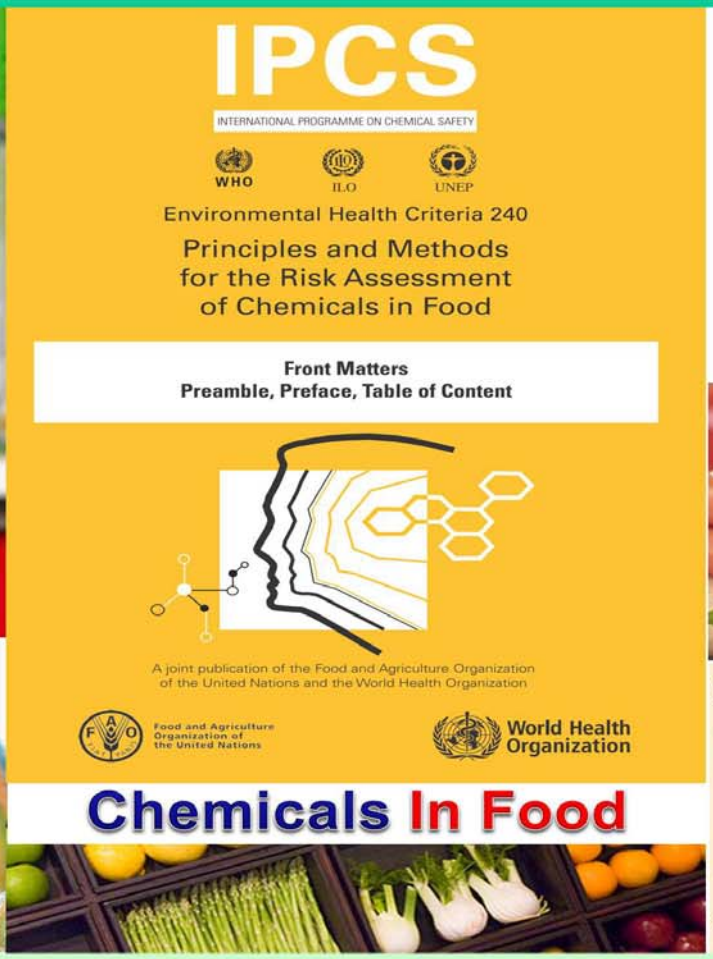
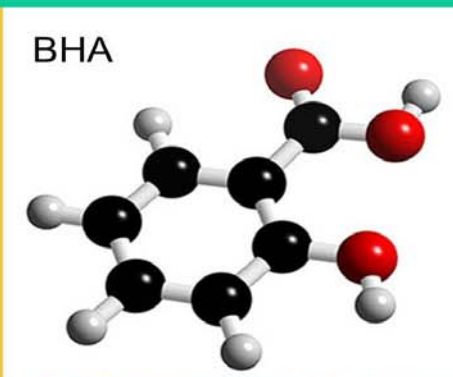
หลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัย สำหรับวัตถุเจือปนอาหาร

ตามแนวปฏิบัติ การประเมินความปลอดภัยสารเคมีของโคเด็กซ์

Environmental Health Criteria 240 Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food





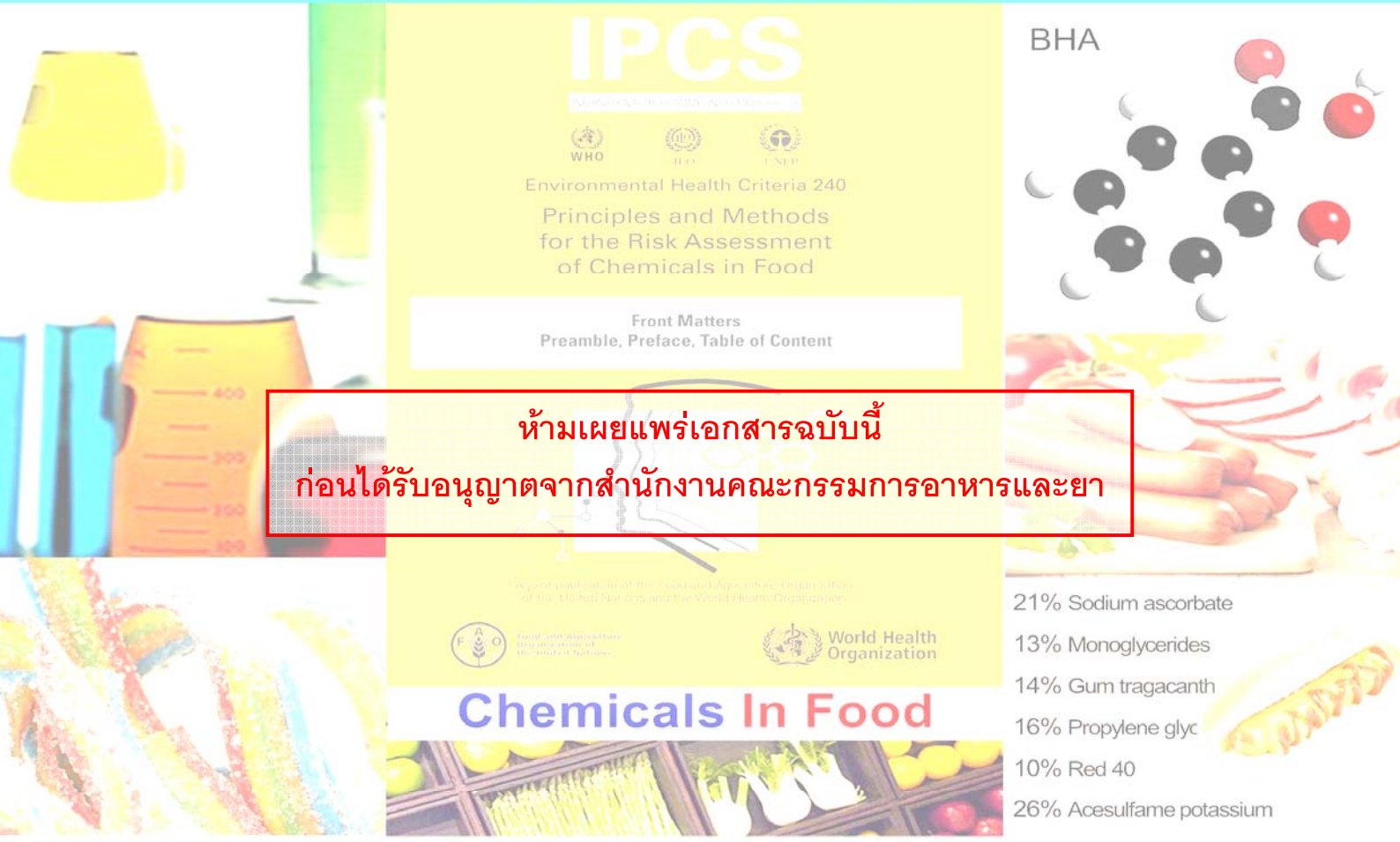
สำนักอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

หลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัย สำหรับวัตถุเจือปนอาหาร

ตามแนวปฏิบัติ การประเมินความปลอดภัยสารเคมีของโคเด็กซ์

Environmental Health Criteria 240

Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food



ห้ามเผยแพร่เอกสารฉบับนี้
ก่อนได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

สำนักอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

คำนำ

จากสถานการณ์การผลิตอาหารของประเทศไทย การนำวัตถุเจือปนอาหารมาใช้ในกระบวนการผลิตแพร่หลายเพิ่มมากขึ้น วัตถุประสงค์เพื่อให้อาหารมีคุณลักษณะหรือคุณสมบัติตรงตามความต้องการของผู้ผลิตและเพื่อสร้างความพึงพอใจให้แก่ผู้บริโภค อย่างไรก็ตามการใช้วัตถุเจือปนอาหารอย่างถูกต้องเหมาะสมเป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเป็นอย่างมาก เนื่องจากผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่จะได้รับอันตรายจากสารเคมีเหล่านั้นค่อนข้างสูง หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหารอย่างไม่ถูกต้องและเหมาะสม

ปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ.2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร เพื่อเป็นการควบคุมการใช้วัตถุเจือปนอาหารชนิดต่างๆให้ใช้อย่างถูกต้องเหมาะสม ทั้งยังเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับความปลอดภัยภายใต้เงื่อนไขของประกาศที่อ้างอิง (Environmental Health Criteria 70: Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food) ซึ่งเป็นหลักเกณฑ์ในเรื่องของกระบวนการทดสอบ วิธีตรวจวิเคราะห์ รวมถึงการประเมินความปลอดภัยและข้อมูลการปฏิบัติสำหรับวัตถุเจือปนอาหารและสารปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งใน ปี ค.ศ. 2009 The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ได้จัดทำหลักเกณฑ์เกี่ยวกับการประเมินความปลอดภัยของสารเคมีฉบับใหม่ (Environmental Health Criteria 240: Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food) ดังนั้นเพื่อให้หลักเกณฑ์ในการประเมินนั้นมีความทันสมัยตามมาตรฐานสากล สำนักอาหารจึงได้ดำเนินโครงการจัดทำเอกสารวิชาการ เรื่อง สรุปหลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัยสำหรับวัตถุเจือปนอาหารตามแนวปฏิบัติการประเมินความปลอดภัยสารเคมีของโคเด็กซ์ (Environmental Health Criteria 240: Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food) ซึ่งประกอบไปด้วยเนื้อหาที่ได้กล่าวถึงเกณฑ์การประเมินความปลอดภัยของสารเคมี อันได้แก่ วัตถุเจือปนอาหาร สารพิษตกค้างจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร ยาสัตว์ตกค้าง และสารปนเปื้อน โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจะได้นำรายงานฉบับดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการจัดทำหลักเกณฑ์และแนวทางการปฏิบัติที่ชัดเจนในการขออนุญาตใช้วัตถุเจือปนอาหารตามข้อ 4(3) ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ. 2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร สำหรับเจ้าหน้าที่และผู้ประกอบการต่อไป เอกสารฉบับนี้จะมีเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับหลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัยสำหรับวัตถุเจือปนอาหารเพียงเท่านั้น สำหรับข้อมูลในส่วนอื่น เช่น สารพิษตกค้างจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร ยาสัตว์ตกค้าง และสารปนเปื้อน อยู่ระหว่างดำเนินการศึกษารวบรวมข้อมูลในขณะนี้ เนื่องจากมีความจำเป็นที่จะต้องปรับปรุงหลักเกณฑ์สำหรับสารเคมีอื่นร่วมด้วย โดยจะมีการดำเนินการในขั้นตอนลำดับต่อไป

ในการจัดทำเอกสารฉบับนี้จะไม่สามารถสำเร็จลงได้ หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. ชนิพรรณ บุตรยี่ และนางสาวชฎามาศ พรหมคำ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งเป็นคณะผู้ดำเนินการจัดทำเอกสารฉบับสมบูรณ์ รวมถึงการสนับสนุนจากผู้เกี่ยวข้อง ดังนั้นในโอกาสนี้จึงขอแสดงความขอบคุณคณะที่ปรึกษา นพ.พิพัฒน์ ยิ่งเสรี เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยา, นพ.นรังสันต์ พีรกิจ รองเลขาธิการ, ภญ.ศรีนวล กรกชกร รองเลขาธิการสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ดร.ทิพย์วรรณ ปริญญาศิริ ผู้อำนวยการสำนักอาหาร และ ดร.ชนินทร์ เจริญพงศ์ ที่ปรึกษาสำนักอาหารที่ให้การสนับสนุนในการจัดทำเอกสารฉบับนี้ให้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

สำนักอาหาร

2555

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	บทนำ (Introduction)	1
บทที่ 2	การอธิบายลักษณะของสารเคมี วิธีวิเคราะห์ และข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (Chemical characterization, analytical method and specifications)	5
บทที่ 3	การแสดงถึงความเป็นอันตราย (Hazard identification) และ การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) ในการศึกษาทางพิษวิทยาและการศึกษาในมนุษย์	11
	3.1 ขอบเขตและการเลือกวิธีทดสอบ (Scope and choice of test methods)	11
	3.2 การดูดซึม การกระจายตัว เมตาบอลิซึม และการขับออกรวมถึงสิ่งที่เหลืออยู่ที่ควรคำนึงถึงในด้านพิษวิทยา (Absorption, distribution, metabolism and excretion including residues of toxicological concern)	11
	3.3 ความเป็นพิษต่อระบบทั่วๆไปในร่างกาย (General systemic toxicity)	17
	3.4 ความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)	23
	3.5 ความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity)	24
	3.6 การก่อมะเร็ง (Carcinogenicity)	30
	3.7 ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และการพัฒนาการของร่างกาย (Reproductive and developmental toxicity)	32
	3.8 ความเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxicity)	36
	3.9 พิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunotoxicity)	41
	3.10 การแพ้อาหารและภาวะภูมิไวเกินต่ออาหาร (Food allergy and other food hypersensitivities)	43
	3.11 หลักการในการศึกษาในมนุษย์โดยทั่วไป (General principles of studies in humans)	49
	3.12 ผลกระทบต่อจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut flora)	58

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 4	การกำหนดค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (Acceptable daily intake: ADI)	63
	ก. ค่าของขนาดสูงสุดที่ให้แก่สัตว์ทดลองแล้วไม่สังเกตพบความผิดปกติ (No-observed-adverse-effect level: NOAEL)	63
	ข. องค์ประกอบความปลอดภัย (Safety factor) หรือ ค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty factor: UF)	64
	ค. ค่าที่ปลอดภัยในการรับประทานต่อวันโดยไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ (Acceptable daily intake: ADI)	66
บทที่ 5	การประเมินการได้รับสัมผัสจากสารเคมีในอาหาร (Dietary exposure assessment of chemicals in food)	69
	5.1 Screening method	70
	5.2 Point estimates method	74
	5.3 วิธีอื่นๆของ Point estimates โดยใช้ model diets	76
	5.4 วิธีพิเศษที่ออกแบบมาเพื่อตอบคำถามที่เฉพาะ	77
	5.5 การประเมินการได้รับสัมผัสแบบ Refine	78
	5.6 ข้อพิจารณาการเลือกใช้วิธีประเมินการได้รับสัมผัสกรณีการสัมผัสแบบเฉียบพลันหรือสัมผัสต่อเนื่องเป็นเวลานาน	81
บทที่ 6	การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization)	83
	6.1 การวิเคราะห์ค่าความไม่แน่นอน ค่าความแปรปรวน และความไว (Uncertainty, variability and sensitivity analysis)	84
	6.2 การได้รับสัมผัสร่วมจากวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสม (Combined exposure to mixture substances)	84
	6.3 สารพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและสารก่อมะเร็ง (Genotoxic and carcinogenic substances)	85

สารบัญ

หน้า

บทที่ 7 ข้อพิจารณาพิเศษสำหรับกลุ่มสารที่เฉพาะ 87
(Special consideration for specific groups of substances)

7.1 สารกลุ่มที่บริโภคปริมาณน้อย (Substances consumed in small amounts): สารแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents) สารช่วยในกระบวนการผลิต (Processing aids) 89

7.2 สารอาหารและสารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมาก (Substances consumed in large amounts): สารทดแทนความหวาน (Bulk sweeteners) และส่วนผสมในอาหารดัดแปร (Modified food ingredients) 95

7.3 สารจากภาชนะบรรจุอาหาร (Substances from food contact materials) 99

7.4 อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (Novel foods) และอาหารมีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses) 101

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Assay for genetic toxicology) 25

ตารางที่ 2 หลักการของวิธีการศึกษาในมนุษย์ที่กำหนดโดย JECFA และ JMPR 53

ตารางที่ 3 การบริโภคอาหารและปริมาณที่ใช้ในการคำนวณค่า TAMDI 54

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 การจัดประเภทการแพ้อาหารที่มีสาเหตุจากภูมิคุ้มกันและที่ไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันตาม the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Nomenclature Task Force (ปรับปรุงจาก Johansson *et al*., 2001) 44

รูปที่ 2 การจัดประเภทภาวะภูมิไวเกินต่ออาหารที่มีสาเหตุจากภูมิคุ้มกันและที่ไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน (ปรับปรุงจาก Sampson, 1999) 44

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 3	การกระจายความถี่ของการได้รับสัมผัส	79
รูปที่ 4	การกระจายข้อมูลความน่าจะเป็นแบบ continuous probability	79
รูปที่ 5	Decision tree ของ Kroes *et al.* (2004) เพื่อประยุกต์การนำค่า TTC ไปใช้	88
รูปที่ 6	ขั้นตอนประเมินความปลอดภัยของสารแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents) ที่ได้รับการรับรองโดย JECFA	91
รูปที่ 7	แผนภูมิการพิจารณาอาหารที่มีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses) เพื่ออธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization) ของอาหารโดยรวม (ปรับปรุงจาก Renwick *et al*., 2003)	103

