ยนรูปของ Δ^9 -THCA หรือ CBDA ให้อยู่ในรูป Δ^9 -THC และ CBD ตามลำดับ โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 1 จากผลการวิเคราะห์สารสกัดด้วย UPLC พบว่า cannabis extract A พบ THC สูงร้อยละ 83.27 โดยน้ำหนัก และตรวจพบ CBD เล็กน้อย ส่วน cannabis extract B พบ CBD ร้อยละ 30.51 โดยน้ำหนัก และพบ THC ร้อยละ 4.16 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 4 จากโครมาโทแกรมบ่งชี้ว่า cannabis extract B มีสารชนิดอื่นผสมอยู่ในปริมาณสูง ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1 กระบวนการ decarboxylation of CBGA, CBDA และ THCA⁽¹⁴⁾

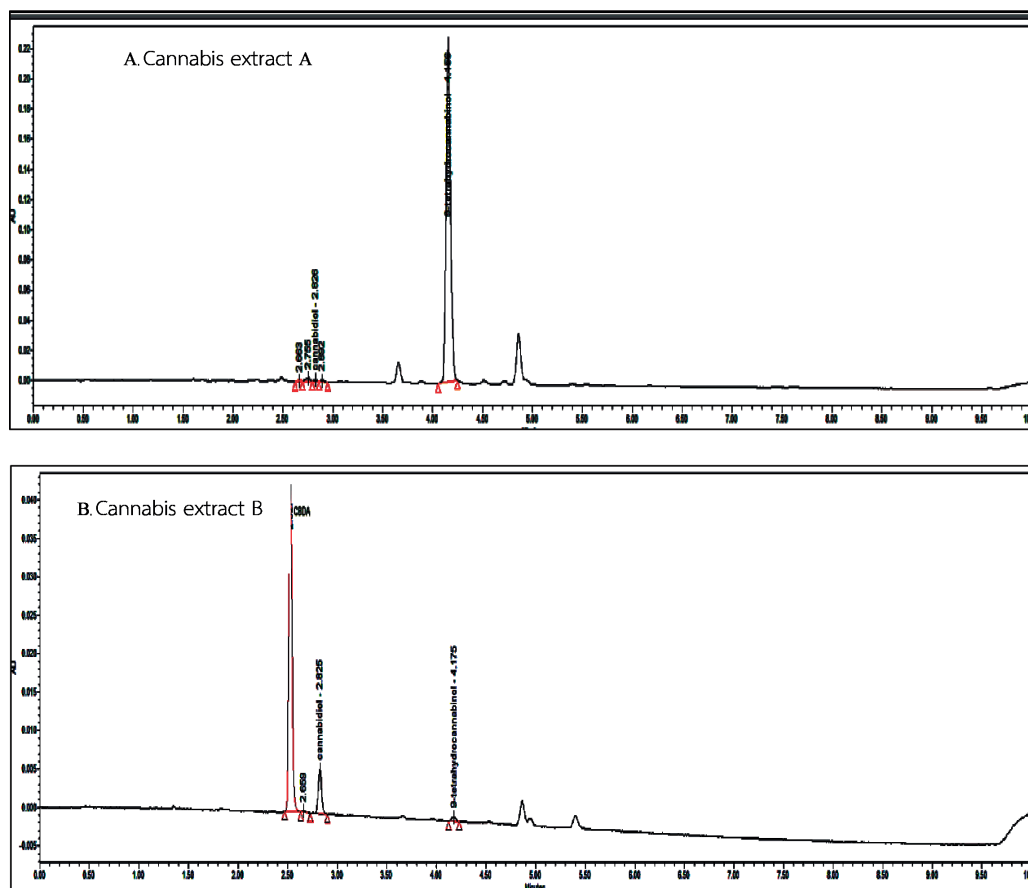
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์สารสกัด cannabis extract A และ cannabis extract B

ครั้งที่	cannabis extract A		cannabis extract B	
	THC, %w/w	CBD, %w/w	THC, %w/w	CBD, %w/w
1	83.25	nd	4.18	30.48
2	83.26	nd	4.17	30.52
3	83.28	nd	4.16	30.53
4	83.31	nd	4.15	30.50
5	83.23	nd	4.15	30.54
mean	83.27	-	4.16	30.51
%RSD	2.75	-	1.11	2.03

