

หญ้าหวานและผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน

ความปลอดภัยและการบริโภค

STEVIA AND STEVIA PRODUCTS

SAFETY AND CONSUMPTION

เอกสารแสดงผลงานวิจัยใหม่ และ ประเด็นต่าง ๆ เกี่ยวกับ
หญ้าหวานและผลิตภัณฑ์และการนำไปใช้บริโภคอย่างปลอดภัย

โดย

กลุ่มนักวิชาการ

จัดทำโดย

สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

15 สิงหาคม 2540

สนับสนุนโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

หญ้าหวานและผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน

ความปลอดภัยและการบริโภค

STEVIA AND STEVIA PRODUCTS

SAFETY AND CONSUMPTION

เอกสารแสดง ผลงานวิจัยใหม่ และ ประเด็นต่าง ๆ เกี่ยวกับ
หญ้าหวานและผลิตภัณฑ์และการนำไปใช้บริโภคอย่างปลอดภัย

โดย

กลุ่มนักวิชาการ

จัดพิมพ์โดย

สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

15 สิงหาคม 2540

สนับสนุนโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

รายชื่อทั้งหมด ผู้ร่วมงานวิจัย และ ผู้มีส่วนร่วม
ในการรวบรวม เรียบเรียงข้อมูลผลงานวิจัย ที่ปรากฏในหนังสือเล่มนี้

รศ. ดร. ไมตรี สุทธจิตต์¹ รศ. ดร. อัมพวัน อภิสิทธิ์กุล¹ อาจารย์ รวีวรรณ พัวหนาโชค
ชัย¹ นพ. สุภณิมาศ ทิมขุณห์เถียร¹ * รศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย² รศ. ดร. จีระเดช มโนสร้อย²
ผศ. ญ. ศิริวรรณ สุทธจิตต์² รศ. ดร. ศักดิ์ พุทธสุกร³ รศ. ดร. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวน¹

¹คณะแพทยศาสตร์ ²คณะเภสัชศาสตร์ ³คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รศ. ดร. ชัยวัฒน์ คอสกุลแก้ว⁴ และ รศ. นสพ. ปัญญา เต็มเจริญ⁵ ดร. มณฑาภรณ์ สุธีรัตนานนท์⁴
มูจวินท์ สุวรรณไตร⁴ ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์⁴ ดร. เลียงชัย จตุรัส⁴ ดร. สุนทรี อภิบาล⁶ ดร.
สมพงศ์ สหพงศ์⁵

⁴ภาควิชาสรีรวิทยา และ⁵ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

⁶คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

รศ. นสพ. ดร. พิสุทธิ มังกรกาญจน์⁷

⁷คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศ. ดร. ชีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์⁸

⁸ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

Professor Dr. Floyd W. Dunn

Abilene, Texas, USA/Visiting Professor, Faculty of Medicine, CMU..

คำนำ

ได้มีการปลูกหนุ้าหวานและจำหน่ายใบแห้งหนุ้าหวาน สารสกัด และผลิตภัณฑ์หนุ้าหวาน เพื่อการบริโภคภายในประเทศไทย มาตั้งแต่ปี 2524 จนกระทั่งในปีพ.ศ. 2535 กระทรวงสาธารณสุขได้มีการประกาศฉบับที่ 145 เรื่องอาหารที่ห้ามที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย โดยมีสาระว่า หนุ้าหวาน และผลิตภัณฑ์ที่ทำหรือได้มาจากหนุ้าหวานเป็นอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย การบริโภคภายในประเทศ แต่ยังคงผลิตเพื่อส่งออกจำหน่ายในต่างประเทศได้ โดยให้เหตุผลว่า ยังไม่มีข้อมูลความด้านปลอดภัยหรือหลักฐานในทางวิทยาศาสตร์ การประกาศทำให้ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกหนุ้าหวานและผู้ผลิต ผู้จำหน่ายผลิตภัณฑ์หนุ้าหวานต้องประสบความเดือดร้อน บางแห่งต้องล้มเลิกกิจการไปอย่างน่าเสียดาย แต่เนื่องจากข้อมูลข่าวสารได้เปลี่ยนแปลงไปมาก และในกันยายน พ.ศ. 2538 องค์การอาหารและยา(FDA)สหรัฐอเมริกาได้ประกาศให้มีการจำหน่ายหนุ้าหวานและผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้แล้ว กลุ่มนักวิชาการที่เกี่ยวข้องของหนุ้าหวานจึงร่วมกับสถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วยความช่วยเหลือในด้านทุนจากสำนักงานกองทุนวิจัย(สกว.) ได้จัดการประชุมโต๊ะกลมเรื่อง "การวิจัยการพัฒนาและความปลอดภัยของหนุ้าหวานและผลิตภัณฑ์หนุ้าหวาน" และได้ร่วมจัดทำหนังสือเล่มนี้ออกมา เพื่อทบทวน รวบรวมองค์ความรู้และข้อมูลใหม่ ๆ จากผลงานที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการวิจัยจากทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ สำหรับใช้ในการประชุมดังกล่าวและเพื่อนำเผยแพร่ให้ผู้สนใจในเรื่องนี้ได้ติดตามและทราบข้อมูลในความปลอดภัยของหนุ้าหวาน สารสกัด สตีวียอไซด์ สารเมตะบอไลต์ และผลิตภัณฑ์ของมันและการนำไปใช้ในการบริโภค ได้รวบรวมและสรุปประเด็นต่าง ๆ ในแต่ละตอนดังต่อไปนี้

1. ความเป็นมาของหนุ้าหวาน และ ข้อมูลพื้นฐานของสารสหวานที่สำคัญในหนุ้าหวาน
3. การศึกษาด้านฤทธิ์และพิษวิทยาของสารสกัดจากหนุ้าหวาน สารสตีวียอไซด์ และสตีวียอล ในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง เช่น ฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย ฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง พิษเฉียบพันธุ์และเรื้อรังในสัตว์ทดลอง ฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์
4. รูปแบบของผลิตภัณฑ์หนุ้าหวานที่วิจัย และงานวิจัยในมนุษย์
5. ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของหนุ้าหวานและสารสกัดที่จำหน่ายในต่างประเทศ
6. การยอมรับและตื่นตัวในความปลอดภัยและการนำหนุ้าหวานและสารสกัดมาใช้บริโภค ในสหรัฐอเมริกาและประเทศอื่น ๆ

ในช่วงเวลาการเตรียมเอกสารค่อนข้างจำกัด ผู้จัดทำพยายามรวบรวมข้อมูลใหม่ ๆ ให้ดีที่สุด แต่อาจมีข้อบกพร่องไม่สมบูรณ์ การขาดข้อมูลบางส่วนไป เราขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย แต่อย่างไรก็ตาม เราหวังว่า หนังสือเล่มนี้ จักเป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ ด้านสุขภาพ ด้านอุตสาหกรรมอาหาร ด้านเกษตร ด้านสุขภาพ ด้านธุรกิจ ฯลฯ ของผู้เกี่ยวข้องและผู้สนใจทุกฝ่ายที่จะสืบสานความรู้ในเรื่องหนุ้าหวานและผลิตภัณฑ์หนุ้าหวาน และเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเศรษฐกิจ และสังคมของประเทศชาติต่อไป

อนึ่ง ผู้จัดทำขอขอบพระคุณอย่างสูงต่อผู้อำนวยการและคณะผู้บริหารสำนักงานกองทุนวิจัย(สกว.) ที่ได้เล็งเห็นความสำคัญของการจัดประชุมและการเตรียมเอกสารนี้ พร้อมได้ให้งบประมาณเป็นค่าใช้จ่ายทั้งหมด

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
◆ เรื่องราวของหญ้าหวาน-อดีต ปัจจุบัน และอนาคต (รศ. ดร. ไมตรี สุทธจิตต์)	1
◆ An Overview of Stevioside and Its Safety Evaluation (Professor Dr. Thirayudh Glinsukon)	10
◆ การศึกษาถึงความปลอดภัยของสารหวานสติวิโอไซด์และสารสติวียอล (รศ. ดร. ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ)	13
◆ การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ก่อมะเร็งของสารสกัดหญ้าหวาน และผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน (อ. รวีวรรณ พัทธนาโชคชัย และคณะ)	26
◆ รูปแบบของผลิตภัณฑ์หญ้าหวาน (รศ. ดร. จีระเดช มโนสร้อย และ รศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย)	32
◆ Stevia and its products in USA. (Prof. Dr. F.W. Dunn)	39
◆ การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสติวิโอไซด์จากหญ้าหวาน (รศ. ดร. อัมพวัน อภิสริยะกุล และคณะ)	45
◆ หญ้าหวาน - 13 ปีกับการต่อสู้ที่ยังไม่จบสิ้น (รศ. ดร. คีวंग พุทธสุกร)	52
◆ การใช้ชาสติเวียร์ในโรคอ้วน (นพ. วีระสิงห์ เมืองมันและคณะ)	59
◆ ข้อมูลข่าวสารของหญ้าหวานจากอินเทอร์เน็ตและซีดีรอม (รศ. ดร. ไมตรี สุทธจิตต์ และ อ. รวีวรรณ พัทธนาโชคชัย)	64
◆ รายงานวิจัย-โทษและอันตรายของสารรสหวาน “แอสปาแตม” จากอินเทอร์เน็ต (รศ. ดร. ไมตรี สุทธจิตต์)	77

เรื่องราวของหญ้าหวาน-อดีต ปัจจุบัน และอนาคต

ไมตรี สุทธจิตต์ และคณะ

1. ประวัติความเป็นมาของหญ้าหวาน

หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) อยู่ในวงศ์ Compositae เป็นพืชล้มลุกเดิมเป็นพืชพื้นเมืองที่ขึ้นและปลูกในตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศปารากวัย และบราซิล ทวีปอเมริกาใต้ ในแถบลาตินอเมริกาเรียกพืชชนิดนี้ว่า “Yerba dulce” ซึ่งเป็นภาษาสเปน หมายความว่า “สมุนไพรหวาน” โดยชาวพื้นเมืองประเทศปารากวัย ใช้ผสมเพิ่มรสหวานในอาหาร เครื่องดื่ม และชาดื่มเป็นชา Mate’ มานานเป็นประเพณี ตั้งแต่โบราณกาลมานานกว่า 1500 ปี

2. ประวัติการค้นพบสารสตีวิโอไซด์

มีการใช้ประโยชน์ของหวานในโบสถ์เวียเริ่มต้นอย่างจริงจัง ในปี ค.ศ. 1899 โดยมีชาวอังกฤษได้นำเอาพันธุ์พืชสตีเวียจากประเทศปารากวัยไปทดลองปลูก และขยายพันธุ์ ได้ประเทศอังกฤษ แต่ไม่ประสบความสำเร็จ ในระยะเวลาต่อมา Bertoni และนักวิทยาศาสตร์อังกฤษได้ศึกษาเกี่ยวกับสตีเวียและเคมีของสารรสหวานจากหญ้าหวานอย่างจริงจัง

ในปี ค.ศ. 1908 Dr. Rebaudi และ Rasenack นักเคมีปารากวัย ได้ศึกษาวิจัยหาสารสำคัญในโบสถ์เวีย และประสบความสำเร็จจนถึงปี ค.ศ. 1921 ได้มีการยอมรับและตั้งชื่อสารที่ค้นพบนี้ว่า Stevioside (สตีวิโอไซด์) ในปี ค.ศ. 1941 Dr. Meluillie ได้เสนอต่อ Royal Botanic Garden ในกรุงลอนดอน ให้ใช้ประโยชน์ของสารสตีวิโอไซด์ และนำพืชสมุนไพรสตีเวีย มาเพาะขยายพันธุ์ ปลูกในสหราชอาณาจักรอย่างแพร่หลาย

3. หญ้าหวานเชิงอุตสาหกรรม

ในราวปี ค.ศ.1970 นักธุรกิจชาวญี่ปุ่นเห็นความสำคัญของหญ้าหวานเชิงอุตสาหกรรม จึงได้นำพืชหญ้าหวานไปเผยแพร่ปลูกที่ญี่ปุ่น และกระจายไปที่เกาหลี จีน ไต้หวัน ไทย มาเลเซีย และประเทศอื่น ๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในอิสราเอลก็ได้มีปลูกและการผลิตจำหน่าย เมื่อเร็ว ๆ นี้ ประเทศอียิปต์ก็ได้สนใจมากที่จะทำไร่หญ้าหวานร่วมกับการปลูกอ้อย พบว่า ปัจจุบัน ทั่วโลกมีหญ้าหวานมากถึง 150-300 พันธุ์ ในประเทศไทย ได้มีการปลูกหญ้าหวานกันมากในแม่แดง สันกำแพง จ. เชียงใหม่ ในเชียงราย พะเยา และ ลำพูน มีเกษตรกรจำนวนมาก ปลูกและนำใบหญ้าหวานส่งขายให้บริษัท พ่อค้าคนกลางเพื่อนำไปอบให้แห้งแล้วส่งออกไปจะจำหน่ายยังต่างประเทศส่วนใหญ่ไปประเทศญี่ปุ่น และประเทศอาหรับ ตะวันออกกลาง

ในประเทศไทย ได้มีการผลิตหญ้าหวานและสารสตีวิโอไซด์ในเชิงพาณิชย์และเชิงอุตสาหกรรม สามารถสกัดสตีวิโอไซด์จากใบหญ้าหวานในปริมาณสูง โดยหญ้าหวาน 2 ไร่ครึ่ง ได้สารสกัดสตีวิโอไซด์ถึง 24 กิโลกรัม สตีวิโอ

ไซค์ถูกนำมาจำหน่ายเชิงการค้าอย่างแพร่หลาย มาตั้งแต่ในปี 1981 ในญี่ปุ่นมีการผลิตและจำหน่ายใบหญ้าหวานแห้ง 1000 ตัน และยังไม่เพียงพอับความต้องการ จนต้องสั่งเข้าประเทศอีกประมาณปีละไม่ต่ำกว่า 1000 ตัน จากเกาหลี จีน ไต้หวัน และไทย

ข้อดีของสารสกัดหญ้าหวานและสตีวิโอไซด์ เป็นสารที่มีรสหวานชุ่มคอ ไม่มีน้ำตาล ไม่ให้แคลอรีแก่ร่างกาย และไม่เปลี่ยนสี ลักษณะหรือรสชาติเดิมของอาหารและเครื่องดื่ม การวิจัยพบว่า สารสกัดหญ้าหวานและสตีวิโอไซด์นี้สามารถนำไปใช้แก้ปัญหาลักษณะของผู้ที่เป็นโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และโรคฟันผุ ได้ดี

นักอุตสาหกรรมอาหารของญี่ปุ่นได้นำสารสกัดจากหญ้าหวานไปเป็น sweetening agent ผสมในผลิตภัณฑ์อาหารมากมายหลายชนิด เช่น ผักดอง อาหารหมักดอง อาหารทะเลที่ถนอมแห้งไว้ เนื้อปลาบด ซิอิว เต้าเจี้ยว เครื่องดื่มแบบกระป๋อง/ขวด น้ำผลไม้ น้ำอัดลม ไอศกรีม ของกินเล่น และหมากฝรั่ง ตลอดจนกระทั่งนำไปผสมในยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปาก เป็นที่นิยมกันเพราะสารสกัดจากหญ้าหวานไม่ให้พลังงานและไม่ทำให้อ้วน เหมาะสมกับผู้ป่วยโรคเบาหวานและผู้รักษาสุขภาพ และไม่ทำให้อาหารบูดเน่า ลดการใส่สารกันเสีย และไม่ทำให้อาหารที่อุณหภูมิร้อนเปลี่ยนสีหรือลักษณะเป็นสีคล้ำ มีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์หญ้าหวานตามร้านค้าและตู้หยอดเหรียญทั่วประเทศ บริษัทใหญ่ 11 บริษัทที่ผลิตอาหารสำเร็จรูป น้ำตาล และสารเคมีก็ได้ร่วมมือกันก่อตั้งในเครือข่ายที่เรียกว่า "สตีเวีย คอนวาไก" (Stevia Konwakai) เพื่อส่งเสริมการนำสารสกัดจากหญ้าหวานมาใช้เชิงพาณิชย์ให้มากขึ้น ในประเทศญี่ปุ่น มีการใช้หญ้าหวานไม่ต่ำกว่า 1,000 ตัน สารสกัดเข้มข้นหรือสตีวิโอไซด์ไม่ต่ำกว่า 100 ตันต่อปี



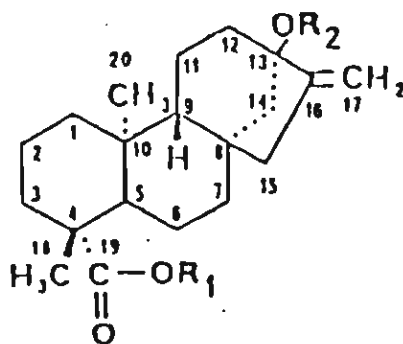
รูป เครื่องดื่มหญ้าหวาน "STEVIA" ในกระป๋องจำหน่ายในตู้หยอดเหรียญ แพร่หลายทั่วประเทศญี่ปุ่น
(ถ่ายภาพ โดย ไมตรี สุทธจิตต์ ในไฮโกฮามา กค. 2540)