ภาคผนวก

บรรณานุกรม

บทที่ 1 บทนำ (Introduction)

The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ร่วมกับ the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) ได้ใช้หลักการเดียวกันในการประเมินความเสี่ยงของสารเคมี เพื่อเป็นการสนองตอบตามข้อแนะนำของ JECFA และ JMPR ในปี ค.ศ. 1980 หน่วยงาน International Programme on Chemical Safety (IPCS) ได้ให้การสนับสนุนในการจัดทำ Environmental Health Criteria (EHC) ซึ่งเป็นบทความที่เกี่ยวกับหลักการประเมินความปลอดภัยของวัตถุเจือปนอาหาร (Food additives) และสารปนเปื้อนในอาหาร (Food contaminants) เรียกว่า EHC 70 และหลักการประเมินความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในอาหารเรียกว่า EHC 104 และทั้ง JECFA และ JMPR ได้นำข้อกำหนดในบทความทั้งสองเป็นแนวทางในการประเมินความเสี่ยงของสารเคมีในอาหารตลอดมาจนปัจจุบัน แต่เนื่องจากมีข้อมูลการวิเคราะห์สารเคมีใหม่ๆ ข้อมูลทางพิษวิทยา การประเมินการได้รับสัมผัสสารเคมีจากอาหาร และการประเมินความเสี่ยงสารเคมีจากอาหาร ดังนั้นทั้ง FAO และ WHO จึงมีแนวทางร่วมกันในการนำหลักการและวิธีการประเมินความเสี่ยงให้เป็นแนวทางเดียวกันทั้งสารเจือปนอาหาร สารปนเปื้อนในอาหาร สารพิษในธรรมชาติและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างจึงเป็นผลให้มีการจัดทำ EHC 240 ขึ้นมาซึ่งมีวัตถุประสงค์ 2 ประการคือ

1) เพื่อให้ JECFA และ JMPR ได้ข้อมูลในเชิงพรรณนาที่จะใช้เป็นแนวทางปฏิบัติภายใต้การสนับสนุนข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญในการประเมินความเสี่ยงของสารเคมีในอาหารเพื่อให้แน่ใจว่าข้อมูลที่ได้นั้นมีความโปร่งใสอย่างต่อเนื่อง
2) เพื่อเป็นข้อมูลความรู้ที่เป็นวิทยาการใหม่ๆสำหรับผู้ใช้ เช่น ผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) และองค์กรที่มีหน้าที่และรับผิดชอบในการเป็นผู้จัดการความเสี่ยง

การวิเคราะห์ความเสี่ยง (Risk analysis) ประกอบด้วยองค์ประกอบ 3 ประการคือ

1. <u>การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)</u> เป็นการรวบรวมข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อนำมาใช้ตัดสินดำเนินการในการจัดการความเสี่ยง (Risk management) เพื่อปกป้องสุขภาพของประชาชน โดยจะต้องนำค่าความไม่แน่นอนของข้อมูล (Uncertainty factor) ที่ได้มาพิจารณาร่วมด้วย การประเมินความเสี่ยงยังสามารถแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ

1.1 การแสดงถึงความเป็นอันตราย (Hazard identification)

1.2 การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) รวม dose response assessment

1.3 การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment)

1.4 การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization)

2. <u>การจัดการความเสี่ยง (Risk management)</u> เป็นการนำข้อมูลจากการประเมินความเสี่ยงของสารเคมีในอาหารที่ถูกแนะนำโดย JECFA และ JMPR มาใช้จัดการความเสี่ยงโดยผู้ดำเนินการคือ the Codex Alimentarius Commission (CAC) ขององค์กรระหว่างประเทศและผู้แทนของประเทศนั้นๆ ในขณะที่ JECFA และ JMPR จะกำหนดข้อมูลความเสี่ยงภายใต้ข้อมูลที่มีการสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์เท่านั้น โดย CAC ทำหน้าที่เป็นผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) เพื่อตัดสินในการกำหนดค่าสูงสุด ที่ยอมให้มีหรือตกค้างอยู่ได้ของสารเจือปนอาหาร สารปนเปื้อนในอาหาร สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และยาสัตว์ตกค้างและให้การรับรองวิธีการหาปริมาณสารที่มีหรือปนเปื้อนในอาหาร
3. <u>การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication)</u> เป็นการแลกเปลี่ยนข้อมูลข่าวสารความเสี่ยงด้านสุขภาพหรือสิ่งแวดล้อมระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยง สื่อมวลชน กลุ่มผู้สนใจ และสาธารณชนทั่วไป

ถึงแม้บทบาทหน้าที่ของผู้ประเมินความเสี่ยงและผู้จัดการความเสี่ยงจะต้องแตกต่างกันโดยสิ้นเชิงเพื่อให้ผู้ประเมินความเสี่ยงมีอิสระในการใช้ข้อมูลทางวิชาการอย่างตรงไปตรงมาไม่ถูกก้าวก่ายโดยผู้จัดการความเสี่ยง แต่ผู้จัดการความเสี่ยงก็ควรจะสื่อสารและมีปฏิสัมพันธ์กับผู้ประเมินความเสี่ยงในระหว่างดำเนินการกำหนดขอบเขตของการวิเคราะห์โดยเฉพาะปัญหาจากการกำหนดสูตรอาหารต่างๆ

เนื้อหาใน EHC 240 ที่นำมาเสนอในรายงานฉบับนี้เป็นเพียงบางส่วนที่นำมาเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการประเมินความเสี่ยงของวัตถุเจือปนอาหาร (Food additives) เท่านั้นไม่ได้กล่าวถึง สารปนเปื้อนในอาหาร สารพิษในธรรมชาติและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง แต่บางประเด็นหากใช้หลักเกณฑ์เดียวกันก็สามารถนำไปอ้างอิงได้ เนื้อหาในรายงานนี้จะประกอบไปด้วยส่วนต่างๆดังนี้

- การอธิบายลักษณะของสารเคมี (Chemical characterization) วิธีวิเคราะห์ (Analytical method) และการตั้งข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (Specifications)
- การแสดงถึงความเป็นอันตราย (Hazard identification) และ การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) ในการศึกษาทางพิษวิทยาและการศึกษาในมนุษย์
- การกำหนดค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (Acceptable daily intake: ADI)

- การประเมินการได้รับสัมผัสสารเคมีจากอาหาร (Dietary exposure assessment of chemicals in food)
- การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization)
- ข้อพิจารณาพิเศษสำหรับกลุ่มสารที่เฉพาะ (Special consideration for specific groups of substances) เช่น สารกลุ่มที่บริโภคปริมาณน้อย (Substances consumed in small amounts) สารอาหารและสารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมาก (Substances consumed in large amounts) สารจากภาชนะบรรจุอาหาร (Substances from food contact materials) อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (Novel foods) และอาหารที่มีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses)

ทั้งนี้รายละเอียดในประเด็นต่างๆจะกล่าวในบทต่อไป

บทที่ 2 อธิบายลักษณะของสารเคมี วิธีวิเคราะห์ และข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (Chemical characterization, analytical method and specifications)

การอธิบายลักษณะของสารเคมี (Chemical characterization) เป็นข้อมูลสำคัญของสารเคมีที่ต้องการนำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยง ใช้ในการสำรวจและใช้ในการตรวจติดตามเพื่อการควบคุมตามกฎหมาย วิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมมีความจำเป็นเพื่อ

- ให้คำจำกัดความตามธรรมชาติของสารรวมทั้งองค์ประกอบไอโซเมอร์และความบริสุทธิ์ของสารเคมีหรือของวัสดุที่ทำการศึกษาทั้งการศึกษานอกสัตว์ทดลองและการศึกษาในร่างกายสิ่งมีชีวิตระหว่างการศึกษาที่แสดงถึงความเป็นอันตราย และการอธิบายลักษณะของอันตราย
- กำหนดความเข้มข้นของสารเคมีและเมตาโบไลท์ของสารนั้นในร่างกาย ในเนื้อเยื่อหรือส่วนของเหลวต่างๆที่สัตว์ทดลองขับออก
- เพื่อหาชนิดและปริมาณของสารที่มีการใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีการกำหนดค่าสูงสุด (Maximum levels, MLs) โดย JECFA

การอธิบายลักษณะของสารเคมีจำเป็นสำหรับการเตรียมข้อมูลเกี่ยวกับข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (Specification) เอกลักษณ์ (Identity) และความบริสุทธิ์ (Purity) ของวัตถุเจือปนอาหาร

วิธีวิเคราะห์ (Analytical method) จะถูกกำหนดโดย JECFA ซึ่งวิธีการที่ใช้จะต้องทำการทดสอบซ้ำแล้วสามารถให้ผลเหมือนกันตามข้อกำหนดที่เป็นที่ยอมรับของห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรอง (laboratory accreditation) ตามมาตรฐานสากล หรือมีการดำเนินการบริหารจัดการด้านคุณภาพที่เทียบเท่าและแสดงความสามารถทางด้านเทคนิคที่เทียบเท่า วิธีการทดสอบที่เป็นมาตรฐานและเป็นที่ยอมรับในระดับสากลจะต้องประกอบด้วยคุณสมบัติต่างๆได้แก่ มีความจำเพาะ (specificity) แสดงข้อจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ข้อจำกัดของการหาปริมาณ (limit of quantification, LOQ) ความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision) คือสามารถทำซ้ำและให้ผลเหมือนกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน การให้คำจำกัดความและการแปลผลให้ดำเนินการตามที่ระบุในเอกสารของ Codex Alimentarius Commission (CAC) และคู่มือขั้นตอนการปฏิบัติงานของ CAC ที่เผยแพร่ทางเว็บไซต์ (FAO/WHO, 2008) ส่วนวิธีวิเคราะห์ที่จะนำมาใช้อ้างอิงเพื่อวัตถุประสงค์ในการสร้างฐานข้อมูล (database) สำหรับการประเมินความเสี่ยงสามารถใช้วิธีที่เหมาะสมได้หลากหลายแต่ควรพิจารณาข้อกำหนดเพิ่มเติมเช่น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ

ในปัจจุบันการใช้มาตรฐานในระดับนานาชาติของวิธีวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองข้อปฏิบัติที่ดีในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice) เป็นการแสดงถึงการจัดการด้านคุณภาพที่ดีของห้องปฏิบัติการนั้นๆและควรสนับสนุนให้มีการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ (proficiency test) อย่างสม่ำเสมอเพื่อคงไว้ซึ่งการเป็นห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรอง

ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (Specification) ของวัตถุเจือปนอาหาร ด้านความเป็นเอกลักษณ์และความบริสุทธิ์เป็นสิ่งจำเป็นที่ JECFA นำมาใช้ประเมินความปลอดภัยของวัตถุเจือปนอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ดังต่อไปนี้

1. เพื่อหาลักษณะเฉพาะของสสาร (substance)โดยการทดสอบทางพิษวิทยาต้องทำในสิ่งมีชีวิต
2. เพื่อให้แน่ใจว่าสสารที่จะนำมาใช้มีคุณภาพตามต้องการเพื่อความปลอดภัยในการที่จะนำมาใช้ในอาหาร
3. เพื่อสะท้อนและกระตุ้นให้เกิดระบบ Good Manufacturing Practice (GMP) และรักษาไว้ซึ่งคุณภาพของวัตถุเจือปนอาหารที่จำหน่ายในท้องตลาด

วัตถุเจือปนอาหารที่นำมาใช้ในอาหารจะอยู่ในรูปสารเดี่ยว (single chemical) หรือวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมที่ผู้ประกอบการผลิตขึ้น (manufactured chemical mixture) โดยเป็นทั้งสารเคมีหลายชนิดผสมกันหรือมีส่วนผสมจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural product) ดังนั้นข้อมูลที่สำคัญสำหรับข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของวัตถุเจือปนอาหารแต่ละชนิดที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ คือ

1. ข้อมูลส่วนประกอบของสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร
2. การอธิบายถึงรูปลักษณะ
3. วิธีการผลิต
4. วัตถุดิบที่ใช้
5. ความไม่บริสุทธิ์ (impurities) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิต

อย่างไรก็ตามความต้องการข้อมูลส่วนประกอบของสารเคมีที่เพิ่มเติมอาจจะแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสสาร ดังนี้

1. <u>วัตถุเจือปนอาหารที่เป็นสารเคมีชนิดเดี่ยว</u> เป็นสิ่งที่เป็นไปไม่ได้ที่จะกำจัดสิ่งที่ไม่บริสุทธิ์ทั้งหมด (impurities)ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิต ดังนั้น การวิเคราะห์วัตถุเจือปนอาหารชนิดนี้จะวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักและจะประเมินหรือคาดคะเนสารที่ไม่บริสุทธิ์ (impurities)ในวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้นๆโดยเฉพาะสารที่ไม่บริสุทธิ์(impurities)ที่มีความเป็นพิษ
2. <u>วัตถุเจือปนอาหารที่เป็นสารเคมีผสม</u> (complex mixture) ที่ผลิตขึ้น เช่น monoglycerides และ diglycerides จะต้องการข้อมูลเกี่ยวกับสารที่นำมาผลิตในกระบวนการผลิตโดยใช้ข้อมูลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่อาจมีความแตกต่างกันประกอบด้วย

3. <u>วัตถุเจือปนอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ</u> เนื่องจากความหลากหลายทางชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติรวมถึงส่วนประกอบของสารเคมีที่มีจำนวนมากจึงเป็นปัญหาในการใช้วิธีการวิเคราะห์แบบปกติทั่วไป ดังนั้นวัตถุเจือปนอาหารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจึงจำเป็นเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการดังต่อไปนี้
    3.1 ระบุแหล่งที่มาและวิธีการผลิตอย่างละเอียดชัดเจน
    3.2 มีข้อมูลส่วนประกอบสารเคมีที่มีการวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีทั่วๆไปซึ่งอาจจะรวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น คาร์โบไฮเดรต และปริมาณเกลือแร่ต่างๆ
    3.3 วิเคราะห์สารไม่บริสุทธิ์ที่มีความเป็นพิษที่สามารถถ่ายทอดจากวัตถุดิบไปยังผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการใช้วัตถุเจือปนอาหารที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยว่าหลงเหลือในผลิตภัณฑ์อาหารอยู่หรือไม่มากน้อยเพียงใด

JECFA ได้จัดทำข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ของวัตถุเจือปนอาหารที่ต้องแสดงในส่วนที่วัตถุเจือปนอาหารถูกนำมาใส่ในอาหารแล้วปรากฏอยู่ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่จำหน่ายสู่ผู้บริโภคโดยในเบื้องต้นให้แสดงเฉพาะวัตถุเจือปนอาหารที่ตั้งใจเติมลงไปในอาหารโดยตรงเพื่อเทคนิคการผลิต เช่น สารกันเสีย (preservative) สีผสมอาหาร (color) ในปี ค.ศ.1971 JECFA ได้กำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ของสารละลายที่นำมาสกัด (extraction solvents) ถึงแม้ว่า สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) เหล่านี้จะถูกกำจัดออกไปจากผลิตภัณฑ์อาหารก็ยังคงต้องหาเอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ (identity and purity) เพื่อประเมินความปลอดภัยด้วย ดังนั้น JECFA จึงมีการกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ของสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) เช่น antifoaming, clarifying agents, enzyme preparations, filtering aids, packaging gases, สารที่ถูกปลดปล่อยออกมาและอื่นๆ เป็นต้น เพื่อผู้ผลิตจะได้มีข้อมูลในการเลือกใช้สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids)ในระดับที่ปลอดภัย (FAO/WHO,1971) ต่อมาในปี 1983 JECFA กำหนดให้สารช่วยในกระบวนการผลิตบางชนิด เช่น glutaraldehyde ที่ถูกนำมาใช้เพื่อimmobilize enzyme preparation หรือ acetic anhydride ในอุตสาหกรรมที่ใช้ modified starches ไม่ต้องมีการกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) แต่การหลงเหลือของสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์อาหาร (carry over) ให้ถูกควบคุมโดยการกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification)สำหรับความบริสุทธิ์ (purity) ของวัตถุเจือปนอาหารหรือสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) นั้นๆ