หมายเหตุ: nd = not detected

การศึกษาค่าความใช้ได้ของความเป็นเนื้อเดียวกันในตัวอย่าง โดยตัวอย่างครีมพิจารณาจากปริมาณ THC และตัวอย่างแอมพูลพิจารณาจากปริมาณ CBD พบว่าทั้ง 2 ตัวอย่าง มีค่าความเป็นเนื้อเดียวกันผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับ กล่าวคือ ค่า Cochran's test ของตัวอย่างครีมและแอมพูลเท่ากับ 0.400 และ 0.167 ตามลำดับ มีค่าน้อยกว่า Cochran critical value, 95% CI (0.602) และ

ค่า s_s ของตัวอย่างครีมและแอมพูลเท่ากับ 0.0001 และ 0.000034 ตามลำดับ และมีค่าน้อยกว่า $0.3 \sigma_{pt}$ (0.0009 และ 0.00028 ตามลำดับ) ซึ่งแสดงว่าทั้งตัวอย่างครีมและแอมพูลตัวที่เตรียมมีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอ (adequately homogeneous) สามารถใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญได้ ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของสารสกัดกัญชาที่ผ่านกระบวนการ decarboxylation ด้วยวิธี UPLC

A. cannabis extract A (retention time ของ CBD ที่ 2.826 นาที และ THC ที่ 4.166 นาที)

B. cannabis extract B (retention time ของ CBD ที่ 2.825 นาที และ THC ที่ 4.175 นาที)

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณ Δ^9 -THC ของตัวอย่างสูตรตำรับ cannabis PT cream จำนวน 10 ตัวอย่าง ๆ ละ 2 ซ้ำ และการคำนวณทางสถิติ

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ความเข้มข้น THC, %w/w		Mean	%RPD
		A	B		
1	cream sample 09	0.0477	0.0478	0.0478	0.2092
2	cream sample 19	0.0475	0.0476	0.0476	0.2101
3	cream sample 06	0.0475	0.0475	0.0475	0.0000
4	cream sample 12	0.0475	0.0475	0.0475	0.0000
5	cream sample 03	0.0475	0.0477	0.0476	0.4202
6	cream sample 07	0.0477	0.0476	0.0477	0.2096
7	cream sample 10	0.0476	0.0475	0.0476	0.2101
8	cream sample 08	0.0476	0.0476	0.0476	0.0000
9	cream sample 11	0.0476	0.0477	0.0477	0.2096
10	cream sample 45	0.0477	0.0478	0.0478	0.2092

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณ Δ^9 -THC ของตัวอย่างสูตรตำรับ cannabis PT cream จำนวน 10 ตัวอย่าง ๗ ละ 2 ซ้ำ และการคำนวณทางสถิติ (ต่อ)

SD	0.0001
%RSD	0.2145
general average of sample mean, %w/w	0.0476
Cochran's test	0.400
Cochran critical value, 95% CI	0.602
standard deviation of sample averages (s_x)	0.0001
within-samples standard deviation (s_w)	0.0001
between-samples standard deviation (s_s)	0.0001
σ_{pt}	0.0031
$0.3\sigma_{pt}$	0.0009

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ปริมาณ CBD ของตัวอย่างสูตรตำรับ cannabis PT shampoo จำนวน 10 ตัวอย่าง ๗ ละ 2 ซ้ำ และการคำนวณทางสถิติ

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ความเข้มข้น THC, %w/w		Mean	%RPD
		A	B		
1	shampoo sample 22	0.0122	0.0123	0.0123	0.8130
2	shampoo sample 15	0.0122	0.0121	0.0122	0.8197
3	shampoo sample 19	0.0121	0.0121	0.0121	0.0000
4	shampoo sample 48	0.0122	0.0122	0.0122	0.0000
5	shampoo sample 04	0.0122	0.0121	0.0122	0.8197
6	shampoo sample 30	0.0122	0.0123	0.0123	0.8130
7	shampoo sample 11	0.0121	0.0122	0.0122	0.8197
8	shampoo sample 06	0.0122	0.0122	0.0122	0.0000
9	shampoo sample 09	0.0123	0.0122	0.0123	0.8130
10	shampoo sample 01	0.0122	0.0122	0.0122	0.0000

SD	0.0001
%RSD	0.5252
general average of sample mean, %w/w	0.0122
Cochran's test	0.167
Cochran critical value, 95% CI	0.602
standard deviation of sample averages (s_x)	0.000052
within-samples standard deviation (s_w)	0.000055
between-samples standard deviation (s_s)	0.000034
σ_{pt}	0.00095
$0.3\sigma_{pt}$	0.00028