4. ข้อมูลพื้นฐานของสารรสหวานในหญ้าหวาน

ใบหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) มีสารกลัยโคไซด์ (glycosides) 88 ชนิด พบว่าสารรสหวาน 8 ชนิด สำคัญ คือ Rebaudiosides A, B, C, D, E, Dulcoside A และ stevioside (สตีวิโอไซด์) (ตารางที่ 1) สตีวิโอไซด์มีปริมาณสูงสุดในหญ้าหวานทั่วไป แต่ที่อเมริกา สตีวิโอไซด์เป็นสารที่มีรสหวานจัด มีความหวานประมาณ 300 เท่าของน้ำตาลซูโครส แต่ไม่มีรสหวานเท่า rebaudioside A ใบหญ้าหวานมีสตีวิโอไซด์ประมาณ 6-10% ใบหญ้าหวานมีความหวานมากกว่าน้ำตาลทรายประมาณ 30 เท่า

ตารางที่ 1 ชื่อและโครงสร้างทางเคมีของสารรสหวานในใบหญ้าหวาน (ตามโครงสร้างทางเคมี รูปที่ 2)

สารรสหวาน	Functional group ที่มีพันธะติดกับ steviol		หมายเหตุ
	R ¹ (glycosidic bonds)	R ²	
Steviol	-H	-H	ไม่มีรสหวาน
Stevioside	βGlu	βGlu-(2→1)βGlu	มีมากที่สุด ใบหญ้าหวาน
Steviolbioside	-H	βGlu-βGlu (2→1)	หวานมาก
Rebaudioside A	βGlu	βGlu(3→1)βGlu ! (3→1)βGlu	หวานมากที่สุด
Rebaudioside B	-H	βGlu-(2→1)-Glu ! (3→1)-βGlu	หวานมากที่สุด
Rebaudioside C	βGlu	Glu(2→1) -βRha (3→1)βGlu	หวานน้อยที่สุด (0-120 เท่าของน้ำตาลทราย)
Rebaudioside D	βGlu-βGlu (2→1)	βGlu-βGlu2→1) βGlu (3→1)	หวานมากที่สุด
Rebaudioside E	βGlu-βGlu (2→1)	βGlu-(2→1)βGlu	หวานมากที่สุด
Dulcoside A	βGlu	βGlu-(2→1) βRha	หวานมาก



โครงสร้างทางเคมีของสตีวิโอไซด์

5. คุณสมบัติของสตีวียอไซด์

ทางเคมี สตีวียอไซด์เป็น diterpene glycoside ประกอบด้วย steviol และกลูโคส 3 หน่วย ตามโครงสร้างทางเคมี (รูปที่ 2) เป็นกลัยโคไซด์ของสตีวียอล (Steviol หรือ 13-hydroxy-ent-kaurenoic acid) โดยมีกลูโคส 1 หน่วยต่อเชื่อมแบบเอสเทอร์ และกลูโคสอีก 2 หน่วยต่อเชื่อมแบบไกลโคไซด์ ความหวานของสตีวียอไซด์ขึ้นอยู่กับโครงสร้างเคมีทั้งหมด โดยเฉพาะขึ้นกับลักษณะทางเอสเทอร์ ไม่ขึ้นอยู่กับส่วนที่เป็นน้ำตาลกลูโคส ตัวสารสตีวียอลเองไม่มีรสหวาน ฉะนั้น การสลายตัวของเอสเทอร์ด้วยค่าที่ความร้อนสูงจะทำให้ความหวานลดหายหรือหมดไป

ปกติน้ำสกัดจากใบหญ้าหวานซึ่งหวานกว่าน้ำตาลทรายถึง 30 เท่าเพียง 1-2 ใบต่อหนึ่งถ้วยก็ให้รสหวานเพียงพอและเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภคทั่วไป เพราะหากน้ำสกัดเข้มข้นเกินไปจะมีรสค่อนข้างขม จะไม่เป็นที่ยอมรับ สารสำคัญสตีวียอไซด์ที่บริสุทธิ์มีรสหวานมากกว่าน้ำตาลทราย ถึง 300 เท่าโดยน้ำหนัก ความเข้มข้นของสารสกัดหรือสตีวียอไซด์ที่นิยมนำมาใช้ผสมอาหารและเครื่องดื่มมากมายหลายชนิดในญี่ปุ่น มีค่าเหมาะสมอยู่ในช่วงกว้างระหว่าง 0.005-0.06 % (โดย น.น.)

สตีวียอไซด์ทนต่อกรดที่ pH ต่ำกว่า 7 ได้ดีมาก และทนต่อความร้อนถึง 198°C สตีวียอไซด์ไม่ถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบโดยเซลล์ จึงไม่ให้เกิดอ้วน ไม่ทำให้หัวใจวาย ไม่แสดงต่อโรคเบาหวานและโรคไขมันในเลือดสูง จุลินทรีย์ไม่ใช้สารนี้เป็นอาหารของมัน จึงไม่ทำให้อาหารหรือเครื่องดื่มที่เก็บไว้นานบูดเน่า ไม่ทำให้ฟันผุ หรือเหี่ยวกรอบอีกเสบได้ง่าย ได้มีการนำไปใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานและผู้ที่ต้องการลดความอ้วน ผสมในอาหารและเครื่องดื่ม และผสมยาสีฟันหรือยาขับปัสสาวะ เมื่อถูกความร้อน สตีวียอไซด์ไม่ทำให้อาหารหรือสารผสมเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลคล้ำและไม่ทำให้สารบูด รสอื่น ๆ เช่น ผงชูรส เกลือ น้ำตาลทราย น้ำส้ม และเมนธอล เป็นต้นเปลี่ยนแปลงรสเดิมแต่กลับกลมกลืนกันได้ดี

6. ความปลอดภัยของการบริโภคสารสกัดหญ้าหวานและสตีวียอไซด์

การนำเอาหญ้าหวานมาใช้ในการดื่มและการปรุงรสอาหารของคนพื้นเมืองในทวีปอเมริกาได้มานานนับพันกว่าปีแล้ว ยังไม่เคยมีรายงาน หรือพบว่ามีพิษ และอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคแต่ประการใด ในประเทศญี่ปุ่นถือว่าสารสกัดจากหญ้าหวานเป็นสารธรรมชาติ องค์การอาหารและยาญี่ปุ่นได้อนุญาตให้ใช้หญ้าหวานและสารสกัดในอาหารและเครื่องดื่มมานานแล้วเช่นกัน ก็ยังไม่เคยมีรายงานถึงความเป็นพิษหรือผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคที่ติดต่อกันมานาน ๆ แต่อย่างใด จากการวิจัยความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษระยะยาวของสตีวียอไซด์ในสัตว์ทดลอง พบว่า สตีวียอไซด์ จะถูกขับออกจากร่างกายโดยไม่เคยปรากฏว่า สตีวียอไซด์ในระดับที่ทดลองมีความเป็นพิษต่อสัตว์ และพบว่ามันไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและไม่มีฤทธิ์ต่อการทำลายโครโมโซมในเซลล์ลิมโฟซัยท์ของคนที่น่ามาเพาะเลี้ยง

7. สถานการณ์ปัจจุบันของหญ้าหวานในประเทศ

นับตั้งแต่ปีพ.ศ. 2510 เป็นต้นมา ประเทศไทยได้มีการส่งเสริมให้ปลูกหญ้าหวานถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งเพื่อจำหน่ายส่งออกต่างประเทศ การใช้หญ้าหวานจึงอยู่ในรูปของแบบพืชสมุนไพรทั่วไปมีการส่งใบหญ้าหวานและสารสกัดเป็นสินค้าออกไปนอกประเทศ การบริโภคภายในประเทศ ได้เคยมีการใช้ผงหญ้าหวานแห้งในรูปแบบของใบและชาชงเพื่อการดื่ม มีการใช้ใบหญ้าหวานที่แห้งบดและผสมพืชชนิดอื่นและมีการจำหน่ายในรูปแบบพืชสมุนไพร เช่น ดอกคำฝอย มินต์ หรือ ชาสมุนไพรเพื่อสุขภาพภายในประเทศ มาตลอดจนถึงปี พ.ศ. 2535 จำเป็นต้องหยุด เพราะ ได้มีการประกาศห้ามจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา(อย.) กระทรวงสาธารณสุขว่า ไม่ให้

มีการใช้การผลิตเพื่อการจำหน่ายหวาน สารสกัดหวาน สารสตีวิโอไซด์ หรือสารผลิตภัณฑ์หวานอื่นจากหวานเพื่อการบริโภคในประเทศไทย แต่ส่งขายต่างประเทศได้ โดยให้เหตุผลว่า มีข้อมูลการทดลองไม่แน่ใจในความปลอดภัยของสตีวิโอไซด์ และว่า ในขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลหรือหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพียงพอที่จะยืนยันในความปลอดภัยของหวานและสารผลิตภัณฑ์จากหวาน ในประเทศจึงไม่มีการจำหน่ายหวาน และผลิตภัณฑ์อย่างเป็นทางการภายในประเทศตั้งแต่บัดนั้นมาจนถึงปัจจุบัน แต่เป็นที่น่าสังเกตยังคงมีจำหน่ายในตลาดไนท์บาร์ชาร์ ซม. ในตลาดวโรรส ซม. ในรูปแบบของใบแห้งบรรจุในถุงพลาสติก และในผลิตภัณฑ์ของประเภทอาหารที่ขบเคี้ยวผลไม้แห้งจากประเทศจีนที่จำหน่ายภายในประเทศ มีสารสตีวิโอไซด์อยู่เป็นสารหวาน(ระบุไว้บนซองว่า เป็น sweetener) ที่เติมลงไป

สารสกัดจากหญ้าหวาน และ ผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน ที่จำหน่ายในต่างประเทศ

ชื่อ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	รูปแบบของผลิตภัณฑ์	บริษัทผู้ผลิต จำหน่าย	ภาชนะที่ใช้บรรจุ
1. Stevia Rebaudiana 100% Natural Herb	ผงละเอียดสีน้ำตาล	NOW, USA	ขวดพลาสติก 20 ออนซ์ (57 ก.)
2. Stevia Extract Potent Herb	ผงละเอียดสีขาวนวล	NOW, USA	ขวดพลาสติก 1 ออนซ์ (28 ก.)
3. Stevia Liquid Extract	สารละลาย	NOW, USA	ขวดแก้วสีน้ำตาล 60 มล.
4. Stevia Liquid Extract	สารละลายเข้มข้น	NOW, USA	ขวดพลาสติก 1/3 ออนซ์
5. Stevia powder Natural Herbal Extract	ผงละเอียดสีขาว	BODY ECOLOGY USA	ขวดพลาสติก มีจุกแบบหยด
6. Stevia Tablets	เม็ดขนาด 10 มก. (+ น้ำตาลครึ่งช้อนชา)	BODY ECOLOGY USA	กล่องพลาสติก มี 300 เม็ด
7. Sweet 'N Better Premium Stevia	ซองเหลว สารสกัด เข้มข้น	BODY ECOLOGY USA	ขวดพลาสติก มีจุกแบบหยด 1 ออนซ์
8. White Stevia Liquid Light	ซองเหลวผสมน้ำและ กลีเซอรินจากพืช	TRI-LIGHT, USA	ขวดพลาสติก มีจุกแบบหยด 2 ออนซ์
9. Stevia Extract	Pure liquid	NU NATURALS	ขวดแก้วแบบ dropper 60 มล.
10. Super Stevia	Liquid Extract	QUICK BEVERAGE INC.	ขวดพลาสติก มีจุกแบบหยด 10 ออนซ์
11. Stevia Leaf		BOTANIC CHOICE	ซองพลาสติกหุ้มซองกระดาษ 1 ออนซ์
12. Stevia Powder.	ผงสีน้ำตาลเข้ม	BOTANIC CHOICE	ซองพลาสติกหุ้มซองกระดาษ 2 ออนซ์
12. Stevia Leaf Extract Powder	ผงสีขาว	BOTANIC CHOICE	ซองพลาสติกหุ้มซองกระดาษ 1 ออนซ์
13. Stevita	ผงละเอียด	STEVITA CO.	ซองเล็ก ขนาด 1 ก.
14. Stevia Premium Quality	ผงบรรจุซอง	WISDOM OF THE ANCIENT	ถุง 40 ถุง/กล่อง 2.5 ออนซ์
15. Sublingual Stevia	80 % stevioside, sorbitol, propylene glycol, methylparaben, propyl paraben, น้ำ	General Nutrition Corporation	1 มล. มี stevioside 50 มก.

17. Herbal Tussin Herbal Cough Tea	ใบ Stevia ผสมในชา สมุนไพร ซึ่งมีใบมินต์ ยูคาลิปตัส, elm bark, cherry bark	Traditional Medicinals	ชาซอง 1 ซองต่อ 1 ถ้วย
18. Think -O ₂	ใบ Stevia ผสมในชา สมุนไพร มีสารสกัดใบ แปะก๊วย, gotu kola , Sage, lemon balm, rosemary, ginseng root	Traditional Medicinals	ชาซอง 1 ซองต่อ 1 ถ้วย
19. Female Sage	ใบ Stevia ผสมในชา สมุนไพร มีใบ Sage, chaseberry, catsclaw,	Traditional Medicinals	ชาซอง 1 ซองต่อ 1 ถ้วย
20. Saw Palmeto Male Tonere	ผสมในชาสมุนไพร	Traditional Medicinals	ชาซอง 1 ซองต่อ 1 ถ้วย
21. Stevia whole leaf	หญ้าหวานแห้ง เต็มใบ	Herbal Beverage, USA	ชงด้วยน้ำร้อน
22. Stevia leaf , cut	ใบหญ้าหวานแห้ง ตัด	Herbal Beverage, USA	ชงด้วยน้ำร้อน
23. Stevia leaf, powder	ผงใบหญ้าหวานแห้ง	Herbal Beverage, USA	ชงด้วยน้ำร้อน
24. Bubblicious	JUICE SWEET STICK GUM	ญี่ปุ่น	
25. Trident	หมากฝรั่ง Sugarless	ญี่ปุ่น	
26. STEVIA	เครื่องดื่มกระป๋อง จำกัดแคลอรี	POCARI SWEAT ญี่ปุ่น	ขนาด 245 และ 340 มล.

7. วิจัย

ในยุคปัจจุบัน สารรสหวานแทนน้ำตาลมีความสำคัญมากขึ้น จึงได้มีการผลิตสารรสหวานสังเคราะห์หลายชนิดในเชิงอุตสาหกรรมและออกจำหน่าย สารรสหวานสังเคราะห์บางชนิดเป็นพิษ เช่น โซคลาเมตเป็นสารก่อมะเร็ง จะต้องถูกสั่งห้ามผลิตและจำหน่าย ซัคคารินเป็นสารทอเมอร์โปรโมเตอร์อย่างอ่อนที่หลายประเทศสั่งห้ามบริโภค การบริโภคจึงจำกัดและมีการควบคุมของแพทย์ แอสปาร์แตม (aspartame) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่ราคาค่อนข้างแพงและต้องสั่งซื้อเข้ามาจากต่างประเทศ มีรายงานว่า แอสปาร์แตม ซึ่งเป็น Aspartyl methoxyphenylalanine และในร่างกายจะให้สาร methanol อาจรบกวนการทำงานของระบบประสาท มีรายงานว่า ทำให้ผู้บริโภคแอสปาร์แตมในระยะยาวเกิดอาการอ่อนเพลียเรื้อรัง

สารรสหวานธรรมชาติที่ยอมรับในต่างประเทศ คือ สารสกัดจากหญ้าหวานและสตีวียาโอไซด์ แต่นำเสียดายที่ในประเทศไทยที่ยังมีการห้ามการบริโภค ทั้งที่หญ้าหวานเป็นพืชที่ปลูกได้ง่ายในประเทศ เราได้มีการนำใบแห้งมาใช้บริโภคและได้มีการสกัดสารสำคัญที่เป็นสตีวียาโอไซด์ให้บริสุทธิ์ในระดับอุตสาหกรรมได้สำเร็จแล้ว และผลการวิจัยในและต่างประเทศทั้งญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา แท้ที่ผ่านมาก็ได้มีข้อมูลและหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ละเอียด มีราย

งานอย่างมากมาย และข้อมูลทางระบาดวิทยาเพียงพอ สามารถที่จะยืนยันถึงความปลอดภัยของการบริโภคหญ้าหวาน และสารสตีโอไซด์ในมนุษย์ หากเปรียบเทียบหญ้าหวานกับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น เช่น ใบยาสูบ กาแฟ สุรา พืชสมุนไพร เนื้อย่างเกรียม และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอื่น ซึ่งมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการเกิดมะเร็งในสัตว์และในคน