วิธีการวิเคราะห์เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ของวัตถุเจือปนอาหารให้อ้างอิงตาม “Guide to Specifications” (FAO, 1978; FAO, 1983; FAO, 1991) และในปี ค.ศ.2006 ได้มีการนำมาทบทวนใหม่และสรุปไว้ใน the Combined Compendium of Food Additive Specifications Volume 4 (FAO, 2005/2006)

วัตถุเจือปนอาหารอาจถูกจำหน่ายในท้องตลาดในรูปแบบตำรับที่เตรียมขึ้นมา (formulated preparations) เช่นของผสมของสารประกอบหลัก (main ingredient) กับสารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพา (solvent vehicle) และ (emulsifier) ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ของทุกองค์ประกอบในตำรับที่เตรียมขึ้นนั้นจะต้องแสดงรายละเอียดเป็นรายชนิด การแสดงข้อมูลทางชีววิทยาที่มีผลในร่างกาย เช่นการดูดซึมหรือเมตาบอลิสมที่มาจากสารที่เป็นองค์ประกอบแต่ละชนิดจะไม่สามารถนำมาใช้ได้ การเติมสารบางอย่าง เช่น anticaking agents, antioxidants และ stabilizers อาจส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ดังนั้นผู้ผลิตจะต้องระบุสารที่เติมลงไปด้วย การกำหนด formulation of specification ในกรณีของตำรับที่เตรียมขึ้นสามารถปฏิบัติตามข้อแนะนำด้าน ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ที่ JECFA ระบุรายละเอียดไว้ใน the Combined Compendium of Food Additives Specification (FAO, 2005/2006) ซึ่งวัตถุเจือปนอาหารส่วนใหญ่ใช้หลักการเดียวกันนี้ แต่ให้ยกเว้น enzyme preparations และ flavoring substances เนื่องจากมีลักษณะที่เฉพาะแตกต่างไปจากวัตถุเจือปนอาหารส่วนใหญ่

อย่างไรก็ตามถึงแม้จะมีข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) ที่ JECFA ระบุไว้ตามชนิดของวัตถุเจือปนอาหาร แต่ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยในการใช้ให้พิจารณาปัจจัยดังต่อไปนี้ร่วมด้วยคือ

- รายละเอียดข้อมูลจากผู้ผลิต
- การใช้ในปริมาณต่ำสุดที่ยังคงคุณสมบัติการทำหน้าที่ของวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้น
- การกำหนดปริมาณสูงสุดที่ยอมให้มีได้ของสารไม่บริสุทธิ์ที่ไม่พึงประสงค์

ความคงตัวและการเปลี่ยนแปลงของวัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร

ถึงแม้ว่าข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification) จะถูกกำหนดสำหรับวัตถุเจือปนอาหารที่จำหน่ายเพื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร แต่ JECFA ให้พิจารณาครอบคลุมไปตลอดอายุการเก็บหรือการวางจำหน่ายในท้องตลาดด้วย ดังนั้นจึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของสารที่อาจเกิดขึ้นจากการสลายตัวเมื่อผลิตภัณฑ์สินค้านั้นถูกเก็บอยู่บนชั้นจำหน่ายในท้องตลาด ผู้ผลิตและผู้ประกอบการควรมั่นใจว่าภาชนะบรรจุอยู่ในสภาพที่ดีและสภาพการเก็บตลอดจนการขนย้ายมีผลกระทบต่อการเสื่อมคุณภาพและความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด จึงต้องมีการยื่นเอกสารด้านการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาต่อคณะกรรมการประเมินด้วย

ปฏิกิริยาของวัตถุเจือปนอาหารกับองค์ประกอบที่มีในผลิตภัณฑ์อาหารอาจเกิดขึ้นได้เป็น 2 กรณีดังต่อไปนี้

กรณีที่1 เกิดปฏิกิริยาระหว่างวัตถุเจือปนอาหารกับองค์ประกอบที่มีในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น สารต้านออกซิเดชั่น (antioxidants) ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนที่อยู่ในอาหาร หรือ กรณี Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ทำปฏิกิริยากับโลหะที่อยู่ในอาหาร

<u>กรณีที่ 2</u> วัตถุเจือปนอาหารถูกทำลายหรือเสื่อมไปเนื่องจากกระบวนการปรุงหรือประกอบอาหาร จึงเป็นผลให้ประสิทธิภาพลดลง ตัวอย่างเช่น สารให้ความหวาน (sweetener) แอสปาแตมถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น diketopiperazine ในกระบวนการผลิตอาหารที่มีสภาวะความเป็นกรด

กรณีดังกล่าวนี้ การประเมินจะทำโดยการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดสอบทางชีวภาพ (biological testing) ของผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปแล้วและอยู่ในรูปแบบที่พร้อมบริโภค

ข้อมูลความปลอดภัยที่ผู้ขออนุญาตจะนำมายื่นประกอบการพิจารณาขึ้นทะเบียนวัตถุเจือปนอาหาร จะต้องประกอบด้วย ข้อมูลที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดปฏิกิริยาระหว่างวัตถุเจือปนอาหาร กับสารเคมีในอาหารและปฏิกิริยาของวัตถุเจือปนอาหารต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในร่างกายสิ่งมีชีวิต ดังนี้

1. ปฏิกิริยาทางเคมีทั่วๆไปของวัตถุเจือปนอาหาร
2. ความคงตัวหรือความเสถียรของวัตถุเจือปนอาหารระหว่างการเก็บรักษาและปฏิกิริยาต่างๆในระบบที่ทำการทดสอบ
3. ปฏิกิริยาของวัตถุเจือปนอาหารเมื่ออยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร
4. กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของวัตถุเจือปนอาหารภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต

ปัจจุบันข้อมูลดังกล่าวทั้งหมดนี้จะเป็นสิ่งสำคัญสำหรับความเกี่ยวข้องทางด้านพิษวิทยาที่จะนำไปสู่การนำวัตถุเจือปนอาหารมาใช้ในอาหาร

สารที่ถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารและไม่สามารถกำจัดออกได้หมดยังคงหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่เรียกว่า “สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids)” เช่น สารสกัดเอนไซม์นั้น JECFA จะทำการประเมินความปลอดภัยของสารช่วยในกระบวนการผลิตโดยผู้ขออนุญาตจะต้องยื่นเอกสารหลักฐานและแสดงปริมาณที่จะถูกส่งผ่านไปยังผลิตภัณฑ์อาหารและหลงเหลืออยู่ในอาหารเมื่อผ่านกระบวนการ

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

ข้อมูลเอกลักษณ์ (identity) และความบริสุทธิ์ (purity) ที่ต้องยื่นต่อ JECFA จะรวมรายละเอียดของวิธีวิเคราะห์ด้วย รวมทั้งเอกสารหลักการสุ่มตัวอย่าง (sampling protocol) ข้อแนะนำสำหรับการเลือกใช้เทคนิคในการตรวจวิเคราะห์สามารถดูรายละเอียดได้ใน the Combined Compendium of Food Additive Specifications Volume 4 (FAO, 2005/2006) หากเทคนิคที่แสดงไว้เป็นไปไม่ได้กับสารบางชนิดจะมีการกำหนดเฉพาะไว้ใน specification monograph ที่แยกเฉพาะออกมา

เนื่องจากข้อกำหนดของ JECFA มีการนำไปใช้ทั่วโลกจึงจำเป็นต้องใช้วิธีการลงคะแนนจากคณะกรรมการเพื่อให้เทคนิคที่ถูกกำหนดให้ใช้สามารถปฏิบัติได้โดยใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ที่ประเทศต่างๆมีการใช้อย่างกว้างขวาง ให้ผลตรวจวิเคราะห์ที่แม่นยำ (precision) และถูกต้อง (accuracy) ค่าใช้จ่ายในการตรวจวัดเหมาะสม สามารถให้ผลการทดสอบที่อยู่ในข้อกำหนดที่ JECFA กำหนดไว้ได้

บทที่ 3 การแสดงถึงความเป็นอันตราย (Hazard identification) และการอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) ในการศึกษาทางพิษวิทยาและการศึกษาในมนุษย์

3.1 ขอบเขตและการเลือกวิธีทดสอบ (Scope and choice of test methods)

การศึกษาทางพิษวิทยาอาจจะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท

1. การศึกษานอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) โดยการใช้สิ่งมีชีวิตหรือเซลล์ที่เพาะเลี้ยง การเตรียมเนื้อเยื่อจากสัตว์หรือมนุษย์ที่ใช้ในการทดสอบ
2. การศึกษาในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) โดยศึกษาในสัตว์หรือมนุษย์

ทั้งนี้การศึกษาทั้งสองประเภทนี้จะให้ประโยชน์ที่รวมถึงการแสดงถึงความเป็นอันตราย (Hazard identification) และการอธิบายที่บอกถึงเงื่อนไขการได้รับสัมผัสที่ทำให้เกิดผลกระทบและการประเมินความสัมพันธ์ของ dose-response ที่จะเป็นการอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) ซึ่ง JECFA และ JMPR จะพิจารณาข้อมูลจากการศึกษาทั้ง 2 แบบในการประเมินความเสี่ยง การทดสอบในสัตว์ทดลองนั้นเป็นที่ยอมรับและเห็นตรงกันว่าควรจะลดลงหรือออกแบบการทดลองให้ใช้สัตว์จำนวนน้อยลงหรือใช้เท่าที่จำเป็นเท่านั้น ทั้งนี้มีวิธีทางเลือกที่ถูกเสนอให้ใช้ เช่น มีความก้าวหน้าในการพัฒนาวิธีการทดสอบแบบที่เรียกว่า in silico ซึ่งเป็นการใช้คอมพิวเตอร์โมเดลมาทำนายการทดลองทางชีวภาพ หรือในวิธีการในหลอดทดลองอื่นๆ แต่ในปัจจุบันก็ยังไม่อนุญาตให้วิธีการดังกล่าวสามารถนำมาใช้ทดแทนการทดลองในสัตว์เพื่อนำมาอธิบายผลด้านความเป็นพิษในมนุษย์ แม้ว่าจะยังไม่มีสิ่งมีชีวิตชนิดใดที่จะเป็นตัวแทนที่ดีสำหรับมนุษย์ ดังนั้นข้อมูลในการศึกษาในสัตว์ก็จะยังจำเป็นเพื่อใช้เป็นหลักฐานที่ทำให้ทราบถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นด้านความเป็นพิษของสารที่ถูกนำมาใช้ในอาหาร

3.2 การดูดซึม การกระจายตัว เมแทบอลิซึม และการขับออกรวมถึงสิ่งที่เหลืออยู่ ที่ควรคำนึงถึงในด้านพิษวิทยา (Absorption, distribution, metabolism and excretion including residues of toxicological concern)

ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสารเคมีที่ได้รับสัมผัสจากภายนอกหรือที่ได้รับเข้าไปในร่างกายและส่งผลให้มีการตอบสนองทางชีวภาพสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ

- พิษจลนศาสตร์ (Toxicokinetics) เป็นความสัมพันธ์ในการส่งผ่านสารเคมีและการเคลื่อนที่ของสารเคมีจากบริเวณการออกฤทธิ์ที่เป็นสารตั้งต้น (parent substance) และ/หรือสารเมแทบอไลต์ที่ว่องไว (active metabolites)

- พิษพลศาสตร์ (toxicodynamics) เป็นความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาระหว่างสารเคมีและ/หรือสารเมแทบอไลต์ที่ว่องไว (active metabolites) ที่บริเวณออกฤทธิ์และผลลัพธ์สุดท้ายหรือการตอบสนองทางพิษวิทยา

ความรู้ของกระบวนการจัดการกับสารพิษ (disposition) ทางชีวภาพของสารเคมี เช่น การดูดซึม การกระจายตัว เมแทบอลิซึม และการขับออก (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion: ADME) จะเป็นส่วนสำคัญของการอธิบายลักษณะของอันตรายและการประเมินความเสี่ยง โดยข้อมูลดังกล่าวยังมีความสำคัญสำหรับการอธิบายลักษณะความเสี่ยง 2 ลักษณะหลักๆ ดังนี้

- การออกแบบการศึกษาในสัตว์ทดลองที่เหมาะสมเพื่อระบุและอธิบายลักษณะอันตรายที่เป็นผลจากการได้รับสัมผัสสารเคมี
- การอธิบายข้อมูลที่เป็นผลของความสัมพันธ์ด้านกลไกหรือรูปแบบของความเป็นพิษ การพิจารณาระดับความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองและการพิจารณาความผันแปรในมนุษย์ที่อาจจะเป็นไปได้

หลักการในการศึกษาด้านพิษจลนศาสตร์ (Toxicokinetics) ได้สรุปไว้ใน Environmental Health Criteria 57 (EHC 57) (IPCS,1986a) โดยเป็นการศึกษาที่ได้อธิบายเกี่ยวกับชีวเคมี สรีรวิทยา และคณิตศาสตร์ที่เป็นพื้นฐานของการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีภายในร่างกาย ส่วนใน EHC 70 (IPCS,1987) ข้อมูลรายละเอียดดังกล่าวมาแล้วนี้จะอยู่ภายใต้หัวข้อเรื่อง “การใช้การศึกษาทางเมแทบอลิกและเภสัชจลนศาสตร์ในการประเมินความปลอดภัย (The use of metabolic and pharmacokinetic studies in safety assessment)” ในขณะที่ EHC 104 รายละเอียดดังกล่าวมาแล้วนี้จะอยู่ภายใต้หัวข้อเรื่อง “การดูดซึม การกระจายตัว เมแทบอลิซึม และการขับออก (Absorption, distribution, metabolism and excretion)” (IPCS,1990)

<u>การดูดซึม (Absorption)</u>

การดูดซึม (Absorption) เป็นกระบวนการที่สารเคมีถูกเคลื่อนย้ายจากบริเวณที่ได้รับสารไปสู่ระบบการไหลเวียนโลหิต สำหรับสารเคมีในอาหารการดูดซึมจะกล่าวถึงการเคลื่อนย้ายผ่านผนังทางเดินอาหาร (gut) เข้าไปสู่ระบบการไหลเวียนโลหิต รวมทั้งสารเคมีบางชนิดจะถูกดูดซึมและนำเข้าไปถึงเนื้อเยื่อบุผิว (epithelium) ของระบบทางเดินอาหาร

ส่วนคำว่า ชีวปริมาณการออกฤทธิ์ (Bioavailability) จะถูกใช้เพื่ออธิบายสัดส่วนหรือจำนวนร้อยละของขนาดสารที่พบในระบบไหลเวียนโลหิตต่อสารประกอบตั้งต้น (parent compound) ทั้งนี้เนื่องจากสาร ที่ถูกดูดซึมอาจอยู่ในรูปเมแทบอไลต์ (metabolites) ที่เกิดขึ้นภายในช่องว่างหรือผนังของระบบทางเดินอาหาร แต่ไม่ได้อยู่ในรูปสารประกอบตั้งต้น (parent compound)

กระบวนการที่สำคัญที่สุดที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของสารเคมีจากบริเวณที่ได้รับไปสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) จะเป็นการซึมผ่านแบบไม่ใช่พลังงาน (passive diffusion) โดยเคลื่อนที่จากความเข้มข้นสูงไปยังความเข้มข้นที่ต่ำกว่า สารจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ก่อนที่จะเข้าสู่กระแสเลือด (general circulation) ทั้งนี้สารเคมีที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ละลายในไขมันจะถูกดูดซึมได้เร็วกว่าสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าซึ่งละลายน้ำได้ดี สารที่ละลายในไขมันได้มาก เช่น ขี้ผึ้งพาราฟิน เบต้าแคโรทีน และ polyhalogenated dibenzodioxins จะแสดงการดูดซึมที่ไม่สมบูรณ์จากทางเดินอาหาร (gut) เพราะมันจะไม่ก่อตัวเป็นสารละลายที่ดีในช่องทางเดินอาหารแต่โมเลกุลที่ละลายในไขมันจะแพร่ผ่านผนังระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal wall) ได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากลำไส้เล็กมีพื้นที่ผิวสัมผัสขนาดใหญ่แต่อาจเกิดขึ้นช้าลง เนื่องจากกระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น ภาวะกระเพาะอาหารว่าง (gastric emptying)