ความคงตัวของตัวอย่างครีมและแซมพูพิจารณาจากค่าเฉลี่ยของปริมาณ THC หรือ CBD ที่เปลี่ยนแปลงน้อยกว่าหรือเท่ากับ $0.3\sigma_{pt}$ ในสภาวะต่างๆ ที่กำหนด 3 สภาวะ คือ อุณหภูมิห้อง (27–30 องศาเซลเซียส) สภาวะเร่ง (45±2 องศาเซลเซียส) และการขนส่งตัวอย่างไปกลับในแต่ละภาค โดยเริ่มนับวันที่ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเป็นวันแรกหรือ day 0 (เริ่มทดสอบในวันที่ 29 มกราคม พ.ศ. 2565) พบว่าส่วนของตัวอย่างครีมมีความคงตัวของ THC ทั้ง 3 สภาวะกล่าวคือ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน ที่สภาวะเร่งเป็นเวลา 50 วัน และสภาวะขนส่งตัวอย่างไปจังหวัดตัวแทน 4 แห่ง ดังแสดงในตารางที่ 7–9

สำหรับตัวอย่างแซมพูได้ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ CBD ใน 3 สภาวะ ตามที่กล่าวข้างต้น (เริ่มการทดสอบในวันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2565) พบว่ามีความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง 30 วัน และไม่มีความคงตัวทั้งในสภาวะเร่งตั้งแต่ 10 วันแรก ที่ทำการทดสอบ (day 10) และการขนส่งตัวอย่างไปจังหวัดตัวแทน 4 แห่ง ดังแสดงในตารางที่ 10–12 เมื่อนำข้อมูลความคงตัวของ CBD ที่สภาวะอุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งมาสร้างกราฟ เพื่อดูแนวโน้มของปริมาณสาร CBD ที่เปลี่ยนแปลงไป พบความแตกต่างของปริมาณสาร CBD ของ 2 สภาวะ ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังแสดงในภาพที่ 3

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ปริมาณ THC และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับครีมในสภาวะอุณหภูมิห้อง (27–30 องศาเซลเซียส) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบทุก 10 วัน จำนวน 6 ครั้ง รวม 60 วัน

วันที่ทดสอบ วัน/เดือน/ปี	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
29/01/2565 (day 0)				0.0476			
10/02/2565 (day 10)	33	0.0474	0.0473		0.0475	0.0001	ผ่าน
	51	0.0476	0.0477				
20/02/2565 (day 20)	64	0.0474	0.0476		0.0476	0.0000	ผ่าน
	59	0.0476	0.0477				
03/03/2565 (day 30)	28	0.0477	0.0478		0.0476	0.0000	ผ่าน
	34	0.0474	0.0476				
12/03/2565 (day 40)	33	0.0476	0.0476		0.0476	0.0000	ผ่าน
	39	0.0475	0.0475				
22/03/2565 (day 50)	38	0.0475	0.0477		0.0476	0.0000	ผ่าน
	04	0.0476	0.0476				
04/04/2565 (day 60)	01	0.0475	0.0474		0.0475	0.0001	ผ่าน
	56	0.0474	0.0475				

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ปริมาณ THC และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับครีมในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบทุก 10 วัน จำนวน 5 ครั้ง รวม 50 วัน

วันที่ทดสอบ วัน/เดือน/ปี	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
29/01/2565 (day 0)				0.0476			
10/02/2565 (day 10)	42	0.0476	0.0477		0.0475	0.0001	ผ่าน
	52	0.0474	0.0474				
20/02/2565 (day 20)	44	0.0474	0.0475		0.0476	0.0000	ผ่าน
	49	0.0477	0.0478				
03/03/2565 (day 30)	40	0.0477	0.0475		0.0476	0.0000	ผ่าน
	13	0.0478	0.0475				
12/03/2565 (day 40)	43	0.0475	0.0477		0.0476	0.0000	ผ่าน
	53	0.0476	0.0475				
22/03/2565 (day 50)	46	0.0476	0.0477		0.0476	0.0000	ผ่าน
	48	0.0476	0.0476				

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ปริมาณ THC และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับครีมที่มีการขนส่งทางไปรษณีย์จากจังหวัดนนทบุรีไป-กลับ 4 จังหวัด ตัวแทนของภาคใต้ (ภูเก็ต) ภาคตะวันออก (ฉะเชิงเทรา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อุบลราชธานี) และภาคเหนือ (เชียงใหม่)