ดังนั้น ผู้รายงานจึงขอเสนอว่า ในขณะที่มีความต้องการสารที่ให้รสหวานเพื่อแทนน้ำตาลมีมากขึ้น ในด้านสุขภาพ สารรสหวานมีความจำเป็นสำหรับการรักษาและการป้องกันความรุนแรงในผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคหัวใจ และโรคไขมันมากในเลือด รวมทั้งผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักและรักษาสุขภาพของตัวเอง ในยุคที่เงินบาทลดค่าลงอย่างสาหัสเช่นนี้ สมควรที่คนไทยจะลดเลิกการใช้ เลี่ยงการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่เป็นสินค้าจากต่างประเทศ หันมาใช้ สารธรรมชาติที่มีรสหวานและได้มาจากพืชหญ้าหวานที่สามารถปลูกได้ในประเทศไทย จึงถือว่าหญ้าหวานเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เพิ่มดุลย์การค้าเงินตราระหว่างประเทศอีกด้านหนึ่งด้วย เรามีความมั่นใจว่า หญ้าหวานจะมีบทบาทสำคัญมากในการฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศไทย เพื่ออนุญาตให้มีการบริโภคหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ภายในประเทศได้ และให้มีการนำผลิตภัณฑ์หญ้าหวานส่งขายนอกประเทศให้มากขึ้น จักเป็นประโยชน์ต่อเศรษฐกิจที่กำลังมีปัญหาของประเทศชาติอย่างมหาศาล และเห็นสมควรจะได้รับการพิจารณาอย่างจริงจังที่จะให้มีการผลิต การจำหน่าย และการบริโภคในประเทศอีกครั้งหนึ่งต่อไป สุดท้ายนี้ เราเห็นสมควรที่จะให้มีการสนับสนุนให้มีการปลูกหญ้าหวานและพัฒนารูปแบบในการใช้ใบหญ้าหวาน สารสกัด และสตีโอไซด์ และเห็นสมควรที่รัฐบาลไทยจะให้มีการพิจารณาเปลี่ยนแปลงประกาศห้ามขององค์การอาหารและยา

8. วิจารณ์

ในยุคปัจจุบัน สารรสหวานแทนน้ำตาลมีความสำคัญมากยิ่งขึ้น จึงได้มีการผลิตสารรสหวานสังเคราะห์หลายชนิดในเชิงอุตสาหกรรมและออกจำหน่าย สารรสหวานสังเคราะห์บางชนิดเป็นพิษ เช่น โซคลาเมตเป็นสารก่อมะเร็ง จนต้องถูกสั่งห้ามผลิตและจำหน่าย ซัคคารินเป็นสารทูเมอร์โปรโมเตอร์อย่างอ่อนที่หลายประเทศสั่งห้ามบริโภค การบริโภคจึงจำกัดและมีการควบคุมของแพทย์ แอสปาร์แตม (aspartame) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่ราคาค่อนข้างแพงและต้องสั่งซื้อเข้ามาจากต่างประเทศ มีรายงานว่า แอสปาร์แตม ซึ่งเป็นสารประกอบ Aspartyl phenylalanine methyl ester ซึ่งถูกย่อยในลำไส้ให้ Aspartic acid, phenylalanine และ methanol เมทธานอลเป็นสารพิษ ร่วมกับการดอเมโมโน ทั้งสองรบกวนการทำงานของระบบสมองและประสาทได้ สารรสหวานธรรมชาติที่ยอมรับในต่างประเทศ คือ สารสกัดจากหญ้าหวานและสตีโอไซด์ แต่น่าเสียดายที่ในประเทศไทยยังมีการห้ามการบริโภค ทั้งที่หญ้าหวานเป็นพืชที่ปลูกได้ง่ายในประเทศ เราได้มีการนำใบแห้งมาใช้บริโภคและได้มีการสกัดสารสำคัญที่เป็นสตีโอไซด์ให้บริสุทธิ์ในระดับอุตสาหกรรมได้สำเร็จแล้ว และผลการวิจัยในและต่างประเทศทั้งญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา แท้ที่ผ่านมาก็ได้มีข้อมูลและหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ และทางระบาดวิทยาเพียงพอเพื่อยืนยันถึงความปลอดภัยของการบริโภคหญ้าหวาน และสารสตีโอไซด์แล้ว

ดังนั้น จึงขอเสนอว่า ในขณะที่มีความต้องการสารที่ให้รสหวานเพื่อแทนน้ำตาลมีมากขึ้น ในด้านสุขภาพ สารรสหวานมีความจำเป็นสำหรับการรักษาและการป้องกันความรุนแรงในผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคหัวใจ และโรคไขมันมากในเลือด รวมทั้งผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักและรักษาสุขภาพของตัวเอง เห็นสมควรที่จะให้มีการสนับสนุนให้มีการปลูกหญ้าหวานและพัฒนารูปแบบในการใช้ใบหญ้าหวาน สารสกัด และสตีโอไซด์ และเห็นสมควรที่รัฐบาลไทยจะให้มีการพิจารณาเปลี่ยนแปลงประกาศห้ามของอย. เพื่ออนุญาตให้มีการบริโภคหญ้าหวานและผลิต

และโรคไขมันมากในเลือด รวมทั้งผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักและรักษาสุขภาพของตัวเอง เห็นสมควรที่จะให้มีการสนับสนุนให้มีการปลูกหญ้าหวานและพัฒนารูปแบบในการใช้ใบหญ้าหวาน สารสกัด และสตีวียา และเห็นสมควรที่รัฐบาลไทยจะให้มีการพิจารณาเปลี่ยนแปลงประกาศห้ามของอย. เพื่ออนุญาตให้มีการบริโภคหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ภายในประเทศได้ต่อไป และให้มีการนำผลิตภัณฑ์หญ้าหวานส่งขายนอกประเทศให้มากขึ้น จักเป็นประโยชน์ต่อเศรษฐกิจที่กำลังมีปัญหาของประเทศชาติอย่างมหาศาล เพื่อเพิ่มดุลการค้าเงินตราต่างประเทศอีกด้านหนึ่งด้วย

9. สรุปประเด็นต่าง ๆ

เอกสารนี้ได้มีการรวบรวมผลงานวิจัยที่เกี่ยวกับหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวานในเชิงพืชวิทยา ชีวเคมี และความปลอดภัยในการนำมาใช้บริโภค และนำมาสรุปประเด็นต่าง ๆ ได้ ดังต่อไปนี้

1. หญ้าหวาน สารสกัดหญ้าหวาน สตีวียา และสารรสหวานอื่น ๆ จากหญ้าหวานในขนาด 100 - 1000 เท่าของปริมาณที่คนบริโภคนั้นไม่มีความเป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ของสัตว์ทดลองทั้งระยะเฉียบพลันและระยะติดต่อกันนาน ๆ
2. สารสตีวียาและสตีวียอลไม่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย และเป็นอันตรายต่อสารพันธุกรรมในเซลล์จากสัตว์ทดลองได้
3. สารเมตะบออลิกจากสตีวียา สารสกัด และสารสำคัญอื่นจากหญ้าหวานไม่ได้ทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลอง
4. มีการยอมรับความปลอดภัยของหญ้าหวานโดยกระทรวงสาธารณสุขในประเทศญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน เกาหลี ในรูปแบบของสารธรรมชาติมาตลอด และในปี 2538 ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ยอมรับและมีการนำหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ออกจำหน่ายในรูปแบบต่าง ๆ เชิงอุตสาหกรรมอย่างมากมาย

สรุปได้ว่า เนื่องจากปัจจุบันได้มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับความปลอดภัยอย่างมากเพียงพอแล้ว หญ้าหวาน สารสกัด และสารรสหวานของมันน่าจะได้รับการพิจารณานำมาใช้บริโภคภายในประเทศ ในรูปแบบของสารธรรมชาติ และส่งเสริมให้มีการใช้หญ้าหวานและสารสกัดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อพัฒนาด้านเศรษฐกิจของประเทศชาติต่อไป

10. เอกสารอ้างอิง

1. หนังสือการสัมมนา เรื่องการวิจัยหญ้าหวาน ครั้งที่ 1, 9-10 พฤษภาคม 2533 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ๑ ไมตรี สุทธิจิตต์ อัมพวัน อัสริยะกุล และรวีวรรณ พัวธนาโชคชัย ความปลอดภัยของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน มกราคม 2538 (หนังสือรวมรวม ทบทวน วิเคราะห์ ข้อมูลวิจัย และสังเคราะห์แนวคิดเกี่ยวกับหญ้าหวาน สนับสนุนโดยสกว.)

An Overview of Stevioside and Its Safety Evaluation

Professor Dr. Thirayudh Glinsukon

Department of Pharmacology, Faculty of Science

Rangsit University

1. Habitat of *S. rebaudiana* Berton

1.1 Paraguay and Brazil _____ 500 - 3050 m. (grassland, forests, mountain slopes)

Kaa' __he'__e'" (honey glass)

1.2 Berton (1987), Uruguayan botanist.

1.3 Rebaudi (1905), Paraguayan chemist. (a glycoside)

1.4 Bridel and Lavieille (1931) isolated pure crystalline glycoside, "Stevioside"

2. Cultivation of Stevia Plants in Thailand.

2.1 British tried to cultivate no success.

2.2 Sumida (Japan) could cultivate successfully (1971).

- Six years later first to market in ASIA (Japan)

- Uses in foods (fermented foods, diet drinks, confectionary and sea foods)

..... FDA (Japan) allows to use this sweetener legally (Paraguay and Brazil)

*..... FDA (USA) allows to use white powder of STV ?

2.3 Other countries

- S. Korea, Taiwan, China, Indonesia, Phillipines, Thailand.

2.4 Thailand (1975) —————> Exported to Japan

- Northern Thailand 1 Ton dried leaves (6 tons)/rhai(Seeds)

- STV 6 - 15% (dried weight)

- It could be produced to pilot and industrial scale(CMU and CU and also private company)

2.5 Benefit for Thailand (foreign currency).

- Increase exports

- Decrease imports of other sweeteners.

3. Chemistry of Stevioside and Its Derivatives (8 derivatives)

- STV, rebaudioside A-E, steviolbioside, dulcoside A.

- STV. 6-10% (from total of 15%)

- Rebaudioside A (350 - 400 times)

- Steviol (pectinase, hesperidinase or hepatic pancreatic juice).

4. Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion

4.1 Absorption - STV is degraded by intestinal microflora (not other digestive enzymes) of rats and human H^3 steviol (STV) conc.

in blood was highest at 8 hr. H^3 injection of ^{14}C -steviol (P.O. or rectum), it can be absorbed readily (Total degradation and absorption = 24 hours)

4.2 Distribution - Adrenal glands and kidney *

4.3 Metabolism - STV $\rightarrow$ steviol. (active metabolite ?), isosteviol, steviol 16-17 epoxide and unidentified metabolites.

4.4 Excretion - Feces (68.4%) (^{14}C)

5. Acute toxicity tests.

5.1 STV P.O. route = 8.2 - 42 g/kg BW (rats and mice)
= >15 g/kg BW (hamsters)

5.2 STV I.V., I.P. and S.C. routes = more toxic (0.89-3.10 g/kg BW in rats and mice).
(possible cause of death = renal failure)

***5.3 Steviol (P.O.) = LD_{50} 5.20(M) and 6.10 (F) g/kg BW (hamsters)
= >15 g/kg BW (rats and mice)
(possible cause of death = renal failure)

6. Subacute toxicity tests.

6.1 Lee et al. (1979) Stevia extracts (no changes in 17 blood chemical parameters.)

6.2 Tama Biochemical Co.(1981).....STV(crystal) 2500mg/kg BW(1m)(no adverse effects)

6.3 Akashio & Yokoyama (1975) Stevix (3000mg/kg BW) (no toxicity).

7. Teratogenic toxicity tests.

7.1 Mori et al.(1981) STV 3% in diet to male rats (60 days) and to female rats for 14 days no effects.

7.2 Yodyingyard (1987) STV (1 - 2.5 g/kg BW/day, P.O.)no effects.
Glinsukon (1988) (hamsters)

7.3 Usami et al. (1995) STV (P.O.) 1g/kg BW/d in pregnant Wistar rats (d6-d15) no teratogenicity.

- 7.4 Temchareon et al. (1997) STV and steviol induced no significant teratogenicity in the rats.

8. Mutagenic toxicity tests.

8.1 Tama Biochemical Co.	Fibroblasts from Chinese hamster	Slight positive
(1981b)	lung (chromosomal abboration test)	
8.2 Pezzuto et al. (1985)	Forward mutation assay	Positive
	<u>S.typhimurium</u> TM677	(5mg/ml)
8.3 Pimbua et al. (1986)	Forward mutation assay	Positive
	<u>S.typhimurium</u> TM677	(5mg/ml)
8.4 Matsui et al. (1996)	Chinese hamster lung	Positive
	fibroblast cell line	(1mg/ml)
	(chromosomal abberation test)	
.....	CHL (gene mutation assay)	Positive
8.5 Matsui et al. (1996)	Forward mutation assay	Positive
	<u>S.typhimurium</u> TM677	(Guanine phosphoribosyl transferase gene)

9. Chronic toxicity tests.

- 9.1 Yamada et al. (1985) STV (92.5%) in diet (10%) for 2 years in F344 rats (no toxic effects.)
- 9.2 Glinsukon et al. (1988) STV (95%) P.O. 1 g/kg BW (6m + normal diet for 6m. no toxic effects.) (hamsters)
- 9.3 Xili et al. (1992) STV (85%) in diet up to 1.2% for 24m. no carcinogenic effects in Wistar rats.
- 9.4 Toyoda et al. (1997) STV in diet 2.5 and 5% for 104 wk. no carcinogenic effects in F344 rats of both sexes. (decrease incidence of mammary adenoma and chronic nephropathy).
- ***9.5 Toskulkao et al. (1997) Steviol in diet (500 mg/kg = 0.05%) for 22 m(M) and 18 m(F) of Wistar rats..... no carcinogenic effects.

การศึกษาถึงความปลอดภัยของสารหวานสติวิโอไซด์และสารสติวียอล

ชัยวัฒน์ ค่อสกุลแก้ว,¹ ปัญญา เต็มเจริญ,² จันทรจิรา วสุนธราวัฒน์,¹
 มณฑกรณ สุธีพัฒนานนท์,¹ มุจลินท์ สุวรรณไตร,¹ ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์,¹
 เลียงชัย จตุรัส,¹ พิสุทธิ มังกรกาญจน์,³ สุนทรี อภิบาล,⁴ สมพงศ์ สหพงศ์,² ไมตรี สุทธจิตต์,⁵
 ชีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์⁶

¹ภาควิชาสรีรวิทยา และ ²ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล,

³ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

⁴ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามาริบัติ มหาวิทยาลัยมหิดล,

⁵ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,

⁶ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต.

สารหวานสติวิโอไซด์ (stevioside) เป็นสารหวานที่มีรสชาดใกล้เคียงกับน้ำตาลซูโครส (sucrose) มากที่สุดแต่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสประมาณ 200-300 เท่า พบว่าเป็นส่วนประกอบหลักของ หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) นอกจากนั้นในหญ้าหวานชนิดนี้ยังมีสารหวานอีกหลายชนิดที่พบได้ เช่น steviolbioside, rebaudiosides A-E และ dulcosides เป็นส่วนประกอบรองลงไป สารหวานสติวิโอไซด์นี้ได้มีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารในการทำให้เกิดรสชาดเป็นเวลานานแล้ว เช่น ในประเทศปารากวัย ญี่ปุ่น และบราซิล เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศญี่ปุ่นได้มีการใช้สารหวานสติวิโอไซด์ในอาหารหลายชนิด เช่น อาหารทะเล ผักดอง อาหารว่างหลายชนิด เครื่องดื่ม ลูกกวาด และในอุตสาหกรรมอาหารเป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าได้มีการนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยซึ่งเป็นโรค น้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) เพราะสารหวานสติวิโอไซด์นี้เป็นสารซึ่งให้รสชาดหวาน แต่ไม่ทำให้มีการเพิ่มปริมาณแคลอรีในร่างกาย (non-caloric sweetener) ในประเทศบราซิลและประเทศญี่ปุ่นและอีกหลายประเทศได้มีการนำเอาสารหวานสติวิโอไซด์มาใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงความปลอดภัยของสารหวานสติวิโอไซด์นั้นก็ได้มีการศึกษากันมาบ้างแล้วในสัตว์ทดลอง แต่ผลสรุปถึงความปลอดภัยในการที่จะนำสารหวานสติวิโอไซด์มาใช้ในคนนั้น ยังเป็นที่สงสัยว่าจะมีความปลอดภัยหรือไม่ เนื่องจากว่าสารหวานสติวิโอไซด์นี้จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็น สารสติวียอล (steviol) โดยเอนไซม์จากแบคทีเรียในบริเวณลำไส้ใหญ่ของหนูทุก และมีรายงานการวิจัยออกมาว่าสารสติวียอลนี้สามารถมีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ได้กับแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (TM 677) ถึงแม้จะมีรายงานว่าสารหวานสติวิโอไซด์และส่วนสกัดจากหญ้าหวานไม่มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าสารหวานสติวิโอไซด์ไม่มีผลในการทำให้เกิดการเกิดพิษอย่างเฉียบ

