

สารหวานสตีวิโอไซด์ (Stevioside) เป็นสารหวานที่มีรสชาดใกล้เคียงกับน้ำตาลซูโครส (sucrose) มากที่สุดแต่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสประมาณ 200-300 เท่า พบว่าเป็นส่วนประกอบหลักของหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) สารหวานสตีวิโอไซด์นี้ได้มีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารในการทำให้เกิดรสชาติเป็นเวลานานแล้ว การศึกษาถึงความปลอดภัยของสารหวานสตีวิโอไซด์นั้นได้มีการศึกษากันมาบ้างแล้วในสัตว์ทดลอง แต่ผลสรุปถึงความปลอดภัยในการที่จะนำสารหวานสตีวิโอไซด์มาใช้ในคนนั้นยังเป็นที่สงสัยว่าจะมีความปลอดภัยหรือไม่ เนื่องจากว่าสารหวานสตีวิโอไซด์จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารสตีวียอล (steviol) โดยเอนไซม์จากแบคทีเรียในบริเวณลำไส้ใหญ่ของหนูพุกขาว และมีรายงานการวิจัยออกมาว่า สารสตีวียอลนี้สามารถมีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ได้กับแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (TM 677) ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาความปลอดภัยของสารสตีวียอลด้วย การที่จะศึกษาถึงความปลอดภัยในการใช้สารหวานสตีวิโอไซด์และสารสตีวียอลนั้นจำเป็นที่จะต้องใช้สัตว์ทดลองต่างๆที่ง่ายต่อการเกิดพิษจากสารหวานสตีวิโอไซด์มากที่สุดโดยพบว่าหนูแฮมสเตอร์จะตอบสนองต่อการเกิดพิษจากสารหวานสตีวิโอไซด์และสารสตีวียอลได้ดีกว่าสัตว์ทดลองชนิดอื่น

การศึกษาศักยภาพในการย่อยสารหวานสตีวิโอไซด์โดยเอนไซม์ต่างๆจากทางเดินอาหาร นำเอนไซม์จากแหล่งต่างๆภายในทางเดินอาหาร เช่น น้ำลาย เอนไซม์เอมิเลสจากน้ำลายเปปซิน น้ำย่อยอาหารจากกระเพาะอาหารของคน เอนไซม์รวมจากตับอ่อน เอนไซม์เอมิเลสจากตับอ่อน และ เอนไซม์จากผนังบริสทอร์เคอร์ของเซลล์ดูซึมของหนูพุกขาว หนูถีบจักรและหนูแฮมสเตอร์ มาทำปฏิกิริยากับสารหวานสตีวิโอไซด์ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ผลการทดลองพบว่าเอนไซม์จากทางเดินอาหารดังกล่าวไม่สามารถที่จะทำการย่อยสารหวานสตีวิโอไซด์ได้ นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาถึงความสามารถของเอนไซม์จากแบคทีเรียภายในลำไส้ใหญ่(ซีคัม)ของหนูพุกขาว หนูถีบจักร และหนูแฮมสเตอร์รวมทั้งจากอุจจาระของคนพบว่าเอนไซม์จากแบคทีเรียจากลำไส้ใหญ่ของสัตว์ทดลองและจากอุจจาระของคนสามารถทำการย่อยหรือเปลี่ยนสารหวานสตีวิโอไซด์ได้เป็นสารสตีวียอลเกือบทั้งหมด

การศึกษาศักยภาพการเปลี่ยนแปลงสารหวานสตีวิโอไซด์ในสัตว์ทดลอง ทำการให้สารหวานสตีวิโอไซด์ในขนาดปริมาณ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าไปทางปากในหนูแฮมสเตอร์หลังจากนั้นทำการเก็บเลือดที่ระยะเวลาต่างๆ (0-120 ชั่วโมง) เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารหวานสตีวิโอไซด์และสารสเตวียอไบโกล์ต่างๆในพลาสมา การทดลองพบว่าหลังจากให้สารหวานสตีวิโอ

## T 132802

ไอโซด์เข้าไปแล้ว ภายในระยะเวลา 1-3 ชั่วโมงมีการตรวจพบปริมาณของสารหวานสติวไอโซด์ในปริมาณสูงในพลาสมาและนอกจากนี้ยังตรวจพบว่ามีสารเมตาโบไลต์ต่างๆเช่น สตีวียอล ไสโครกซีสตีวียอลและไอโซสตีวียอล เป็นต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการดูดซึมสารหวานสติวไอโซด์จากทางเดินอาหารเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ทดลองได้และมีการเปลี่ยนแปลงสารหวานสติวไอโซด์ให้กลายเป็นสารเมตาโบไลต์ต่างๆโดยอวัยวะภายในร่างกาย ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงหลังจากให้สารหวานสติวไอโซด์เข้าสู่ร่างกายมีการตรวจพบสารเมตาโบไลต์ในปริมาณที่น้อยในพลาสมาและไม่สามารถตรวจพบสารเมตาโบไลต์ของสารหวานสติวไอโซด์ในพลาสมาหลังจากให้เข้าไปแล้ว 120 ชั่วโมง