จังหวัด (วันที่ทดสอบ)	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
29/01/2565 (day 0)				0.0476			
ภูเก็ต (10/02/2565)	60	0.0475	0.0475		0.0475	0.0001	ผ่าน
	75	0.0475	0.0476				
ฉะเชิงเทรา (10/02/2565)	63	0.0476	0.0475		0.0476	0.0001	ผ่าน
	67	0.0476	0.0475				
อุบลราชธานี (20/02/2565)	64	0.0474	0.0476		0.0476	0.0000	ผ่าน
	59	0.0476	0.0477				
เชียงใหม่ (20/02/2565)	54	0.0475	0.0474		0.0475	0.0001	ผ่าน
	58	0.0475	0.0476				

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ปริมาณ CBD และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับแชมพูในสภาวะอุณหภูมิห้อง (27–30 องศาเซลเซียส) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบทุก 10 วัน จำนวน 6 ครั้ง รวม 60 วัน

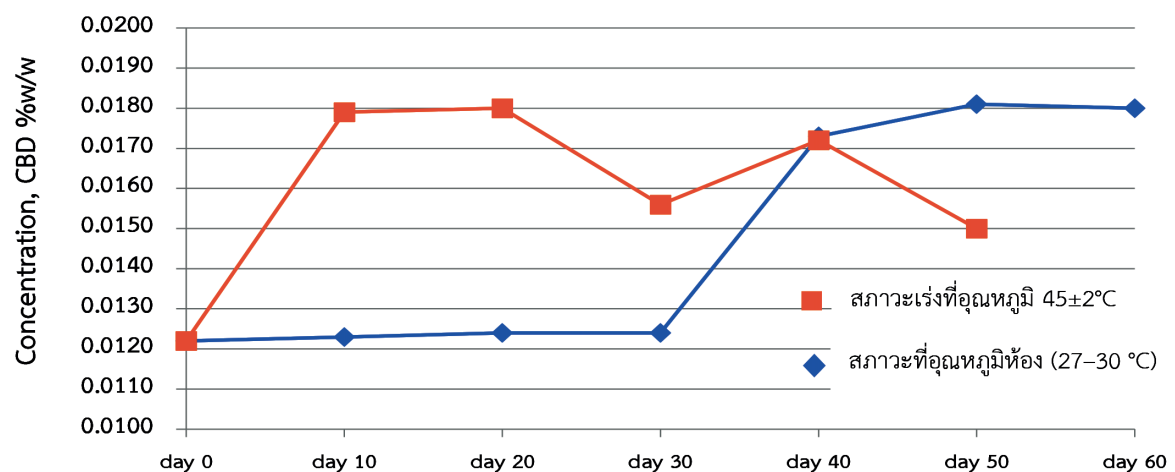
วันที่ทดสอบ วัน/เดือน/ปี	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
31/01/2565 (day 0)				0.0122			
10/02/2565 (day 10)	37	0.0122	0.0123		0.0123	0.0001	ผ่าน
	39	0.0123	0.0122				
20/02/2565 (day 20)	40	0.0123	0.0124		0.0124	0.0002	ผ่าน
	03	0.0124	0.0124				
03/03/2565 (day 30)	35	0.0124	0.0124		0.0124	0.0002	ผ่าน
	31	0.0122	0.0124				
12/03/2565 (day 40)	67	0.0173	0.0172		0.0173	0.0051	ไม่ผ่าน
	34	0.0173	0.0172				
22/03/2565 (day 50)	32	0.0181	0.0180		0.0181	0.0059	ไม่ผ่าน
	36	0.0181	0.0181				
04/04/2565 (day 60)	66	0.0179	0.0179		0.0180	0.0058	ไม่ผ่าน
	21	0.0181	0.0180				

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ปริมาณ CBD และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับแชมพูในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 50 วัน

วันที่ทดสอบ วัน/เดือน/ปี	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
31/01/2565 (day 0)				0.0122			
10/02/2565 (day 10)	57	0.0179	0.0179		0.0179	0.0057	ไม่ผ่าน
	55	0.0179	0.0180				
20/02/2565 (day 20)	16	0.0180	0.0180		0.0180	0.0058	ไม่ผ่าน
	50	0.0180	0.0179				
03/03/2565 (day 30)	60	0.0155	0.0156		0.0156	0.0034	ไม่ผ่าน
	43	0.0157	0.0155				
12/03/2565 (day 40)	47	0.0172	0.0172		0.0172	0.0050	ไม่ผ่าน
	53	0.0172	0.0173				
22/03/2565 (day 50)	54	0.0149	0.0150		0.0150	0.0028	ไม่ผ่าน
	63	0.0151	0.0149				