ส่วนการดูดซึมสารอาหารต่างๆจากระบบทางเดินอาหารจะใช้กระบวนการขนส่งที่ใช้พลังงาน (active transport) ซึ่งจะค่อนข้างจำเพาะต่อสารอาหารที่ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของโปรตีนตัวพา (carrier protein) ซึ่งมีสารเคมีจำนวนน้อยที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับตัวขนส่งทางสรีรวิทยาในระบบทางเดินอาหาร ข้อยกเว้นของข้อมูลที่กล่าวมา คือ ตัวขนส่งที่ถูกหลั่งออกมา (efflux transporter) ที่รู้จักกันดี คือ ไกลโคโปรตีน P (P-glycoprotein) ซึ่งจะขนส่งโมเลกุลของสารอินทรีย์แปลกปลอมที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจากไซโตซอล (cytosol) ของ enterocytes ไปสู่ช่องระบบทางเดินอาหาร ตัวขนส่งที่หลั่งออกมานี้อาจจะจำกัดการดูดซึมของสารประกอบแปลกปลอมบางชนิดและสามารถแสดงการเปลี่ยนแปลงทางจลนศาสตร์ที่ไม่เป็นเส้นตรง (non-linear kinetic) โดยเฉพาะสารอาหารที่มีความเข้มข้นสูง

ข้อมูลของการดูดซึมอาจจะเกี่ยวข้องกับอัตราที่สารเคมีถูกส่งไปยังระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) หรือปริมาณ (extent) สารที่เข้าสู่ระบบไหลเวียนหรือถูกขับออกทางปัสสาวะทั้งนี้เป็นได้ทั้งสารที่เป็นสารตั้งต้นหรือเมแทบอไลต์ (metabolites) ทั้งนี้ข้อมูลการดูดซึมมีดังต่อไปนี้

- <u>อัตราการดูดซึม</u>สามารถประเมินโดยการวัดเป็นชุดของความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือสารเมแทบอไลต์ (metabolites) ของมันในพลาสม่าหรือถูกขับออกทางปัสสาวะซึ่งเป็นส่วนของการศึกษาทางด้านพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetics) อัตราการดูดซึมที่คงที่สามารถประเมินได้จากระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นในพลาสม่า หลังจากที่ได้รับสารเข้าไปในร่างกายขนาดเดียวเท่านั้นโดยช่องทางการให้ที่เหมาะสม ทั้งนี้การหาอัตราการดูดซึมจะเป็นสิ่งที่สำคัญในการประเมินความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxic effects) ของสารที่ต้องการทดสอบ
- <u>ปริมาณของการดูดซึม</u>เป็นสิ่งสำคัญสำหรับทั้งการทดสอบความเป็นทั้งแบบพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) และพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) ปริมาณการดูดซึมอาจจะเป็นการประเมินใน 2 แบบ ได้แก่
    1. ปริมาณ (extent) ของการดูดซึมทั้งหมดหลังจากได้รับสารที่ติดฉลากกัมมันตรังสี (radioactive dose) สามารถประเมินจากปริมาณที่ขับออกทางระบบปัสสาวะของสารกัมมันตรังสีที่ถูกติดฉลาก (radiolabel) หลังจากสารนั้นได้รับทางปากหรือฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ

2. กระบวนการดูดซึมอาจจะมีความแตกต่างกันระหว่างชนิดของสัตว์ที่นำมาทดสอบหรือความแตกต่างระหว่างบุคคลเมื่อทำการทดสอบในมนุษย์ ดังนั้นการอธิบายลักษณะของอันตรายจะต้องนำค่า uncertainty มาพิจารณาด้วย โดยที่ค่าชีวปริมาณการออกฤทธิ์ (Bioavailability) ของสารจะขึ้นอยู่กับสภาวะของการทดลอง เช่น รูปแบบการให้อาหารหรือสารโดยให้สัตว์ทดลองกินร่วมกับอาหารปกติหรือป้อน (gavage) และสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารที่เราต้องการให้สัตว์ทดลองกิน

<u>การกระจาย (Distribution)</u>

การกระจายเป็นกระบวนการที่สารหรือเมแทบอไลต์ (metabolites)ของสารปรากฏอยู่ในระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ที่เคลื่อนที่ไปทั่วร่างกายและการแยกออกเป็นส่วนๆหรือออกจากเนื้อเยื่อร่างกายที่ต่างกัน การเคลื่อนย้ายจากระบบไหลเวียนโลหิตไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆในขั้นตอนแรกเป็นการซึมผ่านแบบไม่ใช่พลังงาน (passive diffusion) จากความเข้มข้นสูงไปสู่ความเข้มข้นของสารเคมีที่ต่ำกว่า ในระหว่างการดูดซึมสิ่งที่ตามมาคือระดับของสารในพลาสม่าเพิ่มขึ้นจะสอดคล้องกับระดับของสารในเนื้อเยื่อสูงขึ้นและเมื่อระดับความเข้มข้นของสารในพลาสม่าลดลงเมื่อสารนั้นจะขับออกจากร่างกายจะมีผลให้ระดับของสารนั้นในเนื้อเยื่อต่ำลงด้วย การเคลื่อนที่จากระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ไปสู่เซลล์เนื้อเยื่อพบว่าโมเลกุลที่ละลายในไขมันจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีกว่าโมเลกุลที่มีขั้วสูงละลายน้ำได้ดีและมีขนาดใหญ่

การเข้าไปของโมเลกุลเข้าสู่อวัยวะบางอย่าง โดยเฉพาะสมองจะถูกจำกัดอย่างมากต่อโมเลกุลที่ละลายในไขมัน เพราะจะมีการเชื่อมกันอย่างแน่นหนาระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวเพื่อป้องกันโมเลกุลที่ละลายน้ำที่ยังหลงเหลือภายในหลอดเลือดเข้าไปยังสมอง โดยมี“blood–brain barrier” ซึ่งประกอบด้วยไกลโคโปรตีน P (P-glycoprotein) ทำหน้าที่เป็น Active transporters และมีรูขนาดเล็กมากที่เยื่อหุ้มเซลล์เป็นกั้นขว้าง ทั้งนี้ Active transporters ของเซลล์เยื่อบุผิวของสมองจะมีความสำคัญในการปล่อยให้สารอาหารที่สำคัญ เช่น กลูโคสและกรดอะมิโน เข้าสู่สมองและไม่ให้สารเคมีที่ไม่ใช่สารอาหารเข้าสู่สมอง

การดูดซึม การกระจายตัว อาจจะมีความหมายในเชิงของอัตราของกระบวนการ (the rate of distribution) และปริมาณ (the extent of distribution) เช่น สัดส่วนของภาระของร่างกายในการเคลื่อนย้ายสารนั้นออกจากระบบไหลเวียนโลหิตเพื่อเข้าไปยังเนื้อเยื่อของร่างกาย การกระจายตัวมีรายละเอียดดังนี้

1. อัตราของการกระจายตัว (the rate of distribution) ส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับอัตราการเข้าไปของสารเคมีในอวัยวะนั้นๆ (perfusion) ที่แสดงสัมพรรคภาพ (affinity) สูงสุดของสารเคมี ตัวอย่างเช่น ถ้าสารนั้นละลายในไขมันได้ดี สารนั้นจะถูกเก็บอยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) มากกว่าในพลาสม่า ในขณะสารที่มีอัตราการเข้าไปที่ต่ำ (low perfusion rate) ในเนื้อเยื่อนั้นๆจะถูกจำกัดภายในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) อัตราการกระจายตัวจะถูกประเมินโดยการวัดทางพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetics) อยู่เสมอหลังจากการได้รับสารโดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ

2. ปริมาณ (extent) ของการกระจายตัวทำการประเมินโดยสัมพรรคภาพ (affinity) ที่สัมพันธ์กันของระบบไหลเวียนโลหิตและสัมพรรคภาพ (affinity) ของอวัยวะร่างกาย สารหลายชนิดอาจจะละลายในไลโพโปรตีน (lipoproteins) หรือเยื่อหุ้มเซลล์ที่ปรากฏในระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) เช่นเดียวกันกับที่เยื่อหุ้มเซลล์ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ในเนื้อเยื่อ นอกจากนั้นสารหลายชนิดยังแสดงการจับกันที่กลับไปมาได้ของพลาสม่าและโปรตีนในเนื้อเยื่อ ผลที่ได้คืออัตราส่วนของความเข้มข้นของสารเคมีในเนื้อเยื่อต่อความเข้มข้นของสารเคมีในพลาสม่าที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพ (affinity) โดยรวมของเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับพลาสม่าซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ค่าดังกล่าวอาจสูงมากในอวัยวะบางระบบ ตัวอย่างเช่น สารที่ละลายในไขมันอาจจะแสดงอัตราส่วนของสัมพรรคภาพ (affinity) ที่มีค่าสูงมากระหว่างเนื้อเยื่อไขมันต่อพลาสม่า

การวัดปริมาณการกระจายตัวของสาร (Distribution) สามารถวัดได้สองแบบ คือ 1. สารกัมมันตรังสีที่ไม่จำเพาะ (nonspecific radiochemical methods) และ 2. วิเคราะห์สารเคมีที่จำเพาะ (chemical-specific analyses) วิธีแรกที่ใช้สารกัมมันตรังสีที่ไม่จำเพาะ (nonspecific radiochemical methods) จะสามารถรู้ข้อมูลรูปแบบของการกระจายตัวของสารที่เป็นสารตั้งต้นรวมอยู่กับเมแทบอไลต์ของมันแต่วิธีนี้อาจทำให้เกิดข้อมูลที่คลาดเคลื่อนเนื่องจากอาจจะทำให้ได้สารที่จับกันด้วยพันธะโควาเลนต์กับเนื้อเยื่อโปรตีน ไรโบนิวคลีอิค (RNA) หรือ ดีออกซีไรโบนิวคลีอิค แอซิด (DNA) รวมไปด้วย เนื่องจากสารทั้งหมดดังกล่าวจะถูกกำจัดออกพร้อมกับสารตั้งต้นด้วย วิธีที่สองวิเคราะห์สารเคมีที่จำเพาะ (chemical-specific analyses) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณของสารตั้งต้นในพลาสม่าและเนื้อเยื่อเพื่อใช้ประเมินรูปแบบของการกระจายตัว เป็นการศึกษาในมนุษย์โดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารในพลาสม่าในเวลาต่างๆกัน หลังจากที่สารถูกให้ในขนาดเดียวทางหลอดเลือดดำ

<u>เมแทบอลิซึมบอลิซึม (metabolism)</u>

เมแทบอลิซึมบอลิซึม (Metabolism) หรือ biotransformation เป็นกระบวนการซึ่งสารที่ได้รับเข้าไปถูกเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นโมเลกุลที่ถูกกำจัดออกจากร่างกาย

ถึงแม้ว่าเมแทบอลิซึมบอลิซึมจะเป็นการอธิบายกระบวนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย (detoxification) ในหลายกรณีของการเกิดพิษในอวัยวะเป้าหมายสามารถเกิดขึ้นจากการออกฤทธิ์ของสารเมแทบอไลต์ (metabolites) มากกว่าการออกฤทธิ์ของสารประกอบตั้งต้น (parent compound) ในบางกรณีสารเมแทบอไลต์ (metabolite) อาจไม่เสถียรในการทำปฏิกิริยาและเกิดการจับกันแบบพันธะโควาเลนต์กับโปรตีนของเนื้อเยื่อ RNA และ DNA ที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ที่เป็นส่วนหนึ่งของรูปแบบการแสดงของผลกระทบที่เป็นพิษ ในกรณีดังกล่าวนี้ เมแทบอลิซึมของสารจึงกลายมาเป็นส่วนที่สำคัญของรูปแบบการแสดงออกของการเกิดพิษ ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองและความแปรปรวนต่อความไวของมนุษย์ต่อสารเคมีล้วนเป็นปัจจัยที่มีผล ดังนั้นการวัดพิษจลนศาสตร์ (Toxicokinetics) ที่ใช้การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization)

ที่สัมพันธ์กับเอกลักษณ์สารเคมีที่มีความไว (active chemical entity) ในระบบไหลเวียนหรือเนื้อเยื่อจึงมีความสำคัญมาก รวมทั้งความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองและความแปรปรวนต่อความไวของมนุษย์ต่อสารเคมี

วัตถุเจือปนอาหารส่วนใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและจัดเป็นโมเลกุลของสารอินทรีย์ จะถูกเปลี่ยนโครงสร้างโดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดสารพิษ (drug-metabolizing enzyme) ในเฟส 1 และเฟส 2 ที่พบในตับเป็นส่วนใหญ่ เมแทบอลิซึมในเฟส 1 เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา oxidation, reduction หรือ hydrolysis ของโมเลกุลกับการสร้างกลุ่มที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาในเฟส 2 หรือปฏิกิริยาการสังยุค (conjugation) ส่วนในเฟส 2 เป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังยุค (conjugation) ของสารแปลกปลอมหรือสารที่เป็นสารเมแทบอไลต์ (metabolites) ที่ได้จากเฟส 1ไปจับกับโมเลกุลของ glucuronic acid หรือซัลเฟต ซึ่งทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำมากขึ้น ทั้งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงในเฟส 1 และเฟส 2 จะทำให้ความเป็นพิษลดลงและทำให้เกิดการขับออก แต่อย่างไรก็ตามมันอาจจะนำไปสู่การสร้างโมเลกุลที่มีความว่องไวแล้วทำให้เกิดความเป็นพิษได้เช่นกัน ปัจจัยที่ต้องพิจารณาในการศึกษาเมแทบอลิซึมของสารซึ่งจะมีผลกระทบต่อการศึกษาได้แก่ ชนิดและสายพันธุ์ เพศ ช่องทางการให้สาร ขนาดของสารที่ให้ ระยะเวลาการให้ พยาธิวิทยาที่เกิดขึ้น การจะนำผลไปอธิบายในมนุษย์จะต้องคำนึงถึงว่าบางครั้งเมแทบอลิซึมที่แตกต่างกันระหว่างเพศที่แตกต่างกันในหนูแรทอาจจะไม่เกิดขึ้นในมนุษย์ก็เป็นได้

หากสารที่ต้องการทดสอบมีความเข้มข้นต่ำให้พิจารณาอัตราการเปลี่ยนแปลงทางด้านเมแทบอลิซึมโดยพิจารณาองค์ประกอบของพิษจลนศาสตร์ เช่น ค่าครึ่งชีวิตของสารและการกำจัดออกหมดของสารนั้นด้วย หรืออาจมีการพิจารณาให้ขนาดซ้ำๆเพื่อเพิ่มปริมาณภาระของร่างกาย (body burden) ในการเก็บสารนั้นในร่างกาย

<u>การขับออก (Excretion)</u>

การขับออก (Excretion) เป็นกระบวนการที่กำจัดสารหรือเมแทบอไลต์ (metabolites) ของสารนั้นจากระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ของร่างกายไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเสียจากร่างกาย เช่น ปัสสาวะ อุจจาระ และอากาศที่ออกจากร่างกาย

ช่องทางหลักของการกำจัดสารแปลกปลอมที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำออกจากร่างกาย คือ การขับออกทางปัสสาวะ อย่างไรก็ตามการขับออกทางปัสสาวะจะมีประสิทธิภาพสำหรับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและสามารถละลายน้ำได้ดีเท่านั้น เพราะว่าโมเลกุลที่ละลายในไขมันจะถูกดูดซึมกลับจากท่อไต (renal tube) และกลับเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) นั้นเป็นเหตุให้สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและละลายในไขมันมีแนวโน้มที่ยังคงค้างอยู่ในร่างกายและต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงก่อนการกำจัดออก อัตราการกำจัดออกทางไตของสารประกอบอาจสูงถ้าหากสารนั้นมีตัวนำพาที่เป็น anionic หรือ cationic ซึ่งจะเป็นโมเลกุลที่ขนส่งจากระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ไปสู่ท่อไตแต่อาจจะเกิดได้ช้าสำหรับสารประกอบที่สามารถจับกับพลาสม่าโปรตีนค่อนข้างสูง วิถีทางที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการกำจัดสารออกจากร่างกายคือ การกำจัดออกทางน้ำดีซึ่งโมเลกุลของสารที่จะกำจัดออกจะรวมตัวกับส่วนประกอบหยดไขมันขนาดเล็ก (micelle) ของน้ำดีและผ่านเข้าสู่ช่องของระบบทางเดินอาหาร การกำจัดออกทางน้ำดี