สำหรับการกระจายตัวของสารหวานสติวไอโซด์ในเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายสัตว์ทดลองนั้นพบว่าหลังจากให้สารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าไปทางปากในหนูแฮมสเตอร์ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง(เป็นระยะเวลาที่พบว่ามีปริมาณรวมของสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ในพลาสมาสูงสุด) จะมีการกระจายตัวของสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ในเนื้อเยื่อต่างๆ จากการวัดปริมาณรวมของสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ (known metabolites) ในเนื้อเยื่อต่างๆเมื่อเทียบกับปริมาณของสารหวานที่ให้เข้าไปพบว่าจะมีการเรียงลำดับดังนี้คือ ตับ ไต สมองและจะมีปริมาณลดลงไปในเนื้อเยื่อต่างๆ ปริมาณของสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ที่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆนั้นจะมีปริมาณ 9.71% ของปริมาณสารหวานสติวไอโซด์ที่ให้เข้าไป

สำหรับความสามารถในการขับสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ออกจากร่างกายของสัตว์ทดลองนั้นพบว่าหลังจากให้สารหวานสติวไอโซด์ในขนาดปริมาณ 1000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าไปทางปากในหนูแฮมสเตอร์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงนั้นร่างกายของสัตว์ทดลองจะทำการขับสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ออกจากร่างกายในปริมาณมากทั้งในปัสสาวะและอุจจาระเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นหลังจากให้สารหวานเข้าไป นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารหวานในรูปของสติวไอโซด์ออกไปกับปัสสาวะด้วย สำหรับปริมาณการขับสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ออกจากร่างกายของหนูแฮมสเตอร์จะมีการขับออกทางอุจจาระมากกว่าทางปัสสาวะ ภายหลังจากให้สารหวานสติวไอโซด์เข้าไปแล้ว 5 วันไม่สามารถตรวจพบสารหวานสติวไอโซด์และสารเมตาโบไลต์ในอุจจาระและไม่สามารถตรวจพบในปัสสาวะหลังจากให้สารหวานเข้าไปแล้ว 7 วัน

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสารหวานสติวไอโซด์โดยอวัยวะต่างๆ (in vitro) พบว่าตับเป็นเนื้อเยื่อที่ทำการเปลี่ยนแปลงสติวไอโซด์มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไตและลำไส้เล็ก และสารเมตาโบไลต์สำคัญที่ถูกสร้างขึ้นโดยอวัยวะต่างๆเหล่านี้คือ 15-อัลฟาไฮดรอกซีสตีวียอล ดังนั้นจากการศึกษาพบว่าสารหวานสติวไอโซด์ที่รับประทานเข้าไปจะถูกเมตาโบไลต์โดยเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกายโดยเฉพาะตับและจะถูกขับออกจากร่างกายในอัตราที่ค่อนข้างเร็ว

## Abstract

TE 132802

Stevioside is a major sweet constituent from *Stevia rebaudiana*. It is one of the most important natural sweeteners which has been used for many years to sweeten a variety of foods including sea foods, pickled vegetables, dessert items, soft drinks and confectionary. However, safety evaluation for human consumption is questionable when steviol, aglycone of stevioside is reported to be mutagenic towards *S. typhimurium* (TM 677) in the presence of S-9 fraction from liver of the rat. Although, no mutagenicity of stevioside and crude extracts was detected against *S. typhimurium*, *E. coli* and *B. subtilis* and no significant acute, subacute and chronic toxicity in mice and rats was observed. Stevioside was found to be degraded to steviol by rat intestinal microflora *in vitro* and steviol was almost totally absorbed from large intestine. Therefore, the most effective approach to investigate the toxicological evaluation of stevioside and steviol is the use of most susceptible animal species such as hamster.

*In vitro* digestibility of stevioside by various digestive enzymes was investigated. Stevioside was incubated with salivary  $\alpha$ -amylase and pancreatic  $\alpha$ -amylase, saliva, pepsin, gastric secretion, pancreatin, intestinal brush border membrane enzymes of mice, rats and hamsters as well as intestinal microflora of mice, rats, hamsters and human. None of these enzymes digests stevioside except the microflora of the rat and hamster cecal contents which hydrolyzes it to steviol, and the microflora of mouse cecal content and human fecal content which hydrolyzes it to both steviol and steviol-16,17-epoxide. Steviol-16,17-epoxide was then completely converted back into steviol. These results suggest that steviol might be the only metabolite produced by the intestinal microflora from various animal species and human.

The pharmacokinetic study of stevioside was studied in hamsters. The disposition of stevioside and its metabolites in blood at various time intervals (0-120 hours) after fed with 1000 mg/kg BW was determined. The plasma level of stevioside was high after fed with stevioside in between 1-3 hours. During this period, the level of plasma steviol, hydroxysteviol and isosteviol was also detected. At 90 hours after stevioside treatment, the level of stevioside metabolites in plasma was detected in a very small amount. These results suggest that stevioside can be absorbed to the circulation and distributes throughout the body and then it might be metabolized by various organs in the body. The tissue distribution of stevioside and its metabolites was also determined at 3 hours

TE 132802

after stevioside treatment (peak blood level). The total amount of stevioside and its metabolites in liver was highest. Stevioside and its metabolites that found in various tissues at peak blood level was 9.71% of dose. In addition, the excretory rate in urine and feces of stevioside and its metabolites will be determined along with the metabolic patterns. At 24 hours after stevioside treatment, stevioside and its metabolites were excreted in a large amount both in urine and feces. Stevioside can be excreted in the urine. The total amount of excreted stevioside and its metabolite was excreted in feces higher than in urine. Stevioside and its metabolites could not detected in feces and urine after fed with stevioside 5 days and 7 days respectively. The highest in vitro metabolizer of stevioside was liver when compared with kidney and small intestine. The principal in vitro metabolite produced by each these tissues was 15 $\alpha$ -hydroxysteviol. Therefore, the results of these studies suggested that the ingested stevioside was mostly metabolized and was eliminated from the body at a high rate.