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ปริมาณ CBD และการประเมินทางสถิติของตัวอย่างทดสอบสูตรตำรับแชมพูที่มีการขนส่งทางไปรษณีย์จากจังหวัดนนทบุรีไป-กลับ 4 จังหวัด ตัวแทนของภาคใต้ (ภูเก็ต) ภาคตะวันออก (ฉะเชิงเทรา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อุบลราชธานี) และภาคเหนือ (เชียงใหม่)

จังหวัด (วันที่ทดสอบ)	Cannabis Cream Sample No.	A (%w/w)	B (%w/w)	Mean, $\bar{y}_1$ (%w/w)	Mean, $\bar{y}_2$ (%w/w)	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	ผลการประเมิน
31/01/2565 (day 0)				0.0122			
ภูเก็ต (10/2/2565)	77 65 (day 10)	0.0180 0.0180	0.0181 0.0181		0.0181	0.0059	ไม่ผ่าน
ฉะเชิงเทรา (10/2/2565)	78 72 (day 10)	0.0179 0.0181	0.0181 0.0182		0.0181	0.0059	ไม่ผ่าน
อุบลราชธานี (20/2/2565)	73 64 (day 20)	0.0179 0.0182	0.0179 0.0181		0.0180	0.0058	ไม่ผ่าน
เชียงใหม่ (20/2/2565)	69 70 (day 20)	0.0182 0.0181	0.0181 0.0181		0.0181	0.0059	ไม่ผ่าน



ภาพที่ 3 การศึกษาความคงตัวสาร CBD ในตัวอย่างแชมพูที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45±2 องศาเซลเซียส และสภาวะที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 50 และ 60 วัน ตามลำดับ

วิจารณ์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ตัวอย่างทดสอบความชำนาญสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร $\Delta 9$ -THC และ CBD ในเครื่องสำอางผสมกัญชงและกัญชา ในการเตรียมสูตรตำรับพิจารณาเลือกสูตรตำรับครีมและแซมพู เพื่อเป็นตัวแทนสูตรประเภท oil based และ water based ของเครื่องสำอางผสมกัญชงและกัญชาที่มีการผลิตและจำหน่ายในท้องตลาด โดยใช้สูตรตำรับตั้งต้นจากร้านจำหน่ายวัตถุดิบ ลดทอนส่วนของน้ำ และไม่เติมสารกันเสียหรือน้ำหอม สำหรับอัตราส่วนผสมของสารสกัด cannabis extract A และ cannabis extract B ที่เตรียมได้จากอนุพันธ์ของ THC extract และ CBD extract ด้วยวิธี decarboxylation ที่ร้อยละ 0.05 และ 0.1 โดยน้ำหนัก เนื่องจากปริมาณสารสำคัญของ CBD ใน cannabis extract B มีเพียง 30.51 %w/w จึงต้องใช้สัดส่วนของ cannabis extract B สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับ cannabis extract A ที่มีปริมาณ THC สูงถึง 83.27 %w/w ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณ $\Delta 9$ -THC และ CBD ในครีมหรือแซมพูอยู่ระหว่างความเข้มข้น 0.01–0.05 %w/w ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ ในระหว่างปี พ.ศ. 2565–2566

เนื่องจากมีข้อจำกัดเรื่องสารมาตรฐานที่มีเพียง $\Delta 9$ -THC และ CBD เท่านั้น และข้อจำกัดเรื่องสารสกัดกัญชาและกัญชงที่ทราบปริมาณและชนิด THC และ CBD ที่แน่นอนในการเตรียมตัวอย่างครีมและแซมพูจึงใช้สารสกัดจากกัญชา คือ cannabis extract A และ cannabis extract B ที่ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา วิทยาเขตสมุทรสงคราม ซึ่งเป็นสถานที่ผลิตที่ผ่านการตรวจประเมินจากกระทรวงสาธารณสุข สารสกัดมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองทอง โดยผ่านกระบวนการ decarboxylation เพื่อเปลี่ยน THCA ให้เป็น $\Delta 9$ -THC และเปลี่ยน cannabigerolic acid (CBGA) cannabidiolic acid (CBDA) cannabinolic acid (CBNA) ให้เป็น CBD ก่อนนำมาใช้งาน ดังแสดงในภาพที่ 1 จากนั้นนำมาทดสอบหาปริมาณ $\Delta 9$ -THC และ CBD ซึ่งพบว่า cannabis extract A พบ $\Delta 9$ -THC สูงร้อยละ 83.27 โดยน้ำหนัก