พลาซมาหรือการเกิดพิษอย่างเร็วในสัตว์ทดลองจำพวกหนูทุก (rats) หรือหนูถีบจักร (mice) แต่จากผลการทดลองดังกล่าวก็ยังไม่สามารถที่จะตอบคำถามที่ว่าสารหวานสติวไอโซด์นี้ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคน ถ้าคนนั้นรับประทานเข้าไปทุกวัน เนื่องจากมีการพบว่าสารหวานสติวไอโซด์นี้สามารถที่จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารสติวียอลโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ของหนูทุกได้และพบว่าสารสติวียอลนี้ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้ใหญ่ได้เกือบทั้งหมดและเนื่องจากสารสติวียอลนั้นมีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์กับแบคทีเรียได้ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาความปลอดภัยของสารสติวียอลด้วย

การที่จะศึกษาถึงความปลอดภัยในการใช้สารหวานสติวไอโซด์และสารสติวียอลนั้น จำเป็นที่จะต้องให้สัตว์ทดลองต่างๆ ที่ง่ายต่อการเกิดพิษจากสารหวานสติวไอโซด์มากที่สุด โดยพบว่าหนูแฮมสเตอร์จะตอบสนองต่อการเกิดพิษจากสารหวานสติวไอโซด์ได้ดีกว่าสัตว์ทดลองชนิดอื่น และนอกจากนั้นถ้าจะให้ดีต้องทำการศึกษาความปลอดภัยของสารหวานสติวไอโซด์นี้ในคนโดยตรงเลย ซึ่งการทำการทดลองในคนก็ทำลำบากเนื่องจากมีข้อห้าม (restriction) หลายประการ

ในประเทศไทยเรามีการปลูกหญ้าหวานทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และลำพูน เป็นต้น และมีโรงงานสกัดแยกสารหวานสติวไอโซด์ออกมา โดยผลิตผลจากหญ้าหวานเกือบทั้งหมดต้องส่งไปขายยังต่างประเทศ เนื่องจากในขณะนี้ยังไม่สามารถจำหน่ายหรือผสมสารหวานสติวไอโซด์ในอาหารในประเทศไทย เนื่องจากว่ายังไม่มีข้อมูลของการทดสอบการเป็นพิษของสารหวานตัวนี้มากพอที่จะอนุมัติให้มีการจำหน่ายหรือผสมลงในอาหารได้ ในขณะนี้ประเทศไทยเราสามารถที่จะสกัดสารหวานสติวไอโซด์จากหญ้าหวานให้มีความบริสุทธิ์ได้ในระดับหนึ่ง นอกจากนี้แล้ววิธีการปลูกและเก็บเกี่ยวหญ้าหวานโดยเกษตรกรทางภาคเหนือในบ้านเรา รู้จักและรู้วิธีอย่างดี และสามารถที่จะขยายพื้นที่ปลูกได้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาทดลองเกี่ยวกับความปลอดภัยของสารหวานสติวไอโซด์และสารสติวียอลให้ได้ข้อมูลมากพอและถูกต้องเพื่อที่จะนำไปใช้ประกอบในการพิจารณาว่าสามารถใช้สารหวานดังกล่าวในอาหารได้หรือไม่

สรุปผลการทดลองของสารหวานสติวไอโซด์และสติวียอล

1. การเกิดพิษอย่างเฉียบพลันของสารหวานสติวไอโซด์และสติวียอล (ตารางที่ 1)

การศึกษากการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันของสารหวานสติวไอโซด์และสารสติวียอลได้ทำการทดลองในสัตว์ทดลอง 3 ชนิดคือ หนูทุก (rats) หนูถีบจักร (mice) และหนูแฮมสเตอร์ (hamsters) และได้ทำการศึกษาทั้งในเพศผู้และเพศเมีย สัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิดจะถูกป้อนด้วยสารหวานสติวไอโซด์และสารสติวียอลในขนาดปริมาณต่างๆ หลังจากนั้นจะทำการสังเกตอาการต่างๆ ที่ปรากฏขึ้น รวมทั้งบันทึกระยะเวลาที่สัตว์ทดลองตาย สัตว์ทดลองที่ตายจะทำการเก็บเนื้อเยื่อต่างๆ มาตรวจทางพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น ส่วนสัตว์ทดลองที่ไม่ตายจะเลี้ยงต่อไปจนครบ 14 วัน หลังจากนั้นจะทำการฆ่าสัตว์ทดลองเพื่อนำเอาเนื้อเยื่อต่างๆ ไปตรวจทางพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น ผลการทดลองที่ได้จะสามารถนำมาคำนวณหาค่า LD_{50}

ตารางที่ 1 การเกิดพิษอย่างเฉียบพลันของสารหวานสตีวียอไรด์และสารสตีวียอลในสัตว์ทดลองชนิดต่างๆ

Treatment	Animal	Number of animals	BW (g)	Sex ^a	Survival time (h)	LD ₅₀ ^b (g/kg BW)	95% Confidence limits	Slope function
Stevioside	Hamsters	10	80-100	M	-	>15	-	-
		10	80-100	F	-	>15	-	-
	Rats	10	50-60	M	-	>15	-	-
		10	50-60	F	-	>15	-	-
	Mice	10	25-35	M	-	>15	-	-
		10	25-35	F	-	>15	-	-
Steviol	Hamsters	60	80-100	M	11 h-6 d	5.20	4.359-6.204	1.434
		60	80-100	F	15 h-7 d	6.10	5.432-6.850	1.182
	Rats	15	50-60	M	-	>15 (1)	-	-
		15	50-60	F	-	>15 (1)	-	-
	Mice	15	25-35	M	-	>15 (1)	-	-
		15	25-35	F	-	>15 (1)	-	-

^aM: Male, F: Female.

^bLD₅₀ values were calculated according to a method of Litchfield and Wilcoxon.

The number in parentheses is the number of dead animals at the dose of 15 g/kg BW steviol (Drug Chem. Toxicol. 20: 31-44, 1997).

(mean lethal dose) ของสารต่างๆได้ ผลการทดลองปรากฏว่า สารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณที่สูงถึง 15 g/kg BW ไม่สามารถทำให้สัตว์ทดลองตายได้ทั้งเพศผู้และเพศเมียในหนูถีบจักร หนูทุก และหนูแฮมสเตอร์ ดังนั้นค่า LD_{50} ของสารหวานสติวไอโซด์ในหนูถีบจักร หนูทุก และหนูแฮมสเตอร์จะมากกว่า 15 g/kg BW สำหรับสารสติวอลนั้นพบว่า เมื่อให้สารสติวอลในขนาดปริมาณ 15 g/kg BW ในหนูทุกและหนูถีบจักรทั้งเพศผู้และเพศเมียจะทำให้สัตว์ทดลองตาย 1 ตัวในแต่ละกลุ่ม ซึ่งค่า LD_{50} ของสารสติวอลในหนูทุกและหนูถีบจักรจะมากกว่า 15 g/kg BW ส่วนหนูแฮมสเตอร์จะมีความทนทานต่อสารสติวอลได้น้อยกว่าหนูทุกและหนูถีบจักร โดยในหนูแฮมสเตอร์เพศผู้จะมีค่า LD_{50} 5.20 g/kg BW ส่วนหนูแฮมสเตอร์เพศเมียจะมีค่า LD_{50} 6.10 g/kg BW สำหรับสาเหตุการตายของหนูแฮมสเตอร์ที่เกิดจากสารสติวอลนั้นพบว่าเนื่องมาจากมีการล้มเหลวของการทำงานของไตในสัตว์ทดลอง โดยพบว่าสารสติวอลจะไปทำลายท่อไตโดยเฉพาะกับท่อไตส่วนต้น (proximal tubular cells)

2. การศึกษาถึงพิษเรื้อรังและฤทธิ์ในการก่อกัมเริงของสารสติวอล

การศึกษาถึงพิษเรื้อรังและฤทธิ์ในการก่อกัมเริงของสารสติวอลได้ทำการทดสอบในหนูแฮมสเตอร์ทั้งเพศผู้และเพศเมียโดยให้สัตว์ทดลองได้รับสารสติวอลติดต่อกันตลอดช่วงชีวิต โดยแบ่งสัตว์ทดลองทั้งเพศผู้และเพศเมียออกเป็นเพศละ 3 กลุ่มๆละ 55 ตัว แต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีสารสติวอลในระดับต่างๆกันคือ 0, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัมเป็นระยะเวลา 22 เดือนในเพศผู้และ 18 เดือนในเพศเมีย ในช่วงแรกของการกินอาหารที่มีสารสติวอลในระดับต่างๆนั้น จะทำการตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) โดยทำการวัดน้ำหนักสัตว์ทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ รวมทั้งวัดอัตราการกินอาหาร (relative total food consumption) และความสามารถในการนำอาหารไปใช้เสริมสร้างร่างกาย (food conversion efficiency) ในช่วง 3 เดือนแรก หลังจากนั้นจะทำการชั่งน้ำหนักหนูไปจนสิ้นสุดการทดลอง หลังจากสัตว์ทดลองได้รับสารสติวอลนาน 6 เดือน และ 12 เดือน ก็เลือกหนูเพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว จากแต่ละกลุ่มเพื่อทำการศึกษาด้านโลหิตวิทยา การตรวจหาสารชีวเคมีในเลือด และการตรวจทางพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อต่างๆ จากการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสติวอลทั้ง 2 ระดับเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมทั้งในด้านการเจริญเติบโต การกินอาหารและความสามารถในการนำอาหารไปใช้เสริมสร้างร่างกายรวมถึงอัตราการตาย นอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดปริมาณที่ได้รับสารสติวอลกับผลการตรวจทางด้านโลหิตวิทยา การตรวจสารทางชีวเคมีในเลือด การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุบัติการณ์ของการเกิดโรคและมะเร็งในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆในช่วงระยะเวลา 6 เดือนและ 12 เดือน เมื่อเลี้ยงสัตว์ทดลองต่อไปจนสิ้นสุดการทดลอง (ในเพศผู้เป็นระยะเวลา 22 เดือน และในเพศเมียเป็นระยะเวลา 18 เดือน) ก็จะนำสัตว์ทดลองทั้งหมดในแต่ละกลุ่มมาทำการศึกษาด้านโลหิตวิทยา การตรวจหาสารชีวเคมีในเลือด และตรวจทางพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถคำนวณหาช่วงชีวิตเฉลี่ย (average life span) ของสัตว์ทดลองในแต่ละ

ละกลุ่ม และทำการวัดน้ำหนักของอวัยวะต่างๆด้วย ผลการทดลองปรากฏว่าช่วงชีวิตเฉลี่ย น้ำหนักตัว น้ำหนักของอวัยวะต่างๆ ผลการตรวจทางด้านโลหิตวิทยา ผลการตรวจทางชีวเคมีในเลือด ผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุบัติการณ์ของการเกิดโรคและมะเร็งในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆของหนูกลุ่มที่ให้สารสตีวีโอลไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

3. การศึกษาฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ของสารหวานสตีวีโอไซด์และสารสตีวีโอล

3.1 การตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยวิธีของเอมส์ (Ames test)

การตรวจสอบโดยวิธีนี้จะใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 เป็นตัวทดสอบ และทดสอบทั้งในระบบที่มีและไม่มีเอนไซม์จากตับ (liver S9 fraction) ของสัตว์ทดลอง ชนิดต่างๆ เช่น หนูเพศขาว หนูถีบจักร หนูแฮมสเตอร์ และหนูตะเภา ที่ถูกกระตุ้นให้มีการเพิ่มการผลิต และการทำงานของเอนไซม์ในส่วนของไมโครโซมภายในตับมาก่อนด้วยสาร sodium phenobarbital และ 5,6-benzoflavone ผลการทดลองพบว่าสารหวานสตีวีโอไซด์และสารสตีวีโอลในปริมาณความเข้มข้นสูงสุดที่ 50 และ 2 มิลลิกรัมต่อ plate ตามลำดับ ไม่มีฤทธิ์ทำให้แบคทีเรีย *S. typhimurium* ทั้งสองสายพันธุ์คือ TA 98 (ตารางที่ 2) และ TA 100 (ตารางที่ 3) เกิดการกลายพันธุ์เมื่อทดสอบโดยวิธีของเอมส์ทั้งในระบบที่มีและไม่มีเอนไซม์ที่อยู่ในส่วนของไมโครโซมจากตับของหนูเพศขาว หนูถีบจักร หนูแฮมสเตอร์ และหนูตะเภา แต่พบว่าทั้งสารสตีวีโอไซด์และสารสตีวีโอลในปริมาณสูงมีฤทธิ์ฆ่า (killing effect) แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบทั้งสองสายพันธุ์ และฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียนี้นี้ลดลงเมื่อมีเอนไซม์จากตับของสัตว์ทดลองชนิดต่างๆอยู่ด้วย

3.2 การตรวจสอบโดยวิธีดูไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดแดง (polychromatic erythrocyte) ที่ได้จากไขกระดูก (bone marrow)

การตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารใดสารหนึ่งโดยวิธีดูไมโครนิวเคลียสนั้นเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ทดสอบเพื่อดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโครโมโซม ในการศึกษาครั้งนี้ใช้หนูแฮมสเตอร์ หนูเพศ และ หนูถีบจักรเป็นสัตว์ทดลอง ทำการป้อนสารหวานสตีวีโอไซด์ในขนาดปริมาณ 10 กรัม/น้ำหนักตัวทดลอง 1 กิโลกรัมในสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด ส่วนสารสตีวีโอลนั้นจะป้อนในขนาดปริมาณ 4 กรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัมสำหรับแฮมสเตอร์ และในขนาดปริมาณ 8 กรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัมสำหรับหนูเพศและหนูถีบจักร หลังจากนั้นทำการฆ่าสัตว์ทดลองที่ 24, 30, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากให้สารหวานสตีวีโอไซด์และสารสตีวีโอลและทำการดูเอาไขกระดูกออกมาจากกระดูกต้นขา (femur) มาป้าย (smear) บนแผ่นสไลด์ และย้อมด้วยสี May-Greenwald และ Giemsa หลังจากนั้นก็ทำการตรวจนับดูจำนวนเม็ดเลือดแดง (polychromatic erythrocyte) หรือ PCE ที่มีไมโครนิวเคลียสว่ามีกี่เซลล์ต่อจำนวนเซลล์ PCEs 1000 เซลล์ จากการศึกษาพบว่าทั้งสารหวานสตีวีโอไซด์และสารสตีวีโอลในขนาดปริมาณดังกล่าวข้างต้นซึ่งเป็นปริมาณที่สูงมากเมื่อให้กับหนูแฮมสเตอร์ หนูเพศ และหนูถีบจักรไม่สามารถชักนำ

ให้อำนาจ PCE ที่มีไมโครนิวเคลียสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารหวานสติวไอโซไซด์และสารสติวโอลดต่อแบคทีเรีย *S. typhimurium* TA 98 โดยวิธีของแฮมส์ (preincubation method)

Compound	Amount (mg/plate)	No. of his ⁺ revertant colonies/plate (mean $\pm$ S.D., n=6)				
		-S9 mix	+S9 mix			
			Rat	Mouse	Hamster	Guinea pig
Stevioside	0	48 $\pm$ 11.4	54 $\pm$ 5.8	57 $\pm$ 1.7	56 $\pm$ 9.3	52 $\pm$ 6.2
	12.5	46 $\pm$ 10.5	38 $\pm$ 4.8	50 $\pm$ 5.0	52 $\pm$ 11.7	37 $\pm$ 67.5
	25.0	42 $\pm$ 8.0	38 $\pm$ 7.7	37 $\pm$ 6.0	45 $\pm$ 4.3	32 $\pm$ 2.2
	50.0	44 $\pm$ 14.6	32 $\pm$ 4.7	24 $\pm$ 2.0	36 $\pm$ 5.0	32 $\pm$ 4.6
Steviol	0	48 $\pm$ 11.4	54 $\pm$ 5.8	57 $\pm$ 1.7	56 $\pm$ 9.3	52 $\pm$ 6.2
	0.25	46 $\pm$ 15.6	54 $\pm$ 7.0	56 $\pm$ 4.3	51 $\pm$ 8.5	55 $\pm$ 3.6
	0.50	48 $\pm$ 11.3	46 $\pm$ 4.6	47 $\pm$ 4.5	53 $\pm$ 3.0	48 $\pm$ 6.2
	0.75	31 $\pm$ 6.8	47 $\pm$ 7.3	49 $\pm$ 3.0	55 $\pm$ 3.3	41 $\pm$ 4.5
	1.0	19* $\pm$ 5.9	43 $\pm$ 5.3	40 $\pm$ 3.2	43 $\pm$ 6.4	36 $\pm$ 4.0
	1.5	17* $\pm$ 3.6	41 $\pm$ 5.0	32 $\pm$ 1.1	42 $\pm$ 4.6	32 $\pm$ 2.6
	2.0	17* $\pm$ 2.1	28* $\pm$ 1.4	26* $\pm$ 3.6	19* $\pm$ 3.8	26* $\pm$ 2.0
Positive control	μ g/plate					
AFB ₁	0.03	ND	1060 $\pm$ 25	605 $\pm$ 13	1146 $\pm$ 68	1936 $\pm$ 32
4-NQO	0.5	231 $\pm$ 20	ND	ND	ND	ND

+S9 mix contained 100 μ l/plate of liver S9 fractions from various animal species treated with sodium phenobarbital and 5,6-benzoflavone, and NADPH-generating system.