สามารถเกี่ยวข้องกับตัวเคลื่อนย้ายจำนวนหนึ่งที่หลั่งออกมา เช่น ไกลโคโปรตีน P (P-glycoprotein) และ Multi-resistant drug protein (MRP) ถึงแม้ว่าการขับออกจะเป็นการเคลื่อนที่ออกที่มีประสิทธิภาพของสารประกอบจากระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ก็อาจจะเป็นไปได้ที่สารเมแทบอไลต์ (metabolites) ที่กำจัดในน้ำดีอาจจะมีเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มากกว่าภายในช่องระบบทางเดินอาหารและดูดซึมกลับเข้าไป ตัวอย่างเช่น การสังยุค (conjugation) glucuronic acid ของสารประกอบที่ก่อตัวในตับถูกขับออกทางน้ำดีและถูกไฮโดรไลซีสกลับไปเป็นสารประกอบตั้งต้น (parent compound) ในช่องว่างระบบทางเดินอาหาร หลังจากนั้นสารประกอบจะถูกดูดซึมจากระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง (lower bowel) กลับเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) กระบวนการนี้เรียกว่า enterohepatic circulationนอกจากนั้นสารประกอบที่กำจัดออกทางอากาศที่ปล่อยออกมาภายนอกจะเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำและระเหยได้ หรือเป็นส่วนย่อยที่แตกออกจากสารที่มีขนาดใหญ่

การที่สารเคมีจะถูกกำจัดออกโดยร่างกายสามารถวัดผลรวมของการกำจัดออกจากการวัดระดับที่ลดลงของสารนั้นในพลาสม่าเมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไปซึ่งสามารถวัดผลรวมจากกระบวนการต่างๆของการกำจัดออกของสารนั้นๆ เช่น คำนวณผลจากเมแทบอลิซึม+การขับออกทางปัสสาวะ+อากาศที่ขับออก+ช่องทางการขับออกอื่นๆ

3.3 ความเป็นพิษต่อระบบทั่วๆไปในร่างกาย (General systemic toxicity)

การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบทั่วๆไปจะถูกปฏิบัติเพื่อที่จะระบุอวัยวะเป้าหมายที่จะเกิดความเป็นพิษและเพื่อที่จะสามารถเลือกใช้การทดสอบเพิ่มเติมหรือที่เฉพาะเจาะจงเป็นพิเศษเพิ่มขึ้น

การทดสอบด้านความเป็นพิษต่อระบบทั่วไปจะเป็นการประเมินผลกระทบของสารที่ทำการทดสอบ (test substance) ในช่วงกว้างของจุดผลลัพธ์สุดท้ายที่บ่งบอกถึงการเกิดความเป็นพิษ

การออกแบบการทดสอบความเป็นพิษให้ปฏิบัติตามคำแนะนำวิธีทดสอบความเป็นพิษที่เป็นมาตรฐานตามที่ระบุโดย Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) (see http://masetto.sourceoecd.org/vl=2781582/cl=14/nw=1/rpsv/cw/vhosts/oecdjournals/1607310x/v1n4/contp1-1.htm) for:

- Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (Test Guideline No. 407; OECD, 1995a) (updated for endocrine effects, adopted in 2008; OECD, 2008)
- Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents (Test Guideline No. 408; OECD, 1998a)
- Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents (Test Guideline No. 409; OECD, 1998b)
- Chronic Toxicity Studies (Test Guideline No. 452; OECD,1981b)
- Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies (Test Guideline No. 453; OECD, 1981c).

ข้อมูลเพิ่มเติมสามารถดูรายละเอียดจากเอกสาร United States Environmental Protection Agency (USEPA) test guidelines (USEPA,1998d,e,f, 2000; และสามารถดูจาก http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonized/870_Health_Effects_Test_Guidelines/index.html), in the United States Food and Drug Administration (USFDA) Redbook 2000 (USFDA, 2000) and in Jacobson-Kram & Keller (2006)

การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบทั่วๆไปในร่างกาย ผลลัพธ์ที่ตรวจวัดสุดท้าย ได้แก่ การสังเกต, การทำงานตามหน้าที่, ชีวเคมีและพยาธิวิทยา โดยเป้าหมายในการทดสอบนั้นทำขึ้นเพื่อเป็นการประเมินว่าอวัยวะส่วนใดที่จะได้รับผลกระทบจากสารที่ทดสอบและได้รับผลกระทบอย่างไร การทดสอบที่ได้ทำตามวิธีการที่ดีที่มีความสัมพันธ์ในลักษณะเดียวกันกับการได้รับสัมผัสในมนุษย์ เช่น สารต่างๆที่ปรากฏอยู่ในอาหาร การให้สารในการศึกษาโดยสารจะถูกให้ในขนาดซ้ำๆแก่สัตว์ทดลองผ่านทางอาหารโดนการป้อนหรือผ่านทางน้ำดื่ม

ก) วิธีการทดสอบ

วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อระบบร่างกายทั่วไปจะเป็นการศึกษาสารเคมีในหลายๆขนาดของช่วงเวลาที่ได้รับ การเลือกระดับขนาดของสารอาจใช้ข้อมูลเบื้องต้นที่เคยมีการศึกษาทางพิษวิทยาของสารนั้นมาก่อน การทดสอบความเป็นพิษระยะยาวหรือพิษเรื้อรังสามารถเลือกระดับขนาดโดยอาศัยข้อมูลของการทดสอบระยะเวลาสั้นที่เคยทำการศึกษามาก่อน ทุกการศึกษาจะต้องมีกลุ่มควบคุมซึ่งมีการดำเนินการในการปฏิบัติต่อสัตว์เช่นเดียวกับกลุ่มทดสอบ เช่น วิธีการให้สารและตัวทำละลายสารต้องเหมือนกัน

การทดสอบสำหรับความเป็นพิษต่อระบบทั่วไปของร่างกายจะใช้วิธีการให้สารในขนาดที่ซ้ำกันในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน โดยการศึกษาทั่วๆไปจะใช้เวลา 14-28 วัน เป็นการประเมินความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน (subacute), 13 สัปดาห์ เป็นการประเมินความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง (subchronic), 52 สัปดาห์หรือมากกว่าเป็นการประเมินความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic)

การศึกษากระบวนการเกิดมะเร็งแบบใช้เวลา 2 ปีในหนูแรทมักจะถูกนำมาใช้ร่วมกับการศึกษาความเป็นพิษแบบใช้เวลา 1 ปี ทั้งนี้สามารถรวมการประเมินความเป็นพิษจากการศึกษาในกลุ่มย่อยได้

การกำหนดระยะเวลาที่กล่าวมานี้ไม่ได้ถูกกำหนดตายตัวสามารถใช้ระยะเวลาในการศึกษาสั้นหรือยาวกว่าได้ เช่น 7 วัน, 26 สัปดาห์หรือ 2 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงอายุขัยของสัตว์ที่นำมาทดลอง

ลำดับของการศึกษาให้ศึกษาโดยใช้การทดสอบระยะสั้นก่อนเพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะเลือกใช้วิธีการทดสอบและขนาดของสารที่เหมาะสมสำหรับที่จะทำการศึกษาต่อไปในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลลัพธ์สุดท้ายที่จำเพาะ

ข) การออกแบบการทดสอบและการอธิบายผลการทดสอบ

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการให้ปฏิบัติตามหลักการ Good Laboratory Practice (GLP) สามารถดูรายละเอียดได้ใน http://www.oecd.org/document/63/0,3343,en_2649_34381_2346175_1_1_1_1,00.html แต่ทั้งนี้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดทางกฎหมายของประเทศนั้นๆ ซึ่งครอบคลุมถึงการดูแล

สัตว์ทดลอง การกำหนดระบบของการทดสอบ ระบบคุณภาพ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดความมั่นใจในด้านการประเมินความเสี่ยง ประเด็นที่จะต้องนำมาพิจารณาในการออกแบบการทดสอบมีดังต่อไปนี้

- <u>สารที่นำมาทดสอบ</u>

  ให้อธิบายลักษณะดังต่อไปนี้ ระบุชนิดของสารเคมี ความบริสุทธิ์ ความคงตัว และคุณสมบัติอื่นๆ เช่น ความเป็นกรดด่าง (pH) และการละลาย ทั้งนี้ผู้ประกอบการจะต้องแสดงข้อมูลของสารอื่นที่มีการเติมลงไปในผลิตภัณฑ์เพื่อช่วยในกระบวนการผลิตซึ่งอาจมีผลต่อการดูดซึมภายในระบบทางเดินอาหาร

- <u>ชนิด จำนวน และเพศของสัตว์ที่นำมาทดสอบ</u>

  การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบทั่วๆไปในร่างกายจะใช้ 2 ชนิด คือ สัตว์กัดแทะและไม่ใช่สัตว์กัดแทะ หรือสามารถใช้สัตว์กัดแทะ 2 ชนิดได้เพื่อที่จะแสดงถึงความเป็นอันตรายสูงสุด โดยทั่วไปจะใช้หนูแรทและสุนัขแต่ก็สามารถใช้สัตว์ชนิดอื่น เช่น สุกรได้ หากการทดสอบนั้นทำการทดสอบกับสารที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากกระบวนการเผาผลาญไขมันในสุกรใกล้เคียงกับระบบเผาผลาญไขมันในมนุษย์มากที่สุด

  เพศของสัตว์ที่ใช้ทดสอบจะใช้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยให้มีจำนวนเท่ากันในแต่ละเพศสำหรับสัตว์ที่นำมาทดสอบในแต่ละชนิดเพื่อประเมินผลกระทบต่อระบบฮอร์โมนและความแตกต่างของระบบการเผาผลาญที่ต่างกันในแต่ละเพศ

  ให้พิจารณาความมีอายุยืนของหนูแรทบางสายพันธุ์ ประกอบด้วย หากเป็นการศึกษาเพื่ออธิบายผลระยะยาว ส่วนจำนวนสัตว์ที่ใช้มีข้อแนะนำดังนี้ การศึกษาที่ใช้เวลา 13 สัปดาห์จะใช้สัตว์กัดแทะจำนวน 20 ตัวต่อเพศต่อกลุ่ม หรือใช้สุนัข 4 ตัวเป็นอย่างน้อยต่อเพศต่อกลุ่ม สามารถใช้สัตว์ทดลองจำนวนมากกว่านี้ได้หากมีการชันสูตรซากเป็นช่วงๆ

  การเลือกกลุ่มของสัตว์ทดลองให้ใช้วิธีการสุ่มเพื่อลดอคติ และลดความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม เช่น ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวและช่วงน้ำหนักตัวของหนูทั้งกลุ่มไม่ควรจะแตกต่างกันมากเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น

- <u>การเลือกขนาด</u>

  ขนาดที่ใช้ในการทดสอบให้ใช้เป็น 3-5 ระดับของสารที่ต้องการทดสอบโดยขนาดที่ใช้จะต้องสัมพันธ์กับระดับความเป็นพิษของการได้รับสัมผัสรวมทั้งมีกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ปริมาณที่สัตว์ได้รับจะต้องสัมพันธ์กับผลที่แสดงออกต่อสัตว์หรือที่เรียกว่า does-response ตัวอย่างขนาดที่เหมาะสมคือ ขนาดสูงสุดจะต้องทำให้น้ำหนักของสัตว์ทดลองลดลงร้อยละ 10 และขนาดที่ต่ำสุดจะต้องไม่แสดงความเป็นพิษต่อสัตว์ ทั้งนี้ขนาดที่อยู่ระหว่างต่ำสุดและสูงสุดมีผลทำให้น้ำหนักของสัตว์ทดลองลดลงร้อยละ 5 การที่จะกล่าวได้ว่าสารที่นำมาทดสอบนั้นไม่มีความเป็นพิษขนาดสูงสุดที่นำมาศึกษาจะต้องถูกเติมลงไปในอาหารเป็นปริมาณอย่างต่ำร้อยละ 5

- <u>วิธีการให้สาร</u>

สำหรับการประเมินความเสี่ยงของสารเคมีในอาหาร การออกแบบการศึกษาจะต้องให้สัตว์ทดลองได้รับทางปากโดยการกิน ในขณะที่สารปนเปื้อนอาจถูกทดสอบโดยการให้สารทางอื่นที่นอกเหนือจากการกินด้วยเหตุผลทางด้านจรรยาบรรณ แต่ทั้งนี้ต้องนำข้อมูลการให้สารทางอื่นมาเปรียบเทียบโดยใช้หลักการพิษจลนศาสตร์มาพิจารณาร่วมด้วย

การศึกษาวัตถุเจือปนอาหาร สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือ ทั้งกลุ่มสัตว์ทดลองที่ทำการทดลองและกลุ่มควบคุมจะต้องได้รับเหมือนกันคือ คุณค่าทางโภชนาการที่เพียงพอ สัดส่วนของสารที่นำมาทดสอบที่อยู่ในอาหารตัวทำละลายสาร เป็นต้น การควบคุมปริมาณให้ได้รับเท่ากันโดยใช้ pair-feeding

หากรสชาติยากต่อการยอมรับของสัตว์ทดลองสามารถนำสารที่ต้องการทดสอบไปบรรจุในแคปซูลเพื่อให้สัตว์ทดลอง เช่น สุนัขกินได้ หรือให้ผ่านท่อ (intubation) เพื่อให้ได้รับปริมาณตามที่ต้องการหรือสารที่ทดสอบเป็นสารที่ระเหยได้ง่ายสามารถบรรจุในแคปซูลได้เช่นกัน หากสารที่ต้องการทดสอบเป็นสารที่ต้องการจะนำไปใช้ในเครื่องดื่มสามารถนำไปผสมกับน้ำดื่มให้สัตว์ทดลองได้แต่ต้องตรวจสอบปริมาณที่สัตว์กินจริงให้ถูกต้อง

ค) <u>การสังเกตพฤติกรรมและอาการของสัตว์และการวัด</u> (Observations and measurements)

ตัวชี้วัดความเป็นพิษ ได้แก่ อัตราการตาย สังเกตพฤติกรรมและอาการของสัตว์ ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีของเลือด ตรวจดูลักษณะของอวัยวะต่างๆ การตรวจทางพยาธิวิทยา และการประเมินการทำงานของระบบร่างกาย รายละเอียดต่างๆมีดังต่อไปนี้

1. <u>อัตราการตาย</u> (Mortality) จำนวนสัตว์ทดลองที่ตายมากกว่าร้อยละ 10 ไม่ว่าจะพบในกลุ่มทดลองหรือกลุ่มควบคุมกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งเป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึง ยกเว้นในการศึกษาแบบตลอดช่วงชีวิตสัตว์ทดลอง (lifetime) ซึ่งอัตราการตายที่สูงในกลุ่มที่ได้รับสารในขนาดสูงอาจจะเป็นการบ่งบอกว่ามีการเลือกขนาดที่ใช้ในการทดสอบที่ไม่เหมาะสม อัตราการตายที่สูงทำให้การเปลี่ยนแปลงของการทำลายเซลล์ (autolysis) ของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆเพิ่มขึ้น เป็นผลทำให้ได้ข้อมูลที่ไม่มีความสมบูรณ์ นอกจากนี้ ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการอภิปรายผล เช่น อัตราการตายที่สูงอาจเป็นผลมาจากภาวการณ์ติดเชื้อหรือปัญหาอื่นๆที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับสารที่ทดสอบจะต้องนำมาพิจารณาร่วมด้วย
2. <u>การสังเกตพฤติกรรมและอาการของสัตว์</u> การสังเกตอาการข้างกรง (cage-side observations) ควรทำเป็นประจำอย่างน้อยวันละ 1-2 ครั้งในสัตว์ทดลองทุกตัวตลอดการศึกษาเพื่อประเมินลักษณะอาการทั่วไปของสารเคมีที่ทดสอบต่อผลทางเภสัชวิทยา หรือผลกระทบทางด้านพิษวิทยา เพื่อประเมินภาวการณ์เจ็บป่วยและการเสียชีวิตที่เกิดขึ้น สามารถสังเกตอาการที่แสดงออกที่กว้างขึ้น เช่น การประเมินสุขภาพโดยรวมของสัตว์ทดลอง ซึ่งอาจส่งผลให้มีการปรับเปลี่ยนแบบแผนการทดลองหรือวิธีการทดลอง เช่น กรณีที่สัตว์มี

อาการชักอาจแสดงถึงความเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง ดังนั้นควรมีการเพิ่มเติมการทดสอบพิษต่อระบบประสาทของสารนั้น