และพบ CBD ปริมาณน้อยมาก ส่วน cannabis extract B พบ CBD ร้อยละ 30.51 และพบ $\Delta 9$ -THC ร้อยละ 4.16 โดยน้ำหนัก และมีข้อสังเกตว่า cannabis extract B ยังพบ CBDA และสารอื่นๆ ที่ไม่ทราบชนิดผสมอยู่ ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการ decarboxylation ไม่สมบูรณ์ อาจเนื่องมาจากปัจจัยเรื่องอุณหภูมิที่ใช้และระยะเวลาในการให้ความร้อนยังไม่เหมาะสม เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Fućak T และคณะ⁽¹⁵⁾ พบว่าสภาวะที่ทำให้เกิดกระบวนการ decarboxylation ของ CBDA เป็น CBD ที่สมบูรณ์ คือ ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในขั้นตอนนี้ควรมีการควบคุมเพื่อให้ได้สารสกัดที่มี CBDA เหลือน้อยที่สุดและไม่ส่งผลต่อความคงตัวของ CBD ในตัวอย่างทดสอบต่อไป ซึ่งโครมาโทแกรมของ cannabis extract A และ cannabis extract B ดังแสดงในภาพที่ 2

การออกแบบการศึกษาและเกณฑ์การประเมินตัวอย่างทดสอบที่เตรียมใช้มาตรฐาน ISO/IEC 17043 และ ISO 13528 คุณสมบัติที่สำคัญของตัวอย่างทดสอบความชำนาญ 2 ประการ คือ ความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของตัวอย่างทดสอบ โดยพิจารณาจากปริมาณสาร $\Delta 9$ -THC และ CBD ที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการ พบว่าตัวอย่างทดสอบครีมและแซมพูที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอ จากผลการประเมินทางสถิติค่าความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่างผ่านเกณฑ์ของ Cochran's test และค่าความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่างมีค่าน้อยกว่า $0.3 \sigma_{pt}$ ที่คำนวณมาจาก Horwitz equation

ในการทดสอบความใช้ได้และความเหมาะสมของตัวอย่างครีมและแซมพูที่ผสมสารสกัดกัญชาสำหรับใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญ โดยพิจารณาจากค่าความเป็นเนื้อเดียวกันและค่าความคงตัวของตัวอย่างตามเกณฑ์ทางสถิติ ISO 13528⁽⁹⁾ พบว่าตัวอย่างครีมที่ผสม cannabis extract A มีความเหมาะสมใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญสำหรับทดสอบ $\Delta 9$ -THC ได้อย่างน้อย 50 วัน แม้ในสภาวะเร่งที่ 45 ± 2 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิห้อง (27–30 องศาเซลเซียส) นาน 60 วัน ซึ่งระยะเวลาเพียงพอสำหรับรอบของการดำเนินการทดสอบความชำนาญ ตั้งแต่การเตรียม

ตัวอย่างจนถึงสมาชิกห้องปฏิบัติการดำเนินการทดสอบ และรายงานผลการทดสอบ ซึ่งใช้เวลา 50 วัน ขณะที่ตัวอย่างแซมพูที่ผสมสารสกัด cannabis extract B สำหรับทดสอบ CBD มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ผ่านเกณฑ์ แต่มีความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง 30 วัน หลังจากการเตรียม และไม่ผ่านเกณฑ์ที่อุณหภูมิแรงตั้งแต่ครั้งแรกที่ทดสอบ คือ หลังจากเก็บไว้ 10 วัน และตัวอย่างแซมพูที่ขนส่งทางไปรษณีย์ไป-กลับทั้ง 4 ภาค นำมาทดสอบ 2 รอบ คือ ที่ 10 และ 20 วัน หลังการเตรียม ไม่ผ่านเกณฑ์ทั้ง 4 แห่ง การศึกษาเรื่องความคงตัวที่สภาวะอุณหภูมิห้องและสภาวะแรงตามวิธีการที่กล่าวข้างต้นใช้ช่วงเวลาในการศึกษาช่วงละ 10 วัน ขึ้นกับปัจจัยการบริหารจัดการทรัพยากรภายในของห้องปฏิบัติการ ได้แก่ สารมาตรฐาน เครื่องมือ และบุคลากร เนื่องจากธรรมชาติของสารอาจมีความแปรปรวนมาก ในการทดสอบความคงตัวอาจต้องเพิ่มจำนวนซ้ำของการทดสอบมากขึ้น