ND = not determine, * = killing effect

ตารางที่ 3ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารหวานสติวไอโซด์และสารสติวโอลต่อแบคทีเรีย *S. typhimurium* TA 100 โดยวิธีของเอมส์ (preincubation method)

Compound	Amount (mg/plate)	No. of his ⁺ revertant colonies/plate (mean $\pm$ S.D., n=6)				
		-S9 mix	+ S9 mix			
			Rat	Mouse	Hamster	Guinea pig
Stevioside	0	163 $\pm$ 17	163 $\pm$ 18	156 $\pm$ 17	184 $\pm$ 10	154 $\pm$ 11
	12.5	142 $\pm$ 18	141 $\pm$ 6	147 $\pm$ 9	135 $\pm$ 4	137 $\pm$ 2
	25.0	134 $\pm$ 14	131 $\pm$ 4	138 $\pm$ 2	139 $\pm$ 9	129 $\pm$ 10
	50.0	119 $\pm$ 19	124 $\pm$ 2	117 $\pm$ 4	131 $\pm$ 5	102 $\pm$ 13
Steviol	0	163 $\pm$ 17	163 $\pm$ 18	156 $\pm$ 17	184 $\pm$ 10	154 $\pm$ 11
	0.25	162 $\pm$ 21	174 $\pm$ 14	193 $\pm$ 6	172 $\pm$ 7	156 $\pm$ 13
	0.50	138 $\pm$ 15	150 $\pm$ 18	188 $\pm$ 3	165 $\pm$ 18	141 $\pm$ 8
	0.75	124 $\pm$ 17	142 $\pm$ 13	131 $\pm$ 6	150 $\pm$ 16	114 $\pm$ 1
	1.0	120 $\pm$ 13	148 $\pm$ 6	126 $\pm$ 6	145 $\pm$ 14	114 $\pm$ 8
	1.5	101* $\pm$ 15	125 $\pm$ 8	123 $\pm$ 8	127 $\pm$ 10	110 $\pm$ 7
	2.0	92* $\pm$ 10	122 $\pm$ 9	120* $\pm$ 5	108* $\pm$ 5	100* $\pm$ 5
Positive control	μ g/plate					
AFB ₁	0.03	ND	1435 $\pm$ 65	724 $\pm$ 27	1883 $\pm$ 66	2002 $\pm$ 78
NaN ₃	0.50	802 $\pm$ 20	ND	ND	ND	ND

+S9 mix contained 100 μ l/plate of liver S9 fractions from various animal species treated with sodium phenobarbital and 5,6-benzoflavone, and NADPH-generating system.

ND = not determine, * = killing effect

(J. Med. Assoc. Thailand, accepted 1997).

4. การศึกษาฤทธิ์ในการก่อให้เกิดลูกวิรูปของสารสตีวียอล

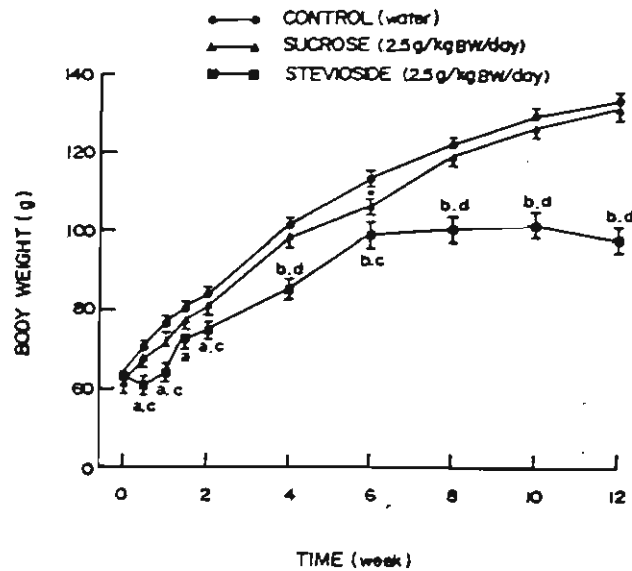
การศึกษาฤทธิ์ในการก่อให้เกิดลูกวิรูปของสารสตีวียอลได้ทำการทดลองในหนูแฮมสเตอร์ที่ตั้งท้องจำนวนกลุ่มละ 12 ถึง 20 ตัว ทำการให้สารสตีวียอลในน้ำมันข้าวโพดขนาดปริมาณ 0, 250, 500, 750 และ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ทางปากทุกวันจากวันที่ 6 ถึง 10 ของการตั้งท้องและทำการผ่าท้องในวันที่ 14 ของการตั้งท้อง กลุ่มควบคุมที่กำหนดให้มีความผิดปกติของตัวอ่อนจะได้รับเรตินอลปาลมิเตทประเภททรานส์ขนาดปริมาณ 600 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ผลการศึกษาพบว่า สารสตีวียอลปริมาณ 750 และ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ก่อให้เกิดภาวะเป็นพิษในแม่และตัวอ่อนอย่างรุนแรงโดยทำให้น้ำหนักตัวในวันที่ 6 ถึง 14 ของแม่หนูลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ร้อยละของการตายของแม่หนูเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนลูกที่มีชีวิตต่อครอกและน้ำหนักเฉลี่ยของตัวอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสตีวียอลปริมาณปานกลาง (500 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน) มีภาวะเป็นพิษของแม่และตัวอ่อนน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสตีวียอลระดับสูงจากการตรวจความผิดปกติของตัวอ่อนทางโครงร่างภายนอก อวัยวะภายในและโครงกระดูก ไม่พบความผิดปกติใดๆที่สัมพันธ์กับระดับของการรับสารสตีวียอล ยกเว้นในกลุ่มที่ได้รับสารสตีวียอลปริมาณ 750 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นภาวะที่พบความเป็นพิษในแม่จะพบลูกที่มีเชื้อหุ้มสมองขึ้นเป็นถุงน้ำจากศีรษะทางด้านบน 1 ตัว จากผลการทดสอบประกอบกับการพิจารณาถึงสภาพการปลดภาวะความเป็นพิษต่อแม่และลูก การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารสตีวียอลขนาด 250 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน เป็นขนาดที่ให้เข้าไปแล้วไม่มีผลต่อความเป็นพิษต่อแม่และตัวอ่อนหนูแฮมสเตอร์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ระดับการรับสารสตีวียอลขนาดนี้เทียบได้รับการรับสารหวานสตีวิโอไซด์ขนาดประมาณ 625 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณที่มากกว่าปริมาณที่ยินยอมให้มีการบริโภคสารหวานสตีวิโอไซด์ในคน (7.938 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน) ประมาณ 80 เท่า

5. การศึกษาถึงผลของสารหวานสตีวิโอไซด์ต่อหน้าที่การทำงานของระบบทางเดินอาหาร

เนื่องจากสารหวานสตีวิโอไซด์เมื่อรับประทานเข้าไปจะไปสัมผัสกับทางเดินอาหารก่อนดังนั้นในการศึกษานี้ต้องการดูว่าสารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณที่สูงเมื่อป้อนเข้าไปทางปากจะไปมีผลต่อหน้าที่การทำงานของสรีรวิทยาของลำไส้เล็กได้หรือไม่ โดยจะทำการศึกษาในหนูแฮมสเตอร์ ผลการทดลองพบว่า สารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณ 500 และ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน โดยทำการป้อนให้กินทุกวันเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง แต่ถ้าป้อนสารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณ 2500 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงมากให้แก่สัตว์ทดลองทุกวันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสัตว์ทดลองจะลดลง

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 1) ซึ่งปริมาณสารหวานสติวไอโซด์ที่ให้ในการทดลองครั้งนี้จะสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารหวานสติวไอโซด์ที่คนญี่ปุ่นรับประทานเข้าไปในแต่ละวัน คือประมาณ 2-4 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณสูงดังกล่าวข้างต้นไม่มีผลต่อน้ำหนักและความยาวของลำไส้เล็กรวมทั้งการทำงานของเอนไซม์บนผนังบรัสเบอร์เคอร์ของลำไส้เล็ก เช่น แลคเตส และมอลเตส แต่พบว่าสารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณตั้งแต่ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน เมื่อให้กินทุกวันเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์สามารถไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ซูเครสได้มากกว่าที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยน้ำตาลซูโครสโดยตรง(ตารางที่ 4) ซึ่งมีผลในการกระตุ้นการเปลี่ยนจากน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลฟรุคโตสและกลูโคสได้รวดเร็วมากยิ่งขึ้น เหตุผลของสารหวานสติวไอโซด์สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ซูเครสยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด สำหรับผลของสารหวานสติวไอโซด์ต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสของลำไส้เล็กพบว่า สารหวานสติวไอโซด์ในปริมาณ 500 และ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน ไม่มีผลต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแต่ในขนาดปริมาณ 2500 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน ให้กินติดต่อกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่า จะสามารถยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็ก(รูปที่ 2) ซึ่งผลการยับยั้งน้ำตาลกลูโคสจากสารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณสูงเป็นผลเนื่องจากสารหวานสติวไอโซด์ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase และไปรบกวนโครงสร้างของเซลล์ดูดซึมโดยเฉพาะในบริเวณผนังบรัสเบอร์เคอร์ของลำไส้เล็ก

นอกจากนี้ยังศึกษาถึงผลของสารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณสูงว่าสามารถไปรบกวนการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในกรณีที่ให้ไปด้วยกัน ทำการศึกษาโดยการแยกเอาลำไส้เล็กออกมาและนำมาใส่ในหลอดทดลองที่มีทั้งน้ำตาลกลูโคสและสารหวานสติวไอโซด์ในขนาด 5 mM (หรือ 400 mg%) ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงมากเมื่อเทียบกับปริมาณสารหวานสติวไอโซด์ที่ใส่ลงในอาหารในประเทศญี่ปุ่น เช่น ในไอศกรีม 5 mg% น้ำผลไม้ 7 mg% และน้ำดื่มอัดลม 7 mg% เป็นต้น ผลการทดลองพบว่าสารหวานสติวไอโซด์ขนาดปริมาณ 5 mM ไม่มีผลในการไปรบกวนการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็ก

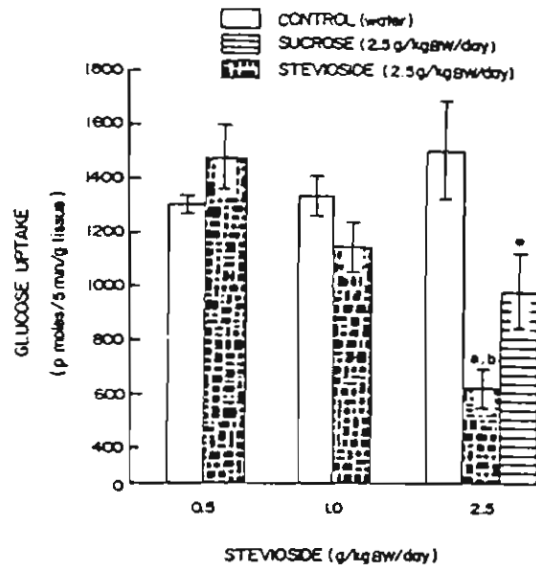


รูปที่ 1 แสดงถึงผลของสารหวานสตีวิโอไซด์ที่ป้อนให้สัตว์ทดลองกินทุกวันในขนาดปริมาณ 2.5 กรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน เป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ (Nutrition Res. 14: 1711-1720, 1994)
^a $p < 0.01$, ^b $p < 0.001$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม(น้ำ)กับกลุ่มสารหวานสตีวิโอไซด์
^c $p < 0.05$, ^d $p < 0.001$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม(ซูโครส)กับกลุ่มสารหวานสตีวิโอไซด์

ตารางที่ 4 ผลของสารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณต่างๆต่อความยาวและน้ำหนักของลำไส้เล็ก และการทำงานของเอนไซม์โคไลแคโรเลสในบริเวณผนังบริสเบอร์เคอร์ของลำไส้เล็ก (Nutrition Res. 14: 1711-1720, 1994)

Treatment	Small intestine		Disaccharidases activity (I.U./g protein) ^a		
	Weight (g/100 g BW)	Length (cm/100 g BW)	Lactase	Maltase	Sucrase
Control	1.54 ± 0.07	38.4 ± 0.5	17.9 ± 0.7	7627 ± 529	436 ± 13
Stevioside (0.5 g/kg BW/day)	1.56 ± 0.06	39.0 ± 0.3	18.7 ± 0.6	7203 ± 329	444 ± 21
Control	1.61 ± 0.03	39.6 ± 0.3	18.0 ± 1.0	6980 ± 279	464 ± 10
Stevioside (1 g/kg BW/day)	1.68 ± 0.03	39.1 ± 0.4	17.8 ± 0.4	7309 ± 499	589 ± 20 ^{***}
Control	1.48 ± 0.04	40.3 ± 1.0	18.9 ± 1.7	7257 ± 387	467 ± 20
Sucrose (2.5 g/kg BW/day)	1.55 ± 0.05	39.3 ± 1.2	14.0 ± 2.7	8259 ± 721	527 ± 38
Stevioside (2.5 g/kg BW/day)	1.57 ± 0.06	41.2 ± 1.2	16.7 ± 0.8	8697 ± 516	651 ± 38 ^{***, #}

^a Units of disaccharidase activity were defined as μ moles of substrate hydrolyzed /min / g protein. Significant values are indicated by asterisks : ^{***} $p < 0.001$ compared between control (water) and stevioside ; [#] $p < 0.05$ compared between control (sucrose) and stevioside. Values are means $\pm$ S.E. of 12-15 hamsters.



รูปที่ 2 ผลของสารหวานสติวไอไซด์ในขนาดปริมาณต่างๆที่ป้อนให้สัตว์ทดลองกินทุกวันเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในบริเวณลำไส้เล็ก (Nutrition Res. 14: 1711-1720, 1994)

ผลการทดลองดังกล่าวสรุปออกมาได้ดังนี้

1) ค่า LD_{50} ของสารหวานสติวไอไซด์ในหนูแฮมสเตอร์ หนูพุก และหนูถีบจักรทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่ามากกว่า 15 กรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม เมื่อให้เข้าไปทางปาก ซึ่งอาจจะถือได้ว่าสารหวานสติวไอไซด์บริสุทธิ์นั้นไม่เป็นพิษต่อสัตว์ทดลองในกรณีของการเกิดพิษอย่างเฉียบพลัน (acute effect)

2) การให้สารสติวไอไซด์ในอาหารแล้วให้หนูแฮมสเตอร์กินตลอดช่วงชีวิตทั้งเพศผู้และเพศเมียพบว่า สารสติวไอไซด์ในขนาดปริมาณดังกล่าวไม่มีผลต่อช่วงชีวิตเฉลี่ย น้ำหนักตัว ผลการตรวจทางชีวเคมีในเลือด ผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุบัติการณ์มะเร็งในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

3) สารหวานสติวไอไซด์และสารสติวไอไซด์ในขนาดปริมาณสูงที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์คือแบคทีเรีย *S.typhimurium* TA 98 และ TA 100 ทั้งที่มีและไม่มีเอนไซม์จากตับของหนูพุก หนูถีบจักร หนูแฮมสเตอร์ และหนูตะเภา และนอกจากนี้สารหวานสติวไอไซด์และสารสติวไอไซด์ในขนาดปริมาณสูงไม่สามารถชักนำให้จำนวน PCE จากไขกระดูกมีไมโครนิวเคลียสเพิ่มขึ้นในหนูแฮมสเตอร์ หนูพุก และหนูถีบจักรเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

4) การให้สารสติวไอไซด์ในปริมาณ 250 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัมในหนูแฮมสเตอร์ที่ดื่มน้ำตั้งแต่วันที่ 6-10 พบว่าไม่มีผลต่อความเป็นพิษต่อแม่และตัวอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งปริมาณของสารสติวไอไซด์ดังกล่าวเมื่อเทียบกับปริมาณของสารหวานสติวไอไซด์ที่กินเข้าไปในสัตว์ทดลองจะเทียบได้ประมาณ 80 เท่าของปริมาณที่ยินยอมให้มีการบริโภคของสติวไอไซด์ในคนต่อวัน (ADI ในคน = 7.938 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน)

ทดลองจะเทียบได้ประมาณ 80 เท่าของปริมาณที่ยินยอมให้มีการบริโภคของสตีวิโอไซด์ในคนต่อวัน (ADI ในคน = 7.938 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน)

5) การให้สารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณสูงถึง 500 และ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน ให้กินทุกวันเป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ทางสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะลำไส้เล็ก แต่ถ้าให้กินขนาดปริมาณ 2500 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงมาก เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะมีผลไปรบกวนการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสในบริเวณลำไส้เล็กและทำให้การเจริญเติบโตลดลง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.ด้วง พุทธกร ที่ช่วยหาเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารหวานสตีวิโอไซด์และสารสตีวียอลในการทดลองครั้งนี้และขอขอบคุณ คุณพิลา แก้วรากมุก และ คุณสุพัตรา เทพคุณชร และคุณสุริยศักดิ์ กาญจนสถิตย์ ที่มีส่วนร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้ สารหวานสตีวิโอไซด์ได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักงานค้นคว้าวิจัยสมุนไพรไทย อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ ขอขอบคุณ คุณชลลดา ยี่สาพิยะที่ช่วยพิมพ์ต้นฉบับนี้ ท้ายนี้ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. C. Toskulkao, L. Chaturat, P. Temcharoen and T. Glinsukon. Acute toxicity of stevioside, a natural sweetener, and its metabolite, steviol, in several animal species. *Drug Chem. Toxicol.* 20: 31-44 (1997).
2. S. Klongpanichpak, P. Temcharoen, C. Toskulkao, S. Apibal and T. Glinsukon. Lack of mutagenicity of stevioside and steviol in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100. *J. Med. Assoc. Thailand* (accepted, 1997).
3. C. Toskulkao, M. Sutheerawattananon, C. Wanichanon, P. Saitongdee, and M. Suttajit. Effects of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption in hamsters. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 41: 105-113 (1995).
4. C. Toskulkao, and M. Sutheerawattananon. Effects of stevioside, a natural sweetener, on intestinal glucose absorption in hamsters. *Nutrition Res.* 14: 1711-1720 (1994).
5. C. Toskulkao, W. Deechakawan, V. Leardkamolkarn, D. Buddhasukh and T. Glinsukon. The low calorie natural sweetener stevioside: Nephrotoxicity to urinary enzyme excretion in the rat. *Phytotherapy Res.* 8: 281-286 (1994).