3. ข้อมูลน้ำหนักตัวและปริมาณการบริโภค (Body weight and feed intake data) โดยหลักพื้นฐานทั่วไปทั้งในกลุ่มสัตว์ทดลองที่ทำการทดสอบและกลุ่มควบคุมจะถูกชั่งน้ำหนักสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 13 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะชั่งน้ำหนักเดือนละ 1 ครั้ง และทำการบันทึกปริมาณการบริโภคของสัตว์ตลอดการศึกษา การลดลงของน้ำหนักหรืออัตราการเพิ่มน้ำหนักที่ลดลงของสัตว์ทดลองเป็นภาวะที่ไวในการบ่งบอกความเป็นพิษ
4. ด้านจักษุวิทยา (Ophthalmology) การตรวจสอบตาในสัตว์ทดลองทุกตัวจะถูกตรวจสอบเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการศึกษา ถึงแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงทางด้านจักษุวิทยาไม่แสดงให้เห็นบ่อย แต่เป็นสิ่งสำคัญของการประเมินความเป็นพิษของอาหารและอาหารสัตว์ที่มีส่วนผสมของ canthaxanthin (FAO/WHO, 1995)
5. ด้านโลหิตวิทยา (Haematology) ตัวอย่างเลือดที่จะทำการตรวจสามารถเจาะในสภาวะที่สัตว์ทดลองอดหรือไม่อดอาหารที่ช่วงเวลาที่แตกต่างกันในระหว่างการศึกษา โดยทั่วไปสำหรับการศึกษาทางด้านการเกิดพิษเรื้อรังจะตรวจวัดตอนเริ่มต้น ระหว่างช่วงใดช่วงหนึ่งของการศึกษาและเมื่อสิ้นสุดการศึกษา โดยจะทำการวัดค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (haematocrit), ความเข้มข้นของเลือด (haemoglobin concentration), จำนวนเม็ดเลือดแดง (erythrocyte count), จำนวนของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดและจำนวนต่อชนิดของเม็ดเลือดขาว (total and differential leukocyte counts), ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular haemoglobin) รวมทั้งประเมินศักยภาพในการแข็งตัวของเลือด (clotting time, prothrombin time, thromboplastin time) และจำนวนของเกล็ดเลือดที่ถูกวัด การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน (Reticulocyte) และการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ ไขกระดูกเป็นการประเมินว่าระบบการสร้างเม็ดเลือดได้รับความเสียหาย

ในการอธิบายผลอาจจะยาก เนื่องจากมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้ ความเครียด ภาวะโภชนาการและอายุของสัตว์ สัตว์อาจมีการปรับตัวให้สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงได้

6 ค่าทางเคมีคลินิก (Clinical chemistry) การทดสอบทางเคมีคลินิกทั่วไป เช่น การวัดความสมดุลของระดับอีเล็กโทรไลต์, กระบวนการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและการทำงานของตับและไต การวัดระดับเอนไซม์ในซีรั่มที่บ่งบอกภาวะการทำงานของตับโดยการประเมินค่า alanine aminotransferase (ALT, ก่อนหน้านี้ที่รู้จักคือ serum glutamate–pyruvate transaminase, or SGPT), aspartate aminotransferase (AST, ก่อนหน้านี้ที่รู้จักคือ serum glutamate–oxaloacetate transaminase, or SGOT), sorbitol dehydrogenase and glutamate dehydrogenase ส่วนการประเมินการทำงานของ ระบบถุงน้ำดีในตับจะทำการประเมินโดยการวัด serum alkaline phosphatase, bilirubin(total), gamma-

glutamyl transpeptidase (GGT), 5′-nucleotidase and total bile acids สิ่งที่บอกถึงการทำงานหรือการเปลี่ยนแปลงของระบบเซลล์ คือ การวัดระดับอัลบูมิน, แคลเซียม, คลอไรด์, คลอเรสเตอรอลโดยรวม, cholinesterase, creatinine, globulin(calculated), ระดับกลูโคสในสัตว์ทดลองที่อดอาหาร, ฟอสฟอรัส, โปแตสเซียม, โปรตีน, โซเดียม, ไตรกลีเซอไรด์ในสัตว์ทดลองที่อดอาหาร ยูเรียไนโตรเจน และการทดสอบอื่น เช่น สมดุลกรด-ด่าง ฮอร์โมน ลิปิด methaemoglobin

การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ในซีรั่มจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดความเป็นพิษต่ออวัยวะเป้าหมาย เพราะเอนไซม์จะถูกปล่อยจากเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆทางเคมีคลินิกอาจจะเป็นสัญญาณที่บ่งบอกความเป็นพิษที่เกิดขึ้นต่อไต,หัวใจหรือตับ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของอวัยวะเช่น ตับและไต โดยที่อาจไม่พบความเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา การเปลี่ยนแปลงเอนไซม์จำนวนหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดความเป็นพิษต่อหัวใจ เช่น การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ AST, lactate dehydrogenase and creatinine kinase การเปลี่ยนแปลงลิปิดในพลาสม่าอาจจะบ่งบอกความเป็นพิษต่อตับในขณะที่ระดับของน้ำตาลในเลือดบ่งบอกถึงความเป็นพิษต่อไต

การวัดระดับของสารที่ถูกทดสอบในตัวอย่างเลือดสามารถเป็นข้อมูลที่บ่งบอกการได้รับสัมผัสของร่างกาย การดูดซึมและระบบการเผาผลาญเป็นปัจจัยสำคัญในการประเมินว่าสารที่ทดสอบปริมาณเท่าไรที่จะเข้าสู่ระบบการไหลเวียนของร่างกาย พิษจลนศาสตร์เป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกายจะบ่งบอกการเคลื่อนที่ของสารไปทั่วร่างกายและบริเวณที่สารนั้นออกฤทธิ์ พิษจลนศาสตร์เป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกายของการทดสอบระยะสั้นจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการออกแบบการทดลองในระยะยาวต่อไป

7 <u>การวิเคราะห์ผลปัสสาวะ</u> (Urinalyses) ประกอบไปด้วยการประเมินปริมาณของปัสสาวะที่ผลิตขึ้นมา, ความถ่วงจำเพาะ, ค่ากรด-ด่าง, กลูโคสและโปรตีน การตรวจประเมินตะกอนและการตรวจเลือดหรือเซลล์เม็ดเลือดที่ปรากฏในปัสสาวะโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ การวิเคราะห์นี้จะทำในช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการศึกษา การวิเคราะห์ปัสสาวะและอุจจาระ ทำให้ได้ข้อมูลสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงการทำงานระบบขับถ่ายเนื่องมาจากสารเคมี

8 <u>การชันสูตรซาก</u> (Necropsy) การชันสูตรซากอย่างคร่าวๆจะเป็นการตรวจผิวภายนอก, orifices, cranial, ช่องอกและช่องท้อง, ซากและอวัยวะทั้งหมดควรจะทำทันทีหลังจากสัตว์ถูกฆ่าหรือพบว่ามีการตาย การอธิบายผลจะไม่สามารถยอมรับได้หากเกิดการขาดหายไปของเนื้อเยื่อที่มีสาเหตุมาจาก autolysis เนื้อเยื่อที่นำมาทดสอบทางพยาธิวิทยาจะต้องถูกทำให้คงสภาพความสมบูรณ์โดยใช้น้ำยาที่ทำให้เนื้อเยื่อสามารถคงสภาพอยู่ได้

9 <u>การชั่งน้ำหนักอวัยวะ</u> (Organ weight) อวัยวะทุกส่วนรวมทั้ง ต่อมหมวกไต, สมอง, epididymides, หัวใจ, ไต, ตับ, ปอด, ม้าม, ถุงอัณฑะ, ต่อมธัยรอยด์/พาราธัยรอยด์, ต่อมไทมัส, รังไขและมดลูก จะถูกชั่งน้ำหนัก ข้อมูลที่แสดงจะเป็นน้ำหนักของแต่ละอวัยวะเทียบ

กับน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง อัตราส่วนของน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักสมองของสัตว์ทดลองอาจจะเป็นข้อบ่งชี้ถึงความเป็นพิษโดยตรงต่ออวัยวะที่น่าเชื่อถือได้มากว่าอัตราส่วนของน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักร่างกายของสัตว์ทดลอง ทั้งนี้เป็นเพราะว่าน้ำหนักสมองจะได้รับผลกระทบที่ไม่เฉพาะเจาะจงจากการเกิดพิษ ในขณะที่น้ำหนักร่างกายมีการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าเนื่องมาจากผลของการเกิดพิษ น้ำหนักของอวัยวะที่เปลี่ยนแปลงอาจจะเป็นตัวบ่งชี้ของการเปลี่ยนรูปร่างหรือการทำงานที่ผิดปกติ

10 การตรวจสอบลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (Histological examination) เมื่อพบว่ามีผลกระทบจากการเกิดพิษต่อระบบร่างกายเกิดขึ้น จะต้องมีการตรวจสอบลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ในกลุ่มที่ทำการศึกษาด้วยขนาดจนถึงระดับขนาดที่ไม่พบว่ามีผลกระทบปรากฏให้เห็น สัตว์ทดลองหากพบว่ามีการตายหรือมีการยุติในช่วงต้นของการศึกษาจะต้องมีการตรวจสอบลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาด้วย ในกรณีที่จำนวนสัตว์ที่ใช้การศึกษาน้อย เช่น สุนัข จะต้องมีการตรวจสอบทั้งในกลุ่มควบคุมและทุกกลุ่มที่ได้รับสาร

3.4 ความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)

ความเป็นพิษเฉียบพลัน หมายถึงผลของการตอบสนองของอวัยวะที่ซึ่งสังเกตการณ์ได้ในระยะเวลาสั้นหลังจากสัตว์ได้รับสัมผัสสารเคมีที่เป็นการสัมผัสเพียงครั้งเดียวหรือขนาดเดียว หรืออาจจะเป็นการได้รับสัมผัสหลายครั้งหรือหลายขนาดภายในช่วงเวลาที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 24 ชั่วโมง ซึ่งในกรณีหลังจะพบได้ค่อนข้างน้อย ผลที่ปรากฏในสัตว์มีความรุนแรงมากจนถึงขั้นเสียชีวิต ตามรูปแบบการประเมินความเป็นพิษเฉียบพลันจะต้องมีการจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงอย่างสม่ำเสมอในช่วงระยะเวลา 14 วัน หลังจากสัตว์ได้รับสารเคมีนั้น ในด้านความสัมพันธ์เกี่ยวกับสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในอาหาร การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันจะไม่ได้ถูกนำมาใช้มากนักในการแสดงถึงอันตราย (Hazard identification) หรือการประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) ทั้งนี้เนื่องจากการได้รับสัมผัสของมนุษย์มักได้รับในระดับต่ำและต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานมากกว่าการได้รับสัมผัสจากสารเคมีแบบพิษเฉียบพลัน อย่างไรก็ตามการได้รับสัมผัสในคนที่ทำให้เกิดพิษในขนาดที่ต่ำกว่าที่จะแสดงพิษเฉียบพลันก็สามารถนำมาใช้ประเมินความเสี่ยงได้ บางครั้งในสถานการณ์แวดล้อมที่นานๆจะปรากฏขึ้นสักครั้ง เช่น ความเป็นพิษเฉียบพลันที่เกิดจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (pesticide) หรือการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ (microbial) ที่ตกค้างอยู่ในระดับสูงและส่งผลกระทบอย่างรุนแรงและเฉียบพลันก็ยังมีความจำเป็นที่จะต้องประเมินความเสี่ยง

โดยปกติ JECFA และ JMPR จะพิจารณาความเป็นพิษของสารเคมีในอาหารและกำหนดค่า Acceptable daily intake (ADIs) หรือ Tolerable daily intakes (TDIs) บนพื้นฐานของข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทางพิษวิทยาที่ให้สารขนาดซ้ำๆ (repeated-does) เช่น การศึกษาการเกิดพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) หรือการศึกษาในหลายรุ่น (multigeneration studies) สารบางชนิดที่ปนเปื้อนอยู่ก็ส่งผลกระทบต่อสุขภาพแบบเฉียบพลันในระยะเวลาอันสั้นได้เช่นกัน เช่น โลหะหนัก สารพิษจากเชื้อรา สารพิษจากพืช/สัตว์น้ำ ยาสัตว์ตกค้าง สารเคมีกำจัดแมลงตกค้าง หรือ คาร์โบไฮเดรตชนิดให้พลังงานต่ำ เช่น สาร

ให้ความหวาน polyol เป็นต้น ทั้งนี้ JECFA จะรวมการประเมินความเป็นพิษเฉียบพลันของ ดีบุกในรูปอนินทรีย์ด้วย และหากมีความเป็นไปได้จะคำนึงถึงพิษเฉียบพลันที่เกิดในคนที่มีความไวหรือแพ้สารบางประเภทด้วย

3.5 ความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity)

<u>การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Tests for genetic toxicity)</u>

การระบุว่าสารใดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ต่อเซลล์สืบพันธุ์ (germ cell) เป็นสิ่งที่ทำได้ยาก และการศึกษาในเชิงปริมาณ (quantitative studies) ยังคงต้องใช้สัตว์จำนวนมากในการทดสอบ ในทางตรงกันข้ามในการระบุสารที่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ในเซลล์ร่างกาย (somatic cell) สามารถทำได้โดยทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) หรือถ้าหากเป็นการศึกษาในสัตว์ทดลองก็ใช้จำนวนของสัตว์เพียงเล็กน้อย เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานว่าสารใดที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ต่อเซลล์สืบพันธุ์จะไม่ส่งผลต่อเซลล์ร่างกายด้วย ดังนั้นจึงอนุมานได้ว่าการประเมินความเสี่ยงของสารก่อกลายพันธุ์ต่อเซลล์ร่างกาย จะให้ผลก่อกลายพันธุ์ต่อเซลล์สืบพันธุ์ได้เช่นกัน

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมสามารถจัดเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. <u>การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genetic toxicology test)</u> ที่ประเมินหรือวัด***ชนิดของการทำลาย DNA (DNA damage)*** ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นจุดเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรม เช่น การทดสอบDNA adduct และ DNA strand breaks หรือ***ทดสอบการตอบสนองของเซลล์ต่อ DNA ที่ถูกทำลาย*** เช่น การทดสอบ unscheduled DNA synthesis
2. <u>การทดสอบการก่อกลายพันธุ์ (Mutagenicity test)</u> ที่ประเมินหรือวัด***การแสดงออกของหน่วยพันธุกรรมที่ถูกทำลาย*** เช่น การกลายพันธุ์ของหน่วยพันธุกรรม (gene mutation), การขาดหายหรือการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มเติมใหม่ของโครโมโซม (chromosome rearrangements or deletions) และ การสูญหายหรือการเพิ่มขึ้นของชิ้นส่วนของโครโมโซมหรือทั้งโครโมโซม ซึ่งแบบที่เกิดการสูญหายหรือการเพิ่มจำนวนขึ้นของโครโมโซมจะเรียกว่า aneuploidy

การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมที่ถูกนำมาใช้โดยทั่วไป แสดงใน**ตารางที่ 1**

ตารางที่ 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Assay for genetic toxicology)

DNA damage/repair	Gene mutation	Chromosomal damage
In vitro assays	*In vitro* assays	*In vitro* assays
- DNA adduct measurement using cell cultures - Unscheduled DNA synthesis using primary cultures (often hepatocytes) - DNA strand breakage and alkali-labile sites monitored by single-cell gel electrophoresis (comet assay) or by sucrose gradient or filter elution, using cell cultures	***Microbial tests*** Reversion to a specific nutrient independence using: • *Salmonella typhimurium* • *Escherichia coli* Forward mutation to resistance to a specific anti-metabolite using: • *Salmonella typhimurium* • *Escherichia coli* ***Mammalian tests*** Forward mutation at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (*hprt*) gene using cell lines such as: • Chinese hamster ovary (CHO) • Chinese hamster lung (V79) • Human lymphocytes	Sister chromatid exchange (SCE) Chromosomal aberrations, micronuclei and aneuploidy using: • CHO and V79 cell lines and human lymphocytes

ตารางที่ 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Assay for genetic toxicology) (ต่อ)

DNA damage/repair	Gene mutation	Chromosomal damage
***In vitro* assays**	***In vitro* assays**	***In vitro* assays**
	Forward mutation at the thymidine kinase (*tk*) gene using cell lines such as: • Mouse lymphoma L5178Y • *cII* and *lacI* transgenes in cultured Big Blue® mouse and rat embryonic fibroblasts	
***In vivo* assays**	***In vivo* assays**	***In vivo* assays**
- DNA adduct measurement - Unscheduled DNA synthesis (usually in liver) - Strand breakage and alkalilabile sites monitored by singlecell gel electrophoresis (comet assay) or by sucrose gradient or filter elution in tissue DNA	Somatic cell assays: • *LacZ* (Muta™Mouse) or *lacI or cII* (Big Blue® mouse or rat) Germline cell assays: • Specific locus test in mice	Somatic cell assays: • SCE Chromosomal aberrations, micronuclei and aneuploidy using: • Bone marrow cells and lymphocytes (rodent) Germline cell assays: • Chromosomal aberrations, heritable translocations and dominant lethals using mice and rats