จากผลการศึกษาแนวโน้มปริมาณ CBD ในแซมพูที่อุณหภูมิห้องและสภาวะแรง โดยนำมาสร้างกราฟ พบว่าตัวอย่างแซมพูที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน มีปริมาณ CBD คงที่ในช่วง 30 วันแรก และเพิ่มขึ้นในช่วง 30-60 วัน ซึ่งต่างจากที่สภาวะแรง คือ ปริมาณ CBD สูงสุดในช่วง 10-20 วัน และลดลงในช่วง 20-30 วัน จากนั้นเพิ่มขึ้นในช่วง 30-40 วัน และลดลงในช่วง 40-50 วัน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 3 ผลการทดสอบนี้ตรงข้ามกับผลการศึกษาความคงตัวของงานวิจัยต่างประเทศ พบว่า CBD สามารถสลายตัวกลายเป็น mono หรือ dimer quinone ได้จากการถูก oxidation โดยแสงหรือความร้อน^(16,17) จากลักษณะดังกล่าวคาดว่าสารสกัด cannabis extract B ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างทดสอบมีอนุพันธ์ของ CBD อื่นทำให้อาจเปลี่ยนรูปแบบกลายเป็น CBD ได้เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ถึงแม้สารสกัดจะผ่านกระบวนการ decarboxylation แล้ว แต่ปฏิกิริยาอาจจะไม่สมบูรณ์ ดังนั้นในการเตรียมผลิตภัณฑ์ของ CBD ในตัวอย่างเครื่องสำอางจำเป็นต้องมีการพัฒนาสูตรตำรับเพื่อให้มีความคงตัวมากขึ้น