6. M. Suwannatrai. Micronucleus and carcinogenicity study of steviol in hamsters. MS Thesis, Mahidol University (1996).
 7. C. Wasuntarawat. Teratogenic test of steviol in the hamster. MS Thesis, Mahidol University (1995).
 8. S. Klongpanichpak. Metagenic tests of steviol and stevioside. MS Thesis, Mahidol University (1995).
 9. L. Chaturat. Acute toxicity and carcinogenicity study of steviol in hamsters. MS Thesis, Mahidol University (1995).
 10. M. Usami, K. Sakemi, K. Kawashima, M. Tsuda and Y. Ohno. Teratogenicity study of stevioside in rats. Bulletin Natl. Institute Hygienic Sci. 113: 31-35 (1995).
 11. L. Xili, B. Chengjiany, X. Eryi, S. Reiming, W. Haodong and H. Zhiyian. Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of stevioside in rats. Fd. Chem. Toxicol. 30: 957-965(1992).
-

การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ก่อมะเร็งของสารสกัดหญ้าหวานและ ผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน

อ. รวีวรรณ พัวธนาโชคชัย, รศ. ดร. อุทัย วิณิชเขตคำนวน, รศ. ดร. โมตรี สุทธจิตต์
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

หญ้าหวานเป็นพืชที่ใช้กันมานานของคนในประเทศแถบละตินอเมริกา การศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับหญ้าหวานได้เริ่มศึกษาประมาณ 100 ปีแล้ว สำหรับการศึกษากิจกรรมก่อกลายพันธุ์ของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ของมัน เริ่มต้นประมาณปี ค.ศ. 1976(พ.ศ. 2519) บริษัท Tama Biochemical Research ได้นำสารสกัดหญ้าหวานและ Stevia (ชื่อทางการค้า) ให้กับมูลนิธิศูนย์ความปลอดภัยในอาหารและสารเคมี สถาบันวิจัยฮาดาโน ประเทศญี่ปุ่น (Foundation Food and Chemicals Safety Research Center, Hatano Research Institute) ทำการทดสอบก่อนนำออกวางจำหน่ายในประเทศ ซึ่งได้รายงานเกี่ยวกับผลการทดสอบผลการเปลี่ยนแปลงยีน หรือฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียชัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ดังนี้ TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์จากคัมพูกระดุน (S9 mix) พบว่าสารสตีวียอไซด์ และ Stevia ที่มีปริมาณ 10 มิลลิกรัมถึง 100 กรัม ไม่เพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่กลายพันธุ์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นั่นคือ สารสตีวียอไซด์ และ Stevia ของบริษัท Tama Biochemical Research ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียที่ทดสอบดังกล่าว

นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 1978 (พ.ศ. 2521) ได้มีผลการทดลองจากมูลนิธิศูนย์ความปลอดภัยในอาหารและสารเคมี สถาบันวิจัยฮาดาโนซึ่งรายงานแก่ The Japan Stevia Council ว่า สารสตีวียอไซด์ความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัม ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียชัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ TA 1538, TA 100 TA 1537 และ TA98 ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์จากคัมพูกระดุน (S9 mix) และยังมีกลุ่มนักวิจัยในประเทศญี่ปุ่นอีกหลายกลุ่มที่ทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ Crude extract, Crude product และสตีวียอไซด์ในแบคทีเรียชัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียม (Ames test) ที่พบว่าสารทดสอบทั้งหมดไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ยกเว้นกลุ่มของ Takie Yabagi แห่งสถาบันวิจัยแห่งชาติ ประเทศญี่ปุ่น ที่รายงานว่า crude product มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เล็กน้อยในแบคทีเรียสายพันธุ์ TA100 ในสภาวะที่มีเอนไซม์กระดุน

จากการทดลองฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แบบ Rec-assay ซึ่งใช้แบคทีเรียบาซิลลัสในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์กระดุน โดยกลุ่มนักวิจัยในประเทศญี่ปุ่น 3 แห่งพบว่า ทั้ง crude extract, crude product และสตีวียอไซด์ ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียดังกล่าว

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของ crude product และสตีวิโอไซด์ ต่อการแตกหักของโครโมโซมของหนู rat และโครโมโซมจาก fibroblast ที่ได้จากการก และไม่มีผลต่อ sister chromatid exchange แต่พบว่าส่วน crude product มีผลต่อการแตกหักโครโมโซมจาก fibroblast ที่ได้จากปอดของหนู Chinese hamster

- อย่างไรก็ตามไม่พบว่าทั้ง crude extract และสตีวิโอไซด์ ก่อให้เกิดการกลายใน Oocyte ของ silkworm สำหรับการทดสอบ Dominant lethality test ของ crude product ที่ให้แก่หนู mice ซึ่งมีความเข้มข้น 10, 15, และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวพบว่าที่ความเข้มข้น 15 กรัมต่อกิโลกรัม มีแนวโน้มที่จำนวนการฝังของตัวอ่อนลดลงเล็กน้อยแต่ตัวอ่อนมีลักษณะปกติ สำหรับที่ความเข้มข้นอื่นๆ ไม่มีผลการฝังตัวและความผิดปกติของตัวอ่อน

Okamoto, H. นักวิจัยชาวญี่ปุ่นและคณะ ในปี ค.ศ. 1983 (พ.ศ. 2526) ได้ทำการศึกษาผลการยับยั้งเอนไซม์ ornithine carboxylase (ODC) ในผิวหนังหนู mice และการเพิ่มจำนวน Epstein-Barr virus associate early antigen (EBV-EA) ที่อยู่ใน Raji cell ที่เหนี่ยวนำโดยสารส่งเสริมการเกิดมะเร็ง ที่มีชื่อว่า TPA โดยทำการศึกษาในสารที่รบกวนหลาย ๆ ชนิดรวมทั้งสตีวียอล ปกติเอนไซม์ ODC ในผิวหนัง และ EBV-EA ใน Raji cell จะเพิ่มขึ้นโดยสารส่งเสริมมะเร็ง (Tumor promotor) แต่จากการทดลองนี้พบว่าสตีวียอล ลดการทำงานของเอนไซม์ ODC ในผิวหนังและลดจำนวน EBV-EA จึงแสดงถึงสตีวียอล มีแนวโน้มยับยั้งการส่งเสริมการเกิดมะเร็ง (Tumor promotion) ทั้งจากการทดลองทั้งในสิ่งมีชีวิต (in vivo) และในหลอดทดลอง (in vitro)

ในปี ค.ศ. 1984 (พ.ศ. 2527) Hagiwara, A. นักวิจัยชาวญี่ปุ่นและคณะ ได้ทำการศึกษาผลของสารที่ให้รบกวนต่อการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะในหนู F344 rat ซึ่งจากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าสารที่ให้รบกวน ได้แก่ Saccharin และ Cyclamate ทำให้เกิดและส่งเสริมมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ จึงทำการทดสอบในสารที่รบกวนชนิดอื่นบ้าง จากการทดลองนี้ใช้สาร N-butyl N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine หรือ BBN เป็นสารก่อมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ แล้วให้สตีวิโอไซด์ในน้ำดื่ม 0.01% เป็นเวลา 32 สัปดาห์ พบว่าสตีวิโอไซด์ไม่ช่วยส่งเสริมการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะจากสาร BBN และนอกจากนี้หนูที่ได้รับสตีวิโอไซด์เพียงอย่างเดียวในเวลาเท่ากัน ก็ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของทางเดินปัสสาวะหรือมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

ต่อมาในปี ค.ศ. 1985 (พ.ศ. 2528) Pezzuto, J.M และคณะ ซึ่งเป็นกลุ่มนักวิจัยอเมริกัน พบว่าสตีวิโอไซด์ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในเซลล์ไมเนลลา รัยฟิมิวเรียม สายพันธุ์ TM 677 (Forward mutation assay) ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์กระตุ้นแต่สำหรับมีสตีวียอล แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียดังกล่าว ในภาวะที่มีเอนไซม์จากคืบหนูกระตุ้น

ในปีต่อมา (พ.ศ. 2529) Pezzuto, JM และคณะ ได้ทำการศึกษาคือเกี่ยวกับฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสตีวียอลที่ให้ผลบวกเมื่อทดสอบในสภาวะที่มีเอนไซม์จากคืบหนูกระตุ้น ซึ่งในส่วนนี้คณะวิจัยจึง

คิดว่าเอนไซม์ใน Cytochrome P450 ที่อยู่ในส่วนไมโครโซมของตับหนู น่าจะมีบทบาทในการเปลี่ยน สตีวียอลในรูปที่ไม่แสดงฤทธิ์ (Promutagen) เป็นรูปที่แสดงฤทธิ์ (Ultimate mutagen) โดยเฉพาะการ เปลี่ยนสตีวียอลที่อยู่ในรูป epoxide โดยคณะวิจัยได้ใช้เอนไซม์ epoxide hydrolase ในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะกำจัด Ultimate form ของสารพิษในรูป Epoxide ให้หมดฤทธิ์ได้ แต่ผลการ ทดลองพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในสตีวียอลได้ คณะวิจัยจึงได้วิจารณ์ ผลการทดลองครั้งนี้ว่าสตีวียอลในรูป Ultimate mutagen ไม่ได้เป็น substrate ของเอนไซม์นี้

สำหรับในประเทศไทย ปี ค.ศ. 1988 (พ.ศ. 2531) จิตติมา พิมบัว ได้ศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ของสตีวียอลและสตีวียอลที่ทดสอบในแบคทีเรียชัลโมเนลล่า รัยฟิมิวเรียม TA98, TA100 และ TM677 ซ้ำอีกครั้ง แต่ใช้เอนไซม์จากตับของสัตว์ชนิดต่าง ๆ รวมทั้งจากตับคนด้วย ผลการทดลองพบ ว่า สตีวียอลไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์จาก ตับ แต่ สตีวียอลแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เฉพาะสายพันธุ์ TM677 ซึ่งให้ผลเหมือนกับของ Pezzuto และคณะในปี ค.ศ. 1985

หลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1989 (พ.ศ. 2532) Matsui, M. และคณะ กลุ่มนักวิจัยญี่ปุ่นได้ตั้งข้อ สงเกตว่า ทำไมสตีวียอล จึงแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เฉพาะในระบบ Forward mutation assay เท่านั้น แต่ไม่พบในระบบ Reverse mutation assay (Ames test) ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าสตีวียอลในรูปทำงาน (ultimate steviol) ที่เกิดหลังจากกระตุ้นด้วยเอนไซม์จากตับ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แบบ deletion หรือ insertion ของคู่เบสในดีเอ็นเอมากกว่า 1 คู่เบส จึงทำให้ไม่สามารถตรวจสอบใน Ames test ได้ อย่างไรก็ตามคณะวิจัยได้ศึกษาซ้ำอีก โดยการนำดีเอ็นเอของแบคทีเรีย TM677 มาย่อย ด้วย restriction enzymes หลาย ๆ ชนิด แล้วใช้ยีน gpt จาก E. coli ที่จำเพาะกับยีนที่ควบคุมการสร้าง เอนไซม์ที่ใช้ในการสัง 8-azaguanine เข้าเซลล์เป็นตัวจับ ผลการทดลองพบว่าส่วนที่อนดีเอ็นเอที่ถูก ย่อยในแบคทีเรีย TM677 กลุ่มควบคุม และ TM677 กลุ่มที่เติมสตีวียอลไม่มีความแตกต่างกัน นั้น แสดงว่าสตีวียอลไม่น่าจะมีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย TM677 แต่สาเหตุที่พบว่าสตีวียอล แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย TM677 ยังไม่กระจ่างชัด

จนกระทั่ง ในปี ค.ศ. 1991 (พ.ศ. 2534) Procinska, E. และคณะ เป็นกลุ่มนักวิจัยประเทศ อังกฤษ ได้มีข้อเสนอว่าการนำเสนอของ Pezzuto และคณะในปี ค.ศ. 1985 นั้น มีความผิดพลาดใน การแปลผลค่า mutant fraction จึงทำให้ดูเหมือนว่าค่าเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นสตีวียอล แต่ การทดลองนี้ไม่ได้นำเสนอ % ความอยู่รอดของแบคทีเรีย ซึ่งแปรผกผันกับความเข้มข้นของสตีวียอล มาเกี่ยวข้องในการแปลผล ดังนั้น Procinska, E. และคณะ จึงได้หาค่า Mutant colonies ใหม่ โดยนำ ค่า Mutant fraction มาคูณกับ % ความอยู่รอดของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นค่าที่แท้จริงกว่า ทำให้ผลการ ทดลองของ Pezzuto และคณะที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้น (รายละเอียดอยู่ใน เอกสารหมายเลข 1)

ในปี ค.ศ. 1993 (พ.ศ. 2536) ไมตรี สุทธจิตต์ และคณะ พบว่าสตีวียอลที่ความเข้มข้น 1-20 มิลลิกรัมต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรียสายพันธุ์ TA98 และ 100 ทั้งในสถานะที่มีและไม่มีเอนไซม์ และพบว่าสตีวียอล 0.1-0.2 มิลลิกรัม ไม่ทำให้โครโมโซมจากลิมโฟซัยท์คนแตกหัก

ในปี ค.ศ. 1992 (พ.ศ. 2535) ได้มีรายงานของ Xili, L. และคณะ ที่ทดลองในหนู rat พันธุ์ F344 ทั้งตัวผู้และตัวเมีย โดยให้สตีวียอล (บริสุทธิ์ 85%) ที่ความเข้มข้น 0-1.2% ในอาหารเป็นเวลา 2 ปี พบว่าทุกกลุ่มที่ได้รับสตีวียอล ไม่มีความแตกต่างในด้านน้ำหนักตัว ค่าชีวเคมีในเลือดและปัสสาวะ และอายุขัย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้พบว่าสตีวียอลที่ไม่มีความสัมพันธ์ต่อความเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของหนู

ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 (พ.ศ. 2540) Toyoda, K. และคณะ ได้ทำการทดลองคล้ายกับของ Xili, L. และคณะ แต่ใช้สตีวียอล (บริสุทธิ์ 95.6%) ผสมในอาหารปริมาณ 2.5 และ 5% เป็นเวลา 2 ปี พบว่าน้ำหนักตัวของกลุ่มที่ได้รับสตีวียอลน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย และไม่มีผลต่อการเกิดพยาธิสภาพมะเร็ง (Neoplastic lesion) ในอวัยวะต่าง ๆ นอกจากนี้ยังลดอุบัติการณ์การเกิด mammary adenomas ในหนูเพศเมีย และลดความรุนแรงของ chronic nephropathy ในหนูเพศผู้ ดังนั้นจากการทดลองทั้ง 2 การทดลองอาจสรุปได้ว่าสตีวียอล ไม่ทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลอง

จากผลการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็ง ที่มีการทดลองจากอดีตถึงปัจจุบันเป็นเวลา รวม 20 ปีของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ของมัน มีรายงานที่สำคัญของ Pezzuto และคณะในปี 1985 เท่านั้นที่ให้ผลการทดลองที่ขัดแย้งกับนักวิจัยกลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามการนำเอาผลการทดลองนี้มาเป็นประเด็นสำคัญที่ชี้ให้เห็นถึงพิษของผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวานนั้นเพียงพอแล้วหรือไม่ และต่อมาก็มีนักวิจัยทั้งในกลุ่มอังกฤษและญี่ปุ่น ที่ให้ความสำคัญของการทดลองนี้ และมีการศึกษาค้นคว้าจนพบว่า ผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวานไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย TM677 และในผลการทดลองของ Pezzuto ในปี 1986 เอง อาจเป็นเครื่องช่วยยืนยันความผิดพลาดของกลุ่มวิจัยเอง ในกรณีการศึกษาผลการทำงานเอนไซม์ epoxide hydrolase โดยกลุ่มวิจัยคาดว่าเพื่อใช้เอนไซม์นี้แล้วจะช่วยให้การลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสตีวียอลได้เช่นเดียวกับสารก่อกลายพันธุ์ชื่อ Benzo(a)pyrene แต่ผลการทดลองที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นดังคาด โดยกลุ่มวิจัยวิจารณ์ผลการทดลองว่าอาจเนื่องจากสตีวียอลในรูปก่อกลายพันธุ์ (ultimate steviol) ไม่เป็น substrate ของเอนไซม์นี้ แต่ถ้ามองอีกแง่หนึ่งว่า ถ้าสตีวียอลไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ดังนั้นเอนไซม์นี้จึงไม่ช่วยในการลดฤทธิ์ดังกล่าวได้ แต่ขณะนี้เราทราบว่าความผิดพลาดนั้นอยู่ที่การแปลผลการทดลอง ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้การวิจัยของจิตติมา พิมบัว จึงให้ผลบวกเช่นเดียวกับ Pezzuto และคณะ

อย่างไรก็ตามสารก่อกลายพันธุ์ไม่จำเป็นสารก่อมะเร็งเสมอไป มีเพียง 50-60% ของสารก่อกลายพันธุ์เท่านั้นที่เป็นสารก่อมะเร็ง จากงานวิจัยอื่นๆยังพบว่ามีสารก่อกลายพันธุ์จำนวนมากในพืช

ที่ไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง เช่น Quercetin และเมื่อเร็วๆ นี้มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการให้สตีวิโอไซด์ผสมในอาหารแก่หนู rat เป็นเวลานาน 2 ปี หรือเกือบทั้งอายุขัยไม่ก่อให้เกิดมะเร็งในอวัยวะต่างๆ โดยนักวิจัยชาวจีนและญี่ปุ่นในปี พ.ศ. 2535 และ 2540 จากข้อมูลดังกล่าวเพียงพอในการแสดงถึงความปลอดภัยของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ของมันได้หรือไม่? ถ้าเปรียบเทียบกับผลการทดลองเบื้องต้นในแบคทีเรีย

ขณะนี้นักวิทยาศาสตร์ยังไม่พบพิษร้ายแรงของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์ของมัน ทั้งๆ ที่ความเข้มข้นที่ให้ในสัตว์ทดลองนั้นมีค่อนข้างสูงกว่าปกติวิสัยที่มนุษย์จะนำมาบริโภคในชีวิตประจำวันได้ จึงเป็นจุดหนึ่งที่ควรนำมาพิจารณา และการที่มนุษย์บริโภคสิ่งใดสิ่งหนึ่งจากอาหารหรือยามากเกินไป เช่น การบริโภคสารอาหารประเภทไขมันสัตว์ น้ำมันพืช ก็ยังทำให้อัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านมและลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้น หรือการรับประทานเกลือแกงมากเกินไป จะช่วยส่งเสริมการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารก่อมะเร็งอีกมากมายที่แฝงอยู่ในอาหารที่เรารับประทานกันอยู่ทุกวัน เช่น เกลือไนไตรท์ในแฮม กุนเชียง หมูแฮม เป็นต้น ที่ทำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร หรือสารพิษโรลลีสเทอในปลาเผา เนื้อย่าง ไก่ทอดเกรียมและน้ำมันทอดอาหารที่ใช้หลายๆ ครั้ง ทำให้เกิดมะเร็งทางเดินอาหารและตับ นอกจากนี้ยาคุมกำเนิดพวกเอสโตรเจน ยังก่อให้เกิดมะเร็งเต้านมได้เช่นกัน ถ้าหากเราหรือผู้เกี่ยวข้องรับฟังเพียงข้อมูลเหล่านี้ในแง่ลบโดยขาดการไตร่ตรองด้านดีที่เป็นประโยชน์ก็ต้องทำให้เราคบบริโภคอาหารเหล่านั้นโดยสิ้นเชิงด้วยหรือ

เอกสารอ้างอิง

1. ไมตรี สุทธจิตต์, อัมพวัน อภิสรียะกุล และ รวีวรรณ พัทธนาโชคชัย รายงานการประมวลองค์ความรู้เพื่อเสนอต่อสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย เรื่อง ความปลอดภัยของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์จากหญ้าหวาน ปี พ.ศ. 2538
2. Okumura, M., Fujita, Y., Imamura, M. and Aikawa, K. (1978) studies on the safety of stevioside with rec-assay and reversion test. J. Food Hyg. Soc. Jpn., 19, 486-490.
3. Tama Biochemical Co. Ltd. (1981) Safety of Stevia, Japan, 1-20.
4. Okamoto, H., Yoshida, D., Saito, Y. and Mizusaki, S. (1983) Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis by sweetening agents and related compounds. Cancer Lett. 21: 29-35.
5. Hagiwara, A., Fukushima, S., Kitatori, M., Shibata, M. and Ito, N. (1984) Effects of three sweeteners on rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine (1984) Gann 75, 763-768.

6. Pezzuto, JM., Compadre, CM., Swanson, SM., Nanayakkara, NPD. and Kinghorn, AD. (1985) Metabolically activated steviol, the aglycone of stevioside, is mutagenic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82: 2478-2482.
7. Pezzuto, JM., Nanayakkara, NPD., Compadre, CM., Swanson, SM., Kinghorn, AD., Güenther, TM., Spornins, VL. and Lam, LKT. (1986) Characterization of bacterial mutagenicity mediated by 13-hydroxy-*ent*-kaurenoic acid (steviol) and several structurally-related derivatives and evaluation of potential to induce glutathione S- transferase in mice. *Mutation Res.* 169: 93-103.
8. Pimbua, J. M.Sc. Thesis, Toxicology program, Mahidol University, 1988.
9. Matsui, M., Matsui, K., Nohmi, T., Mizusawa, H. and Ishidate, M. (1989) Mutagenicity of steviol: An analytical approach using the southern blotting system. *Bull. Natl. Inst. Hyg. Sci.* 107: 83-87.
10. Procinska, E., Bridges, BA., and Hanson, JR. (1991) Interpretation of results with the 8- azaguanine resistance system in *Salmonella typhimurium* : no evidence for direct acting mutagenesis by 15-oxosteviol, a possible metabolite of steviol. *Mutagenesis* 6(2): 165-167.
11. Maitree, S., Vinitketkumnien, U., Meevatee, U. and Buddhasukh, D. (1993) Mutagenicity and human chromosomal effect of stevioside, a sweetener from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Environ. Health Persp.* 101(3S) : 53-56.
12. Xili, L., Chengjiany, B., Eryi, X., Reiming, S., Yuengming, W., Haodong, S. and Zhiyian, H. (1992) Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of stevioside in rats. *Food Chem. Toxicol.* 30: 957-965.
13. Toyoda, K., Matsui, H., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M. (1997) Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 35: 597-603.

รูปแบบของหญ้าหวานและผลิตภัณฑ์หญ้าหวาน

ภก.รศ.ดร. จีระเดช มโนสร้อยและภญ.รศ.ดร. อรัญญา มโนสร้อย
ศูนย์วิจัยและพัฒนาวัตถุดิบยา เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
หน่วยวิจัยเครือข่าย “การพัฒนาวัตถุดิบยา สเต็มรอยด์-เกลื้อแกงสำหรับฉีด”
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1. บทนำ

ได้มีการนำหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) มาใช้เป็นสารให้ความหวานเป็นเวลานานแล้ว ชาวพื้นเมืองในประเทศปารากวัยใช้หญ้าหวานขงในรูปของชา “มะเตะ” (Mate) มาเป็นเวลานานกว่า 400 ปี (1) ซึ่งนอกจากจะใช้ในรูปชาแล้วยังใช้ผสมอาหารและเครื่องดื่มอื่นๆ เพื่อเป็นการให้ความหวานอีกด้วย

เนื่องจากสารสำคัญที่เป็นตัวให้ความหวาน คือ stevioside และ rebaudioside มีความหวานมากกว่าน้ำตาลทราย (sucrose) หลายร้อยเท่า (ตารางที่ 1) และไม่ให้พลังงาน ดังนั้น การนำสารหวานสกัดหรือจากใบหญ้าหวานมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ นอกจากจะมีประโยชน์ในแง่โภชนาการเช่น ใช้ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ในด้านการทำผลิตภัณฑ์จะช่วยลดขนาดของผลิตภัณฑ์และขนาดภาชนะบรรจุลงได้มาก ทั้งนี้ เนื่องจากปริมาณสารให้ความหวานที่ใช้จะมีปริมาณน้อยกว่าสารหวาน เช่น น้ำตาลที่ใช้ตามปกติมาก

2. การใช้หญ้าหวานในรูปใบ

ใบหญ้าหวานจะประกอบด้วยสารให้ความหวาน 6-10% ดังนั้น จึงสามารถนำใบของหญ้าหวานมาใช้ได้โดยตรง โดยอาจทำในรูปของชาหรือผสมในอาหาร ในรูปแบบของชาจะใช้ผสมกับสมุนไพร เช่น คำฝอย (safflower) กระเจี๊ยบ (roselle petal) ใบมินท์ (mint) และใบมะขามแขก (senna leaves) (2) นอกจากนี้ยังมีการทำในรูปแบบใบบดละเอียดซึ่งสามารถนำไปใส่ในอาหารและเครื่องดื่มต่าง ๆ ได้โดยตรง

ใบหญ้าหวานอาจทำในรูปของเม็ดเพื่อสะดวกต่อการใช้และการบรรจุโดยแต่ละเม็ดจะมีขนาดและน้ำหนักที่เท่ากัน จีระเดช มโนสร้อย ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตาและคณะ (3) ได้ศึกษาวิธีการทำหญ้าหวานให้อยู่ในรูปเม็ดและแกรนูล ซึ่งผลของการศึกษาวิจัยมีดังนี้

ตารางที่ 1 ความหวานของสารสำคัญในใบหญ้าหวานเปรียบเทียบกับน้ำตาลทราย (sucrose)

สารหวานจากหญ้าหวาน	ความหวานเปรียบเทียบ (จำนวนเท่าของซูโครส)
Steviol	-
Stevioside	250-300
Steviolbioside	100-125
Rebaudioside A	350-450
Rebaudioside B (dulcoside B)	300-350
Rebaudioside C	0-120
Rebaudioside D	200-300
Rebaudioside E	250-300
Dulcoside A	50-120

2.1 การผลิตใบหญ้าหวานเม็ด

ในการผลิตเม็ดจากผงใบหญ้าหวานโดยใช้สารละลายยึดเกาะเป็น 5% polyvinyl pyrrolidone (PVP) แล้วนำแกรนูลที่ได้มาอัดเป็นเม็ดยา นำเม็ดยาที่ได้มาประเมินผลในหัวข้อต่าง ๆ ได้ผลดังนี้

2.1.1 % Yield

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Yield} &= \frac{\text{actual yield}}{\text{theoretical yield}} \times 100 \\
 &= \frac{197}{250} \times 100 \\
 &= 78.8\%
 \end{aligned}$$

2.1.2 ระยะเวลาในการแตกตัวของใบหญ้าหวานเม็ด

จากการทดสอบโดยใช้เครื่องวัดการแตกตัวของเม็ดยาคตาม USP ซึ่งใช้เม็ดยา 6 เม็ด พบว่าระยะเวลาในการแตกตัวหมดของเม็ดยาคือ 53.30 นาที

2.1.3 % ความกร่อนของใบหุ้มหวานเม็ด

โดยใช้ใบหุ้มหวานเม็ด 20 เม็ด หมุนในเครื่องหาความกร่อนแบบ Erweka จำนวน 100 รอบ ได้ค่า % ความกร่อน

$$= \frac{4.1125 - 4.095 \times 100}{4.1125} = 0.43\% \text{ ซึ่งไม่เกิน } 0.5\%$$

2.1.4 ความแข็งของใบหุ้มหวานเม็ด

	ความแข็ง (กก.)
Mean $\pm$ SD	3.93 $\pm$ 0.7226

2.1.5 ความแปรปรวนของน้ำหนักใบหุ้มหวานเม็ด

	ความแข็ง (กก.)
Mean $\pm$ SD	0.2047 $\pm$ 0.0066

น้ำหนักเม็ดยาสูงสุด = 0.2149 ก.

น้ำหนักเม็ดยาค่าสุด = 0.1911 ก.

% ของค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของน้ำหนักใบหุ้มหวานเม็ด (coefficient of variation)

$$= \frac{\text{S.D.}}{\bar{X}} \times 100 = \frac{6.6086 \times 10^{-3}}{0.2047} = 3.23\%$$

2.1.6 ขนาดของใบหุ้มหวานเม็ด

	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ชม)	ความหนา (ชม)
Mean $\pm$ SD	0.82955 $\pm$ 0.0018	0.40877 $\pm$ 0.0075

2.2 การผลิตแกรนูลจากผงใบหุ้มหวาน

นำแกรนูลที่ได้จากการใช้สารยึดเกาะ PVP 5% ซึ่งอบแห้งแล้วมาผ่านร่ง # 20 แล้วรกรับด้วยร่ง # 30 ทั้งแกรนูลที่อยู่บนร่ง # 20 และผ่าน # 30 ไป เอาแกรนูลที่ค้างบนร่ง # 30 มาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้

2.2.1. ถ่านมของการไหล

	ถ่านมที่วัดได้ ^(๑)
Mean $\pm$ SD	30 $\pm$ 1.4142

2.2.2 ถ่านการไหลของแกรนูล :

$$14.80 \text{ กรัม/4 วินาที} = 3.7 \text{ กรัม/วินาที}$$

2.3 สรุปผลการศึกษาวิจัย

2.3.1 การผลิตใบหุ้มหวานเม็ดจากผงใบหุ้มหวาน

จากการใช้สารบีดเกาะ 5% PVP ในการผลิตใบหุ้มหวานเม็ดจากผงใบหุ้มหวาน โดยใช้เครื่องคอกเม็ดแบบ rotary พบว่าใบหุ้มหวานเม็ดที่ได้มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี คือ มีผิวมัน มีความแข็งพอเหมาะ มี % ความกรอบต่ำ แต่มีระยะเวลาในการแตกตัวนาน เนื่องจากไม่มีการใช้สารช่วยในการแตกตัว หรืออาจเนื่องจากการใช้ความเข้มข้นของสารละลายบีดเกาะสูงเกินไป

ดังนั้น ในการพัฒนาดำรับต่อไปอาจลดปริมาณของสารบีดเกาะลง และอาจมีการเปรียบเทียบการใช้สารบีดเกาะชนิดอื่น ๆ เช่น แป้งเปียกและเจลาติน เป็นต้น เพื่อปรับปรุงการแตกตัวและลดต้นทุนในการผลิต

2.3.2 การผลิตแกรนูลจากผงใบหุ้มหวาน

จากการใช้สารบีดเกาะ 5% PVP ในการผลิตแกรนูลจากผงใบหุ้มหวาน พบว่าแกรนูลที่ได้มีคุณสมบัติในการไหลที่ดี คือ มีมุมการไหลประมาณ 30° และอัตราการไหล 3.7 กรัม/วินาที แต่แกรนูลที่ได้จะมีเส้นใยจากก้านของลำต้นหุ้มหวานปนอยู่ทำให้มองดูไม่สวยงาม

ดังนั้น น่าจะใช้ผงจากใบหุ้มหวานล้วน ๆ โดยเด็ดเอาเฉพาะส่วนใบเท่านั้นมาบดเป็นผงและนำมาทำแกรนูลจะได้แกรนูลที่สวยงามกว่า

3. การใช้สารสกัดหยาบและสารสกัดบริสุทธิ์

นิยมนำสารสกัดหยาบและสารสกัดบริสุทธิ์ของหุ้มหวานมาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากสามารถใช้ได้ในปริมาณที่น้อยและมีรสชาติที่ดีกว่า เนื่องจากสารปนเปื้อนต่าง ๆ จะถูกสกัดออกไปซึ่งสารปนเปื้อนเหล่านี้ อาจทำให้เกิดรสชาติที่ไม่ดีได้ ตัวอย่างสารที่ถูกกำจัดออกไป เช่น chlorophyll เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่มีสารสกัดหยาบและสารสกัดบริสุทธิ์ของหุ้มหวานเป็นส่วนประกอบได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2 จีระเดช มโนสร้อย ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา และคณะ (3) ได้ทำการศึกษาการทำให้สารสกัดหยาบของหุ้มหวานให้อยู่ในรูปขี้ผึ้งและแกรนูลเช่นกัน พบว่ามีคุณสมบัติโดยทั่วไปที่ดีกว่าขี้ผึ้งและแกรนูลที่ผลิตจากใบหุ้มหวานชนิดผง การเตรียมสารสกัดหุ้ม