ทั้งนี้ยังรวมถึง

- การทดสอบการกลายพันธุ์ของยีนโดยใช้แบคทีเรีย (gene mutation in bacteria)
- การทดสอบการกลายพันธุ์ของยีนโดยใช้ cell lines (gene mutation in mammalian cell lines)
- การทดสอบความผิดปกติของโครโมโซม (chromosomal aberrations) รวมทั้งไมโครนิวเคลียส (micronuclei) และการเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซม (aneuploidy) ใน cultured mammalian cells
- การทดสอบการทำลาย DNAใน primary cultures ของ mammalian cells โดยปกติใช้ rat hepatocytes
- การทดสอบในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo* tests) สำหรับการตรวจวัดการทำลาย DNA เช่น DNA binding, unscheduled DNA synthesis ในตับหรือ comet assay ในเนื้อเยื่อต่างๆ
- การทดสอบในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo* tests) สำหรับวัดการทำลายของโครโมโซม รวมทั้งการทดสอบการเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์สร้างเม็ดเลือดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian haematopoietic cells)
- การทดสอบในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo* tests) สำหรับการกลายพันธุ์ของยีน

วิธีการทดสอบที่มีการใช้กันน้อยมีสาเหตุมาจากมีข้อจำกัดในการปฏิบัติตามมากได้แก่ การใช้ยีสต์, รา และแมลงหวี่ (*Drosophila*) เป็นต้น

ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่ได้จากผลการทดสอบอีกแบบหนึ่งที่ทำการศึกษานอกสัตว์ทดลองและมีผลต่อการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ไปจากเดิม *(in vitro* cell transformation) นั้นแล้วให้ผลบวกในการทดสอบแบบนี้ ไม่ได้เป็นการบอกว่าสารนั้นเข้าไปทำปฏิกิริยากับ DNA โดยตรงแต่อาจเป็นผลสืบเนื่องจาก epigenetic (ซึ่งกระทบต่อพันธุกรรมในเซลล์ progeny หรือกระทบต่อการทำงานของโครโมโซม หรือยีนโดยไม่ได้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลำดับของนิวคลิโอไทด์ของ DNA)

ความเป็นพิษที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของสารควรจะมีข้อมูลเกี่ยวกับความสามารถที่จะก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของหน่วยพันธุกรรม (gene mutations) ความผิดปกติของโครงสร้างโครโมโซม (structural chromosomal aberrations) และความผิดปกติของจำนวนโครโมโซม (aneuploidy) ซึ่งวิธีการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์แบบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) ที่เป็นการทดสอบที่ดีสามารถครอบคลุมผลลัพธ์ของความผิดปกติทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันได้นั้น มีจำนวนน้อย ดังนั้นจึงต้องใช้การทดสอบแบบชุดที่เรียกว่า การทดสอบแบตเตอรี่ (test batteries) คือมีหลายการทดสอบเพื่อยืนยัน ทั้งนี้ test batteries จะรวมการทดสอบการก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย เช่น the *Salmonella/*microsome assay และมีการทดสอบอีกหนึ่งหรือสองวิธีที่ทำการทดสอบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพื่อดูการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) หรือการทำลายโครโมโซม (clastogenicity/aneugenicity)

หากผลจากการทดสอบนอกสัตว์ทดลองในชุดการทดสอบแบตเตอรี่ (*in vitro* test battery) ให้ผลลบหรือไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ผลลัพธ์นั้นจะถูกพิจารณาว่าเพียงพอต่อการสรุปว่าสารนั้นเป็นสารที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (genotoxic) นอกจากว่ามีเหตุผลที่จะต้องคำนึงถึงเป็นพิเศษ เช่น การได้รับสัมผัสของมนุษย์ที่ทนได้หรือการได้รับสัมผัสของมนุษย์ในระดับสูง และการพิจารณาโครงสร้าง แต่ในทางตรงกันข้ามหากมีผลการทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) เพียงหนึ่งการทดสอบหรือมากกว่านั้นให้ผลบวกจะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษในสิ่งมีชีวิตต่อไปด้วย โดยในการเลือกการทดสอบในสิ่งมีชีวิตที่เหมาะสมควรจะพิจารณาเป็นกรณีไปเพื่อนำไปใช้ในการอธิบายผลของการทดสอบนอกสัตว์ทดลองที่เกิดขึ้นแล้ว และเพื่อเป็นข้อมูลของสารเกี่ยวกับพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetics) และพิษพลศาสตร์ (toxicodynamics)

สำหรับสารที่มีผลการทดสอบเกี่ยวกับระบบร่างกายที่เพียงพอแล้ว จะต้องทำการทดสอบ erythropoietic ในสัตว์กัดแทะหรือเซลล์ตับด้วย หากสารใดเมื่อเข้าจับแล้วสลายตัวไปในระยะเวลารวดเร็วก็จำเป็นต้องทดสอบความเป็นพิษต่อบริเวณที่สารนั้นสัมผัสครั้งแรกด้วย

<u>การประเมินผล</u>

การประเมินว่าสารใดเป็นสารพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (genotoxic) จากการทดสอบต่างๆสามารถใช้หลักในการตัดสินดังต่อไปนี้

1. แสดงผลบวกคือแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เพียง 1 การทดสอบถึงแม้ว่าการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆที่ให้ผลสุดท้ายที่ต้องการวัด (end point) แบบเดียวกันจะให้ผลเชิงลบ (ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์) ก็เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าสารนั้นเป็นสารก่อกลายพันธุ์

2. หากทำการทดสอบหลายวิธีโดยแต่ละวิธีต้องการวัดผลสุดท้าย (end point) แบบเดียวกัน หรือการทดสอบด้วยวิธีเดียวกันแต่ทำการทดลองจากห้องปฏิบัติการต่างกัน แต่เมื่อผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเดียวกันให้ผลออกมาในทางตรงกันข้าม จะต้องทำการประเมินการออกแบบการทดลอง (study design) ที่ทำไปแล้วว่ามีการออกแบบที่ครอบคลุมหรือถูกต้องครบถ้วนรวมถึงพิจารณาการทำการทดสอบซ้ำว่าให้ผลเหมือนกันกับครั้งแรกหรือไม่(reproducibility) และศึกษาผลด้านชีวภาพที่อาจกระทบต่อผลการทดลองด้วย ทั้งนี้การดำเนินการทดลองที่ดีนั้นควรเลือกวิธีดำเนินการทดลองโดยอ้างอิงวิธีทดสอบที่เป็นมาตรฐานตามข้อแนะนำของ Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) ทั้งนี้สามารถดูรายละเอียดได้ที่ http://masetto.sourceoecd.org/vl=2781582/cl=14/nw=1/ rpsv/cw/vhosts/oecdjournals/1607310x/v1n4/contp1-1.htm).

3. การประเมินผลในลำดับต่อไปให้พิจารณาผลจากการทดสอบที่ใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูผล (cytogenetic assays) ทั้งแบบการทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) และภายในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ทั้งนี้อาจพิจารณาเลือกใช้การทดสอบภายในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) เลยก็ได้ เพราะมีรายงานสรุปว่าสารที่ไม่แสดงฤทธิ์ในการทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม (clastogenicity) เมื่อทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) สามารถแสดงฤทธิ์ในการทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม (clastogenicity)

เมื่อทดสอบในร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ได้ เช่น *in vivo* bone marrow (Thompson, 1986) นอกจากนี้ผลการทดสอบการแตกหักของโครโมโซม (clastogenicity) ของเซลล์ร่างกาย (somatic cell *in vivo* cytogenetic assay) เพียงอย่างเดียวก็สามารถสรุปได้ว่าสารนั้นมีฤทธิ์ชักนำการแตกหักของโครโมโซมครอบคลุมทั้งเซลล์ร่างกาย (somatic cell) และเซลล์สืบพันธุ์ (germline cell) หรือหากพบว่าสารนั้นไม่มีฤทธิ์ชักนำการแตกหักของโครโมโซมของเซลล์ร่างกาย (somatic cell)ก็จะไม่มีผลชักนำการแตกหักของโครโมโซมของเซลล์สืบพันธุ์ (germline cell) เช่นกัน ที่สามารถสรุปแบบนี้ได้เพราะมีรายงานสรุปได้ว่าความผิดปกติที่เกิดกับเซลล์สืบพันธุ์ (germline cell) จะแสดงออกต่อเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ด้วย (Holden, 1982) โดยมีองค์กรสนับสนุนดังต่อไปนี้ the US Environmental Protection Agency (USEPA) และ the European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC) ส่วนการทดสอบการกลายพันธุ์ของยีนในร่างกายสิ่งมีชีวิต *(in vivo* gene mutation) ที่เกิดขึ้นในกลุ่มเซลล์ที่จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (germline cell) ก็มีรายงานว่าสามารถแสดงผลต่อการแตกหักของโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ (clastogenic in germ cell) ด้วยเช่นกัน โดยอ้างอิงผลการทดสอบด้วยวิธี mouse specific locus จาก the National Toxicology Program (NTP) ของสหรัฐอเมริกา ดังนั้นจึงสามารถอ้างอิงผลการทดสอบการแตกหักของโครโมโซมของสารนั้นได้เลย

<u>ความสัมพันธ์ระหว่างพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (genetic toxicology) กับการเกิดมะเร็ง (carcinogenicity)</u>

การนำผลที่ได้จากการทดสอบพิษต่อหน่วยพันธุกรรมที่ทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro* genetic toxicology) ในหลายๆวิธีมาเทียบเคียงกับการเกิดมะเร็งในสัตว์กัดแทะ (rodent carcinogenicity) นั้น the national toxicology program (NTP) และ the United States National Cancer Institute (USNCI) ได้ให้ข้อพิจารณาดังนี้ การเปรียบเทียบให้คำนึงถึง ความไว(sensitivity), และความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบเป็นหลักก่อนแล้วจึงพิจารณา concordance, positive predictivity and negative predictivity, ตามที่Cooper และคณะได้ระบุไว้ในปี 1979 (Cooper et al.,1979) หากสารก่อมะเร็งสามารถให้ผลบวกคือแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อการทดสอบพิษต่อหน่วยพันธุกรรมที่ทำการทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro* genetic toxicology) ได้แสดงว่ามีความไว(sensitivity)ที่ดีและสารที่ไม่ก่อมะเร็งแสดงผลลบคือไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อการทดสอบพิษต่อหน่วยพันธุกรรมที่ทำการทดสอบนอกสัตว์ทดลอง (*in vitro* genetic toxicology) แสดงว่ามี ความจำเพาะ (specificity) ที่ดี

การทดสอบโดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella* ด้วยวิธีที่เรียกว่า *Salmonella/*microsome test มีค่าความไว(sensitivity) เท่ากับ 90% ในขณะที่ความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 87% จากการตรวจสอบสารก่อมะเร็ง 283 ชนิด (Ames et al., 1975) ส่วนชุดการทดสอบแบตเตอรี่นอกสัตว์ทดลอง (*in vitro* test battery) ที่ได้นำมาใช้เป็นพื้นฐานสำหรับทดสอบพิษต่อหน่วยพันธุกรรม ประกอบด้วย *Salmonella/*microsome test, mouse lymphoma $tk^{+/-}$ test และความผิดปกติของโครโมโซม (chromosome aberration/micronucleus) ทั้งนี้เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างสารก่อมะเร็งและสารที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็งในสัตว์กัดแทะซึ่งทดสอบสารเคมี 700 ชนิด พบว่าการทดสอบทั้ง 3 วิธีมีความไว

(sensitivity) ที่ดี แต่ยังคงมีค่าความจำเพาะ (specificity) ที่ไม่เพียงพอซึ่งยังคงมีผลบวกที่ผิดพลาด (false positive) คือผลการทดสอบให้ผลเชิงบวกว่าสารนั้นเป็นสารก่อมะเร็งด้วยวิธีที่ทำการทดสอบในระบบเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ในความเป็นจริงแล้วสารนั้นไม่เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ดังนั้นการทำความเข้าใจกับกลไกการออกฤทธิ์ประกอบการพิจารณาน้ำหนักหลักฐานจะต้องนำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของสารที่ถูกทดสอบโดยวิธีทดสอบพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (genotoxicity testing)

3.6 การก่อมะเร็ง (Carcinogenicity)

การศึกษาการก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพการก่อมะเร็งในมนุษย์ ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่ารูปแบบหรือกลไกการออกฤทธิ์ของการก่อมะเร็งมีสองแบบ คือ 1. กลไกที่เกิดความเป็นพิษต่อยีน (genotoxic) โดยสารเคมีที่เป็นสารก่อมะเร็งเข้าทำปฏิกิริยากับหน่วยพันธุกรรมคือ ดีเอ็นเอ และ 2. กลไกที่ไม่ได้เกิดความเป็นพิษต่อยีนซึ่งเป็นผลกระทบระดับเซลล์ หรือจากเซลล์อื่นๆ ดังนั้นด้วยกลไกที่ต่างกันนี้จึงมีผลต่อการอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) ที่ต่างกัน หลักการของกระบวนการเกิดมะเร็งประกอบด้วยขั้นตอนของการที่สารตั้งต้นเข้าจับกับดีเอ็นเอหรือสารตั้งต้นไปมีผลต่อดีเอ็นเอ และมีกระบวนการส่งเสริมการเกิดมะเร็งซึ่งมักเกิดจากสารก่อมะเร็งที่ไม่ได้มีผลต่อดีเอ็นเอโดยตรง ซึ่งแนวคิดนี้ถูกพัฒนามาจากการศึกษาในหนูเม้าส์เพื่อศึกษากระบวนการเกิดมะเร็งผิวหนัง หรือกระบวนการที่มีหลายขั้นตอนซึ่งในปัจจุบันทราบกันดีแล้วว่าเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิด

กลไกการออกฤทธิ์ของการก่อมะเร็งทั้ง 2 แบบมีรายละเอียด ดังนี้

1. <u>กลไกที่สารก่อมะเร็งกระทบต่อหน่วยพันธุกรรมหรือการจับกับดีเอ็นเอ</u>

การเปลี่ยนแปลงของหน่วยพันธุกรรมที่ถูกชักนำโดยสารก่อมะเร็งเป็นหลักการพื้นฐานของการเกิดมะเร็งและสำหรับสารประกอบที่เป็น alkylating ซึ่งเกิดจากความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาของสารกับดีเอ็นเอแล้วเกิดสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารที่ชอบอิเลคตรอน (electrophilic) แล้วเข้าจับกับดีเอ็นเอ สารก่อมะเร็งที่มีกลไกแบบนี้มักเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ในหลายอวัยวะ รวมทั้งมักเป็นสารก่อมะเร็งต่อสัตว์หลายชนิดได้ด้วยและสามารถแสดงฤทธิ์ในขนาดเพียงขนาดเดียว (single dose) ได้ถึงแม้จะได้รับสัมผัสในขนาดต่ำก็ตาม

2. <u>กลไกที่สารก่อมะเร็งไม่ได้เกิดความเป็นพิษต่อดีเอ็นเอโดยตรง</u>

สารก่อมะเร็งบางประเภทไม่ได้เกิดความเป็นพิษต่อดีเอ็นเอโดยตรงแต่มีผลกระทบให้เกิดมะเร็งที่อวัยวะเป้าหมายโดยมีผลเพิ่มการเจริญของก้อนเนื้องอก (tumor) เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็งได้หากมีผลกระทบเรื้อรัง หรือได้รับสัมผัสในขนาดสูง ดังนั้นสารก่อมะเร็งที่มีกลไกแบบนี้มักต้องได้รับในปริมาณที่สูงและยังคงอยู่หลังจากได้รับสัมผัส ซึ่งสารก่อมะเร็งด้วยกลไกแบบนี้มักไปมีผลต่อการเพิ่มการแบ่งตัวหรือเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation)

3.6.1 การทดสอบพิษเรื้อรังในสิ่งมีชีวิต

วิธีทดสอบพิษเรื้อรังในสิ่งมีชีวิตให้อ้างอิงวิธีทดสอบตามที่ระบุไว้ (OECD, 1981a; Kitchin, 1999; Williams & Iatropoulos, 2001; VICH, 2002) การทดสอบเพื่อนำผลมาใช้เพื่อการขออนุญาตขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์อาหารการศึกษาจะประกอบด้วย