สรุป

ผลการศึกษาพบตัวอย่างครีมที่ผสมสารสกัด cannabis extract A ที่พัฒนาขึ้นมีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้เป็นตัวอย่งทดสอบความชำนาญสำหรับทดสอบ Δ^9 -THC ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทครีม แต่มีข้อจำกัดสำหรับตัวอย่างแซมพูที่ผสมสารสกัด cannabis extract B เนื่องจากมีความไม่คงตัวของปริมาณ CBD จึงไม่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวอย่งทดสอบความชำนาญจำเป็นต้องพัฒนาต่อไป โดยพัฒนาสูตรตำรับให้มีความคงตัวมากขึ้น หรือมีการใช้สารสกัดที่มีชนิดของแคนนาบินอยด์ที่นิยมใช้ในเครื่องสำอางและความบริสุทธิ์สูงขึ้น รวมทั้งการจัดหาสารมาตรฐานแคนนาบินอยด์ที่สำคัญมาใช้ในการทดสอบ เนื่องจากการใช้ประโยชน์จากกัญชาและกัญชงเป็นเรื่องใหม่ของอุตสาหกรรมเครื่องสำอางไทย ดังนั้นการพัฒนาระบบที่เกี่ยวข้องกับขีดความสามารถ สมรรถนะ คุณภาพ และมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ จึงเป็นโครงสร้างพื้นฐานด้านคุณภาพที่จำเป็นต้องได้รับการพัฒนาอย่างเร่งด่วน เพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมดังกล่าวให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานกิจกรรมนี้ภายใต้โครงการพัฒนาศักยภาพและเครือข่ายห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพสารสกัดและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมกัญชากัญชง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 และขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา (วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ หลักสูตรกัญชาเวชศาสตร์) ที่ให้ความอนุเคราะห์สารสกัดกัญชาสำหรับการเตรียมตัวอย่างทดสอบ ตลอดจนเจ้าหน้าที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนที่ 86 ก (วันที่ 8 กันยายน 2558) หน้า 5.
2. Fortune Business Insides. Market research report: cosmetics market. [online]. 2021; [cited 2022 Nov 20]; Available from: URL: <https://www.fortunebusinessinsights.com/cosmetics-market-102614>.
3. Atakan Z. Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Ther Adv Psychopharmacol* 2012; 2(6): 241–54.
4. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 139 ตอนพิเศษ 35 ง (วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2565). หน้า 8.
5. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง สมุนไพรควบคุม (กัญชา) พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 139 ตอนพิเศษ 137 ง (วันที่ 16 มิถุนายน 2565). หน้า 9.
6. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้ส่วนของกัญชาในเครื่องสำอาง พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 105 ง (วันที่ 17 พฤษภาคม 2564). หน้า 1.
7. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้สารสกัดที่มีสารแคนนาบินอยด์ออกจากกัญชาและกัญชงในเครื่องสำอาง พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 105 ง (วันที่ 17 พฤษภาคม 2564). หน้า 4.
8. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. 3rd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2017.
9. ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment – general requirements for proficiency testing. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2010.
10. ISO 13528:2015. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. 2nd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2015.
11. สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย. SOP 06-02-396: การตรวจวิเคราะห์สาร Δ^9 -tetrahydrocannabinol และ Cannabidiol โดยวิธี UPLC แก๊สครั้งที่ 1, 18 พฤษภาคม 2566. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข: 2566.
12. Horwitz W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Anal Chem* 1982; 54(1): 67–76.
13. Cosmetics Europe. Guidelines on stability testing of cosmetic products. [online]. 2004; [cited 2022 Nov 1]; [10 screens]. Available from: URL: https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/Guidelines_on_Stability_Testing_of_Cosmetics_CE-CTFA_-_2004.pdf.
14. Wang M, Wang YH, Avula B, Radwan MM, Wanas AS, van Antwerp J, et al. Decarboxylation study of acidic cannabinoids: a novel approach using ultra-high-performance supercritical fluid chromatography/photodiode array-mass spectrometry. *Cannabis Cannabinoid Res.* [serial online] 2016; [cited 2022 Dec 29]; 1(1): [10 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5549281/pdf/can.2016.0020.pdf>.
15. Fućak T, Kreft S, Svedružić ŽM, Tavčar E. Mechanism and kinetics of CBDA decarboxylation into CBD in hemp. *J Plant Biochem Biotechnol* 2023; 32(3): 608–21.
16. Merrick J, Lane B, Sebree T, Yaksh T, O'Neill C, Banks SL. Identification of psychoactive degradants of cannabidiol in simulated gastric and physiological fluid. *Cannabis Cannabinoid Res.* [serial online] 2016; [cited 2022 Dec 29]; 1(1): [11 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5576596/pdf/can.2015.0004.pdf>.
17. Caprioglio D, Mattoteia D, Pollastro F, Negri R, Lopatriello A, Chianese G, et al. The oxidation of phytocannabinoids to cannabinoquinoids. *J Nat Prod.* [serial online] 2020; [cited 2022 Dec 29] 83(5): [5 screens]. Available from: URL: <https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/acs.jnatprod.9b01284>.

Proficiency Testing Sample Development for Active Ingredients Determination of Cannabis in Cosmetic Products

Siriporn Thongpakaisang and Jumrern Duangngamyin

Bureau of Cosmetics and Hazardous substances, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT During 2021–2022, the Ministry of Public Health issued four ministerial regulations related to cannabis (marijuana) and hemp (kanchong) for medical and commercial uses of parts of such plants, while regulating the amounts of psychotropic substances, i.e. tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). The Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances (BCHS) within the Department of Medical Sciences, recognizing the need to enhance THC and CBD testing capabilities in cosmetic products at its laboratories, aimed to provide services using ISO/IEC 17025:2017 accredited test methods of 2021. Furthermore, they sought to establish a network of THC and CBD testing laboratories for cosmetic products in both government and private sectors. The proficiency testing program was introduced to assess the competence of these laboratories. Currently, there is no THC and CBD proficiency testing program available domestically or internationally for cosmetic products. To address this, two cosmetic proficiency testing samples were developed: a cream formula with a THC concentration of 0.05% w/w and a shampoo with a CBD concentration of 0.01% w/w. These samples underwent testing and were statistically evaluated for homogeneity and stability according to ISO 13528:2015. The results indicated that the THC in the cream samples exhibited satisfactory homogeneity and stability under three experimental conditions: room temperature ($27-30\text{ }^{\circ}\text{C}$), accelerated temperature ($45\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), and transportation conditions. However, the CBD in the shampoo samples did not meet the requirements for homogeneity and stability. Thus, further product improvement is needed to fulfill a requirement for ISO/IEC 17043:2022 certification and expanding the scope of proficiency testing services of the Department of Medical Sciences.

Keywords: THC, CBD, Cosmetic, Proficiency testing, Cannabis extract