หวานในรูปของเม็ดและแกรนูลนี้น่าจะเป็นวิธีที่สะดวกต่อการใช้และไม่ยุ่งยากในการผลิต ทั้งนี้เพราะการนำใบหญ้าหวานมาทำให้เป็นรูปเม็ดมักมีปัญหาเกี่ยวกับความแข็งของเม็ดหญ้าหวาน ทั้งนี้เนื่องจากใบหญ้าหวานประกอบด้วยเส้นใยเป็นจำนวนมากซึ่งเมื่อทำให้อยู่ในรูปเม็ดแล้วเมื่อเวลาผ่านไปหญ้าหวานเม็ดจะเกิดการคืนตัวทำให้เม็ดแตกหักได้ง่าย จะทำให้เกิดปัญหาในการขนส่งเมื่อเกิดแรงกระแทกจนทำให้เม็ดแตกหักหรือร่วนได้

จิรเดช มโนสร้อย อัมพวัน อภิสริยะกุล พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ และคณะ (4) ได้ทำการศึกษาวิจัยการเตรียมน้ำมะตูม (*Aegle marmelos* Corr.) ที่ประกอบด้วยสารสกัดหยาบหญ้าหวานเป็นสารให้ความหวาน พบว่าได้น้ำมะตูมที่มีรสชาติดีน่ารับประทาน

4. รูปแบบอื่น ๆ ของใบหญ้าหวานและสารสกัด

รูปแบบอื่น ๆ ของการนำสารหวานจากหญ้าหวานมาใช้คือ จะใช้ในรูปแบบของสารสกัดของเหลวเข้มข้นโดยมีวิธีการใช้คือ หยดลงไปในอาหารหรือเครื่องดื่มตามปริมาณที่ต้องการ วิธีการนี้นับว่าเป็นวิธีการที่สะดวกต่อการใช้วิธีหนึ่งแต่ภาชนะบรรจุจะต้องมีอุปกรณ์ในการหยดหรือดวงประกอบมาด้วย

ตารางที่ 2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดหยาบและสารสกัดบริสุทธิ์ของหญ้าหวานเป็นส่วนประกอบ

-
- | | |
|-----|---|
| 1. | ชาสมุนไพรต่าง ๆ เช่น มะตูม (<i>Aegle marmelos</i> Corr.), มินท์และดอกคำฝอย |
| 2. | ผักคอง |
| 3. | น้ำผลไม้ในภาชนะบรรจุกระป๋องหรือขวด |
| 4. | สารสกัดในรูปเม็ดสำหรับใส่ชาและกาแฟ |
| 5. | ซ็อกโกแลตสำเร็จรูป |
| 6. | ชาสำเร็จรูป |
| 7. | กาแฟสำเร็จรูป |
| 8. | หมากฝรั่ง |
| 9. | ขนม เช่น เจลาติน, ทูตคิง, ไอศกรีม, ฝรั่งสด, เค้ก, พาย และลูกกวาด |
| 10. | cereal |
| 11. | ชาสีฟัน |
| 12. | น้ำชาบัวปาก |
| 13. | soy sauce |
| 14. | เครื่องสำอางสำหรับผิวหน้า |
-

5. การนำไปประกอบในตำรับของอาหาร

เนื่องจาก stevioside มีรสชาติที่ไม่ดีคือ มีรสฝาดขมหลังรับประทาน (5) การปรับปรุงรสชาติ อาจทำได้โดยการเตรียมในรูปอัดก๊าศคาร์บอนไดออกไซด์ (น้ำอัดลม) (6) ผสมสารจำพวกเปปไทด์ (7) หรือผสม sodium metaphosphate ลงไป (8) สารอื่น ๆ ที่สามารถใช้ปรับปรุงรสชาติในขั้นตอนการสกัดและการปรับปรุงสารสกัด ได้แก่ lactose, dextrin, phosphate buffer (9) pullulan, alkali alginate, karaya gum, xanthan gum และ tannin (10) ตัวอย่างสูตรตำรับของเครื่องดื่มและอาหารที่มีสารสกัดจากหญ้าหวานเป็นส่วนประกอบได้แสดงไว้ในตารางที่ 3-6 (11)

ในจำนวนสารหวานต่าง ๆ ที่มีในหญ้าหวาน ถึงแม้ว่า stevioside จะมีรสชาติที่ไม่ดีนักแต่อย่างไร rebaudioside A, D, E จะให้รสชาติที่ดีกว่า นอกจากนี้ stevioside เมื่อใช้ปรุงอาหารจะไม่ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีดำหรือคล้ำและยังไม่ได้ทำให้สารปรุงแต่งรสอื่น ๆ เช่น ผงชูรส กลิ่น น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชูและเมนทอล เปลี่ยนแปลงรสแต่จะทำให้รสชาติกลมกล่อมขึ้น

กล่าวโดยสรุป การนำหญ้าหวานและสารหวานสกัดทั้งชนิดสกัดหยาบและสารสกัดบริสุทธิ์มาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สามารถทำได้ในรูปแบบต่าง ๆ กัน ในทางเภสัชกรรมนั้น หากได้รับการอนุญาตให้ใช้ได้ เมื่อนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยาจะทำให้สามารถใช้ยาดังกล่าวกับผู้ป่วยโรคเบาหวานได้

6. เอกสารอ้างอิง

1. Crammer, B. and Ikan, R. (1986) Sweet glycosides from the stevia plant. Chem. Br. Oct : 915-917.
2. กระแส วัชรปานและเวฬุรีย์ ศรีเทพ “ผลการใช้หญ้าหวานในผู้ป่วย, Observations of The Patients Who Consumed Tea of Stevia rebaudiana Leaves” การสัมมนาเรื่องการวิจัยหญ้าหวานครั้งที่ 1, 9-10 พฤษภาคม 2533 หน้า 123
3. จีระเดช มโนสร้อย และคณะ, รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 1 (2540) โครงการวิจัย “การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อการแพทย์แผนไทย” เสนอต่อสถาบันการแพทย์แผนไทย
4. Amphawan Apisariyakul, Supanimit Teekachunhatien, Jiradej Manosroi, Aranya Manosroi, Pimporn Lilapornpisid and Duang Buddhasukh. The Safety Study in Rats of Ma Toom Juice Containing Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) Crude Extract as a Sweetener. The 23rd Science and Technology Congress of Thailand, (1997) Chiang Mai, Thailand.

5. Ishima, N. and Katayama O. Sensory evaluation of stevioside as a sweetener. *Shokuhin_Sogo Kenkyusho Kenkyu Hokoku* 1976 ; 31:80.
6. Fujita, H. and Edahiro, J. Mouth feel improvement of soft drinks with stevia sweetener. Patent : *Japan Kokai Tokyo Koho* 80 13,017:1980.
7. Yamamoto, A. and Ishida K. Stevioside sweetener containing peptides. Patent : *Japan Tokyo Koho* 79 13, 498:1979.
8. Ochi, T. and Shimizu T. Stevia sweetener improvement. Patent : *Japan Kokai Tokyo Koho* 78 148, 575:1978.
9. Ishikawa, H., Kitahata, S., Ohtani, K. and Tanaka, O. (1991) Transfructosylation of Rebaudioside A. (A Sweet Glycoside of Stevia Leaves) with *Microbacterium Fructofuranosidase*. *Chem. Pharm. Bull.* 39(8):2043-2045.
10. Ougontou, K.K. and Morioka, K. (1979) Refining method of taste for natural sweetener. Patent Number 54-2014. Japan.
11. Hideo Fujita and Tomoyoshi Edahiro, "Safety and Utilization of Stevia Sweetener" Ikeda Tohka Ind. Co. Ltd., *Shokuhin Kogyo* 1979, 22(22):65-72 (Eng).

Stevia and Stevia Products in the USA

Floyd W. Dunn, Ph. D.

Abilene, Texas, USA

(Former Professor and Visiting Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiangmai University)

In September, 1995, the US-FDA issued regulations to permit importation of stevia and its products (leaves and extracts) if clearly labeled "as a dietary supplement." Stevia is now found on the shelves of most nutrition and health food stores in the USA, and is offered to the public through numerous mail-order catalogs. Although its property as a sweetener is widely recognized, it cannot be advertised as a sweetener, only as a "dietary supplement" or as a health-care product. It is promoted by some companies as a herb that can improve the skin, aid in wound-healing and be used in dental care. Some companies prefer to sell the whole stevia herb and proclaim its many benefits, while other companies sell the white extract (largely stevioside) and subtly suggest its role as a sugar replacement

Forms of Stevia now available on the US market include :

Dried whole leaves of the stevia plant ,

- . cut leaves of stevia,
- powdered dry leaves of stevia,
- tablets, capsules, "tea bags" of powdered stevia leaf,
- . stevia leaf extracts of varying composition :
 - (1) white powder of about 90-95% stevioside
 - (2) off - white powder of less purity
 - (3) "green" stevia extract, dried
 - (4) "white" stevia liquid (solution)
 - (5) "green" stevia liquid (solution)

Some Products which are labeled as containing stevia include:

- . Herbal teas containing stevia as a component,
- chocolate drink mix (powder),
- coffee (cappuccino) drink mix (powder) with stevia,
- . bottled drinks containing stevia (a "sports" drink and a lemonade), and

packets and small pellets with stevioside and a bulking agent for individual use.

Recent publications about stevia (books) include:

1. Stevia Rebaudiana, Nature's Sweet Secret, David Richard (Blue Heron) Press, Bloomingdale, IL. 60108 (1996)
2. The Stevia Story, a tale of incredible sweetness and intrigue, L Bonvie, B. Bonvie and D. Gates (B.E.D. Publications, atlanta, GA. 30327 (1997)
3. In Press, a book of recipes employing stevia, "Stevia : The miracle no Calorie Sweetener"

Many documents about stevia are available to the public, world wide. on the "world wide web" (internet). Some examples include :

1. Petition to the U.S. Food and Drug administrator from the American herbal products association (AHPA), Oct. 21, 1997, requesting approval of stevia use in foods
[http ://www.tiac.net/users/mgold/sweet/stv-petition.txt](http://www.tiac.net/users/mgold/sweet/stv-petition.txt)
2. Supplement to the petition
3. "Life with stevia : How sweet it is !" by D. Mowrey
[http ://www.health free.com/stev life.htm](http://www.health free.com/stev life.htm)
4. "Stevia, natures natural low calorie sweetener," a report of stevia cultivation in Canada
[http ://res.agr.ca/lond/pmrc/faq.stevia.html#top](http://res.agr.ca/lond/pmrc/faq.stevia.html#top)
5. "Current Status of Stevia," presenting the FDA regulations which permit import of stevia and its extracts if labeled as a dietary supplement.
[http ://www.tiac.net.users/mgold/sweet/stv-alert.txt](http://www.tiac.net.users/mgold/sweet/stv-alert.txt)
6. "Sinfully sweet?", a review, 1996.
[http :// newage. com/journal/wf.wfll.html](http://newage.com/journal/wf.wfll.html)

Numerous other web sites present the story of stevia and offer it to the public.

Some of the leaders for importing and marketing of stevia in the USA include:

Jim May, President, Wisdom of the Ancients Tempe, AZ.

Donna Gates, President, Body Ecology, Atlanta, GA
(Gates expressed interest in obtaining samples of stevia
products from Thailand. Her source now is China.)

Linda Saddler, President, Traditional Medicinal, Sebastopol, CA.

Rob Mc Caleb, President, Herb Research Foundation, Boulder, CO.

Christopher Hobbs, President Botanica Press, Santa Cruz, CA.

Oscar Rodes, Stevita Co., Arlington, TX

Steve Marsden, President, Herbal Advantage, Rogersville, MO

Kay Wright, President, Celestial Seasonings , Boulder, CO
(member of board of AHPA)

Academic research-oriented leaders in the study of stevia in the US include :

Dr. Ryan Huxtable, U.AZ, College of Medicine, Dept. Pharmacology, Tucson.

Dr.Douglas Kinghorn, U. ILL, Chicago, Dept. of Pharmacognasy

Some catalog listings and prices (US\$) illustrate the nature of the stevia market in the USA.

Empowernet :

Liquid stevia concentrate, 60 ml., \$17.95

Stevia leaf beverage, 40 individual bags. \$11.95

Combination Stevia leaf and Jiao in bags, \$19.95

Allergy Resources :

Stevia Herb, 2 oz., 100% green leaf powder, \$5.00

Stevia liquid extract, 2 oz. \$ 11.00

Stevia white powder, 1 oz \$ 11.00

Botanic Choice

Stevia powder, green , 2 oz ,\$ 5.95

Stevia leaf extract, white, 1 oz, \$7.95

Now Natural Foods

Stevia Rebaudiana green powder, 2 oz., \$2.95

Stevia extract, white powder , 1 oz., \$7.95

Stevia liquid extract, 2 oz ,\$9.95

Health Co (Wholesale, bulk quantities)

Stevia liquid extract, \$21.13/lb (200 lb. minimum)

Stevia extract powder, \$95/kg (25 kg. minimum)

Stevia herb, \$9.95/kg (100 kg.minimum)

Herbal advantage, Inc.

Stevia leaf, cut, 1/4 lb. \$ 3.75

Stevia leaf powder 1/4 lb. \$4.72

Stevia leaf whole 1/4 lb.\$3.16

Stevia white 90% extract powder

1/4 lb. \$ 27

Wisdom of the ages

Stevia tea bags, 80 bags, \$ 18.00

Stevia extract, 60 ml. \$16.00

It is not my intent to promote any of these companies or individual products, but I cite these examples to let you get a feel for the large stevia market in the US. The various forms of stevia and stevia products which are on display were obtained from retail outlets in my home or through mailorder sources. Some were sent to me as samples. Several of the stevia leaders with whom I spoke expressed interest in Thailand's potential as a producer of stevia, as well as other herbal products for which Thailand is well known.

The large number and variety of products shown here is evidence of the wide interest in stevia being shown by the American public. Even though the ban on stevia imports was lifted only two years ago by the US-FDA, the desire for stevia has grown rapidly. Leaders in the market speak optimistically about the demand for stevia and its products.

I personally became interested in stevia several years ago when Dr. Maitree Suttajit took me to visit the stevia farm and extraction facility in Chiang Mai. At that time I received some packages of herbal teas containing stevia, which I and my family enjoyed. Upon my last visit there, a few months ago, I was disappointed to learn that I was not allowed to buy stevia-containing tea in Thailand. In the meantime, circumstances had changed. Now I can buy teas containing stevia from the market in the US. I have enjoyed my experiences with stevia, and I have used it not only in teas but also in bakery products and other food preparations. We now have available many recipes for food preparation with stevia as a sweetening agent or flavor enhancer. Although called "nature's sweet secret", stevia is not a secret anymore; its fame is growing and its value is being recognized.

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ของสารสตีวิโอไซด์จากหญ้าหวาน (STEVIA)

A PHARMACOLOGICAL STUDY OF STEVIOSIDE FROM STEVIA (*Stevia Rebaudiana* Bertoni)

อัมพวัน อภิสริยะกุล และคณะ

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002

Amphawan Apisariyakul et al.

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand 50002

บทคัดย่อ

สารสตีวิโอไซด์ (Stevioside) เป็นสารหวานซึ่งแยกสกัดได้จากหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) อยู่ในวงศ์ Compositae) สารหวานนี้อยู่ในกลุ่ม ไดเทอร์ปีน-ไกลโคไซด์ (di-terpene glycoside) มีรสหวานมาก แต่ไม่ให้แคลอรีและพลังงานต่อร่างกาย

ได้มีการนำสารที่สกัดได้จากหญ้าหวานมาใช้ในรูปแบบต่างๆ เพื่อใช้แทนน้ำตาล ก่อนที่จะนำสารหวานมาใช้ในการบริโภค ดังนั้น ควรศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารหวานสตีวิโอไซด์ในระบบต่างๆ ของร่างกายของสัตว์ทดลอง (Preclinical Study) ได้ศึกษาผลของสารสตีวิโอไซด์ในความเข้มข้นและขนาดต่างๆ ในสัตว์ทดลองหลายชนิด ได้ให้ทางปาก(gastric oral tube) ในระยะเวลา 2 - 8 เดือน ได้ทำการสังเกตอาการ และศึกษาพฤติกรรมอย่างสม่ำเสมอ เมื่อครบกำหนดเวลาที่ต้องการศึกษา ได้ทำการตรวจดูอวัยวะภายในและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ได้ทำการทดลองโดยศึกษาผลต่อระบบเลือดในร่างกาย หลังจากได้รับสารหวานนี้ด้วย

นอกจากนี้ได้ศึกษาสารสตีวิโอไซด์ในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาผลการทำงานของสตีวิโอไซด์ในขนาดต่ำ (low dose) สารหวานสตีวิโอไซด์ไม่มีผลต่อขั้นตอนการทำงานของร่างกายในสัตว์ทดลอง

ABSTRACT

Stevioside is a natural sweet diterpene glycoside isolated from *Stevia rebaudiana* (Family Compositae) and it is non nutritive sweetener. Before a sweetener will be used world- wide, stevioside itself and its metabolites must be non toxic and devoid of side effects. Thus the purpose of this study is pharmacological screening of this stevioside in different experimental animals.

Stevioside in a wide ranges of doses were given to different kinds of animals by oral route of administration in order to study

1) Behavioral activity in whole animals, 2) macroscopic and microscopic examination of visceral organs and tissues in short and long-term period of time.

Hematological study of stevioside in rabbit was also investigated.

Both *in vitro* and *in vivo* studies of stevioside on organ systems in experimental animals will be also studied.