- ศึกษาในหนูแรทเป็นเวลา 2 ปี และศึกษาในหนูเม้าส์เป็นเวลา 18 เดือน
- หนูเพศละ 50 ตัวต่อกลุ่มที่ทำการศึกษา
- ขนาดของสารที่ต้องการทดสอบ 3 ขนาดโดยมีกลุ่มควบคุม (control) ทำควบคู่ไปด้วย
- ขนาดที่สูงสุดจะต้องสัมพันธ์กับความเป็นพิษที่อย่างน้อยทำให้เกิดการลดลงของน้ำหนักตัวของหนูโดยไม่กระทบต่อการรอดชีวิตของสัตว์เพื่อให้เกิดการมั่นใจได้ว่าวิธีทดสอบหรือสัตว์ที่เลือกใช้มีความเหมาะสมและไวต่อการแสดงถึงความเป็นอันตราย (hazard identification)
- สารที่มีความเป็นพิษต่ำจะต้องถูกผสมในอาหารให้สัตว์ทดลองกินในปริมาณมากกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนักอาหารทั้งหมด
- สามารถทดสอบโดยใช้สัตว์กัดแทะ (rodent) 1 ชนิดซึ่งมักเลือกหนูแรทร่วมกับวิธีทดสอบอื่นที่เป็นการทดสอบทางเลือก (Alternative test) ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาอีก 1 การทดสอบเพื่อสรุปว่าสารนั้นเป็นสารก่อมะเร็งหรือไม่ก็ได้ ซึ่งในอนาคต WHO advisory committee จะให้การยอมรับด้วยการใช้การทดสอบทางเลือก (Alternative test) ต่างๆเหล่านี้

<u>การประเมินผลการทดสอบ</u>

การแสดงผลการทดสอบที่เป็นผลบวก (positive response) โดยการทดสอบที่พบในสัตว์ทดลองเพียง 1 ชนิดสามารถสรุปได้ว่าสารนั้นเป็นสารก่อมะเร็ง ผลการทดสอบต้องคงที่และทำซ้ำกี่ครั้งก็ให้ผลเช่นเดิม ผลจะมีน้ำหนักมาขึ้นหากพบผลบวกในการทดสอบทั้งหนูแรทและหนูเม้าส์ อัตราการเกิดก้อนมะเร็ง (tumor) ต้องสัมพันธ์กับขนาดของสารที่หนูได้รับ ข้อมูลของการเกิด hyperplasia และความเป็นพิษเป็นข้อมูลสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงด้วยนอกเหนือจากการก่อให้เกิดก้อนมะเร็ง การแปรผลการทดสอบมายังมนุษย์ให้พิจารณาชนิดของก้อนมะเร็ง (tumor) และความสัมพันธ์ของขนาดสารกับการสัมผัสที่มนุษย์จะได้รับสารนั้นประกอบกับข้อมูลการอธิบายลักษณะผลการก่อมะเร็ง (Characterization of carcinogenic effect) และประเมินผลตอบสนองต่อการเกิดมะเร็ง (Assessment of carcinogenic response)

3.6.2 การทดสอบทางเลือก (Alternative test)

การทดสอบทางเลือก (Alternative test) มีหลายวิธีถูกนำมาใช้เนื่องจากเป็นการทดสอบที่จำเพาะต่อการเกิดมะเร็งแต่ละชนิดและใช้เวลาทดสอบสั้นกว่าวิธีที่ถูกนำมาใช้ได้แก่

1) <u>Initiation/promotion model</u> เป็นวิธีทดสอบสารที่ต้องการทดสอบว่าเป็นสารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง (initiator) หรือให้เป็นสารส่งเสริมกระบวนการเกิดมะเร็ง (promoter) ระยะเวลาที่ใช้ทดสอบจะต่ำกว่า 1 ปี โดยหากต้องการทดสอบว่าเป็นสารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง (initiator) จะต้องให้สารก่อนสารส่งเสริมกระบวนการเกิดมะเร็ง (promoter) จะถูกให้กับหนูทดลอง

หรือหากต้องการทดสอบว่าเป็นสารส่งเสริมกระบวนการเกิดมะเร็ง (promoter) สารนั้นจะต้องถูกให้ภายหลังจากหนูทดลองได้รับสารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง (initiator) วิธีนี้การเกิดมะเร็งตามธรรมชาติของสัตว์ทดลอง (background spontaneous) จะต่ำมาก

2) Neonatal mouse model การทดสอบนี้ใช้หนูสายพันธุ์ CD-1 โดยให้สารที่ต้องการทดสอบกับหนูแรกเกิดโดยให้ทางกระเพาะอาหารโดยตรง (intragastric) หลังหนูคลอดในวันที่ 8 และวันที่ 15 และติดตามผลเป็นระยะเวลา 1 ปี

3.7 ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และการพัฒนาการของร่างกาย (Reproductive and developmental toxicity)

ผลกระทบที่เป็นผลเสียต่อระบบสืบพันธุ์อาจจะแสดงถึง การลดลงของการปฏิสนธิ (Fertility) ในรุ่นพ่อแม่หรือรุ่นลูกซึ่งจะเป็นผลทำให้เกิดความผิดปกติของรูปร่าง (Morphological), กระทบต่อกระบวนการทางชีวเคมี, พันธุกรรม หรือสรีรวิทยาของสัตว์หรือมนุษย์

ส่วนผลกระทบที่เป็นผลเสียต่อการพัฒนาการของร่างกายอาจจะแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลาย, ความผิดปกติของการเจริญเติบโตและโครงสร้างหรือการทำงานที่ผิดปกติ เนื่องมาจากการกลายพันธุ์หรือความผิดปกตินั้นไปกระทบต่อชีวเคมีหรือสรีรวิทยาของร่างกาย ความผิดปกติทางด้านพัฒนาการอาจจะแสดงออกทันทีหรือบางครั้งต้องใช้เวลานานหลายปี

3.7.1 ตัวชี้วัดในการประเมินความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproduction Toxicity)

ในการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์จะเป็นการสังเกตความผิดปกติในการทำงานของระบบสืบพันธุ์ที่รวมถึงการสร้างและพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenesis), การจับคู่เพื่อผสมพันธุ์ (mating), การปฏิสนธิ (Fertility), การดำเนินชีวิต (maintenance) และช่วงของการตั้งครรภ์, การคลอดลูก (parturition), จำนวนของลูกที่คลอดออกมา 1 ครอก (litter numbers), การหลั่งของน้ำนม (lactation), ช่วงวัยเจริญพันธุ์ (puberty) และการเจริญเติบโตของตัวอ่อน เป็นต้น ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะสามารถสังเกตได้จากผลลัพธ์สุดท้าย (end-points) ที่ปรากฏดังนี้

รุ่นพ่อแม่และรุ่นลูก:

- ตัวอสุจิ: จำนวน, การเคลื่อนที่, โครงสร้างและส่วนประกอบ (morphology) และอัตราในการผลิตตัวอสุจิ
- เซลล์ของช่องคลอดในช่วงที่เป็นสัด
- ระดับฮอร์โมน
- การผสมพันธุ์
- อัตราการตั้งครรภ์
- น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น รังไข่และลูกอัณฑะ อวัยวะสืบพันธุ์ (gonads), มดลูก, ท่อน้ำเชื้ออสุจิ (epididymis), และต่อมเพศ (accessory sex glands)
- พยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์

- พฤติกรรมการสืบพันธุ์ (reproductive behaviour)

<u>รุ่นลูก:</u>

- การรอดชีวิตและจำนวนของลูกที่คลอด 1 ครอก
- น้ำหนักตัว
- สัดส่วนของเพศ
- ระยะห่างระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์และทวารหนัก (anogenital distance)
- หัวนมและวงดำรอบหัวนมที่ยังคงอยู่ในเพศผู้
- การเปิดของช่องคลอด
- การเคลื่อนลงของถุงอัณฑะ
- การเปิดของหนังหุ้มปลายอวัยวะ

ผลลัพธ์สุดท้ายที่กล่าวมาทั้งหมดให้ทำการประเมินเปรียบเทียบกับภาวะปกติว่ามีความแตกต่างมากน้อยเพียงใด

สำหรับการประเมินความเป็นพิษของสารต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนจะต้องคำนึงถึงช่วงวิกฤตว่าตัวอ่อนได้รับสารนั้นในช่วงใดของพัฒนาการ เช่น ช่วงของการเจริญเติบโตมีผลให้การเจริญเติบโตมีความผิดปกติ หรือช่วงของการสร้างอวัยวะมีผลให้เกิดความพิการ นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงผลลัพธ์ที่ต่างกันในแต่ละชนิดของสัตว์รวมทั้งมนุษย์ เช่น สารชนิดหนึ่งทำให้เกิดความผิดของอวัยวะที่จะพัฒนาไปเป็นแขนขาของหนูแต่ไม่ได้หมายถึงว่าจะส่งผลกระทบต่ออวัยวะเดียวกันนี้ในมนุษย์

3.7.2 การออกแบบการการศึกษาการเกิดพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการทางร่างกายของตัวอ่อน

ในการศึกษาผลกระทบของวัตถุเจือปนอาหารต่อระบบสืบพันธุ์สิ่งที่ต้องคำนึงถึงมีดังต่อไปนี้

1) การได้รับสัมผัสสารของสัตว์ทดลองจะต้องครอบคลุมทุกช่วงวิกฤตของระบบสืบพันธุ์
2) ขนาดตัวอย่างต้องเพียงพอที่จะทำให้ผลลัพธ์ที่เกิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
3) การทดสอบพิษต่อระบบพัฒนาการของร่างกาย จำนวนตัวอ่อนครึ่งหนึ่งหรือทั้งหมดจะต้องถูกตรวจสอบเนื้อเยื้อและรูปร่างลักษณะของโครงสร้างกระดูก (USEPA, 1991b) สารที่ทดสอบจะถูกประเมินว่าเป็นพิษ หากอัตราการสร้างอวัยวะที่ผิดปกติสูงกว่ากลุ่มควบคุม 5-12 เท่าและมีการตายของตัวอ่อนสูงกว่ากลุ่มควบคุม 3-6 เท่า
4) การทดสอบลักษณะการสร้างอวัยวะที่ผิดปกติ (malformation) จะต้องทดสอบในลูกหนูทั้งเพศผู้และเพศเมียอย่างน้อยเพศละ 1 ตัวในแต่ละครอก
5) ถ้าการทดสอบพิษของสารต่อระบบสืบพันธุ์ให้ใช้หนูแรทเพียงชนิดเดียวในขณะที่การทดสอบความเป็นพิษต่อพัฒนาการทางร่างกายของตัวอ่อนจะต้องใช้สัตว์ทดลอง 2 ชนิด คือ สัตว์กัดแทะ (rodent) และสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะ (non-rodent)

ก. การศึกษาการเกิดพิษต่อระบบสืบพันธุ์

ส่วนใหญ่ชนิดของสัตว์ที่ถูกเลือกใช้จะเป็นหนูแรทเสมอและเป็นเพียงชนิดเดียวซึ่งนำมาใช้ทดสอบ ซึ่งจะประเมินการศึกษาแบบหลายรุ่น (multigeneration) ทั้งนี้เนื่องมาจากระยะเวลาสั้น

, ค่าใช้จ่ายน้อย และความยุ่งยากซับซ้อนน้อย ส่วนการระบุอันตราย (hazard identification) ของสารเคมียังคงใช้วิธีการประเมินหลายแบบ เช่น ตามที่ปรากฏใน OECD Test Guideline NO. 415: One-Generation Reproduction Toxicity Study (OECD, 1983), OECD Test Guideline NO. 415: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD, 1995d), OECD Test Guideline NO. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD, 1996) หรือ the NTP 35-day screening protocol (Harris et al., 1992) ทั้งการศึกษาแบบรุ่นเดียว (single generation) และการศึกษาแบบหลายรุ่น (multigeneration)

- การศึกษาแบบรุ่นเดียว (single generation) เป็นการประเมินพิษกึ่งเรื้อรัง (subchronic exposure) ของสัตว์โตเต็มวัยในรุ่นพ่อแม่และรุ่นลูก (F1) ตลอดไปจนถึงวัยหย่านม (weaning)
- การศึกษาแบบหลายรุ่น (multigeneration) จะเริ่มตั้งแต่การได้รับสัมผัสในช่วงรุ่นลูก (F1) และให้ได้รับสัมผัสต่อเนื่องตลอดช่วงจนหย่านมไปจนถึงโตเต็มวัย (adulthood) แล้วมีการนำมาผสมพันธุ์เพื่อเกิดลูกในรุ่น F2 การประเมินให้ใช้ 1 ครอก/รุ่น และใช้ 1-2 รุ่น

สำหรับสารเคมีที่สามารถส่งผลกระทบต่อระบบต่อมไร้ท่อและทำให้ขัดขวางกระบวนการพัฒนาการของร่างกายและระบบสืบพันธ์ให้สมบูรณ์นั้น ต้องใช้ชุดการทดสอบเพื่อวิเคราะห์ในเบื้องต้นอย่างคร่าวๆ (Screening assay) เพื่อประเมินความจำเพาะต่อสรีรวิทยาที่มีความสัมพันธ์กับการทำงานของฮอร์โมน เอสโตรเจน, แอนโดรเจน และไทรอยด์

มีบางกรณีที่บาง end-points ในการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ที่ไม่มีการตอบสนองต่อการได้รับสัมผัสสารเคมี ตัวอย่างเช่น จำนวนอสุจิในหนูแรทตัวเต็มวัยที่มีปริมาณสำรองอสุจิขนาดใหญ่นั้น หากอัตราการสร้างอสุจิต่อวันลดลงอย่างมากก็ยังไม่มีผลกระทบต่อการปฏิสนธิซึ่งแตกต่างกับสถานการณ์ที่เกิดในมนุษย์ ซึ่งหากการผลิตอสุจิลดลงเพียงเล็กน้อยจะคาดได้ว่าจะทำให้เพิ่มความน่าจะเป็นของการเป็นหมัน (Infertility) ดังนั้นจะต้องใช้เกณฑ์การประเมินอื่นมาประเมินเพิ่มเติม เช่น USEPA, 1998b และ OECD, 2001b ซึ่งจะต้องประเมินการทำงานที่เกี่ยวกับอัณฑะ (testicular) ด้วย เช่น การผลิตอสุจิในแต่ละวัน (daily sperm production), การนับอสุจิในท่อน้ำเชื้ออสุจิบริเวณอัณฑะ (epididymal sperm counts) และการศึกษาด้านรูปร่างลักษณะของตัวอสุจิ (sperm morphology) ในลักษณะเดียวกันที่ต้องมีการเพิ่มการทดสอบด้านการตอบสนอง (sensitivity) ของสารที่ไวกับต่อมไร้ท่อ (endocrine-active agents) ซึ่งบางแบบแผนจะเป็นการรวมถึงการประเมินของอายุที่มีการเปิดของช่องคลอดในเพศเมียและการเปิดหรือแยกของหนังหุ้มอวัยวะเพศในเพศผู้ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ของวัยเจริญพันธุ์, การวัดของระยะห่างระหว่างอวัยวะเพศและรูทวารหนัก, androgen-depeually dimorphic trait ในตัวอ่อนที่เพิ่งคลอด (neonatal) และการยังคงอยู่ของหัวนมในรุ่นลูกเพศผู้

ข. การศึกษาการเกิดพิษต่อพัฒนาการทางร่างกายของตัวอ่อน (Developmental Toxicity)

ผลกระทบต่อพัฒนาการทางร่างกายของตัวอ่อนก่อนที่จะคลอด (prenatal) ถูกตรวจสอบโดยกระบวนการหรือแบบแผนการประเมินตาม OECD Test Guideline NO. 414: Prenatal Developmental Toxicity Study (OECD, 2001a) และ USEPA's Prenatal Toxicity Study (USEPA, 1998c) โดยทั่วไปสัตว์ทดลองจะต้องได้รับสัมผัสสารในขณะตั้งครรภ์ในช่วงระยะการสร้างอวัยวะของตัวอ่อนและทำการประเมินความผิดปกติของตัวอ่อนที่เกิดขึ้นจากการเจริญเติบโตและโครงสร้าง

การทดสอบความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายจะถูกทดสอบในสัตว์ 2 ชนิด (species) คือสัตว์กัดแทะ (rodent) และสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะ (non-rodent) ผลในการทดสอบจะได้รับความเชื่อมั่นเป็นอย่างมากหากการทดสอบนั้นใช้สัตว์มากกว่าหนึ่งชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากไม่พบการเกิดพิษในการทดสอบที่ใช้สัตว์ชนิดแรก แต่หากพบการเกิดพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายในสัตว์ชนิดแรกแล้ว ก็เป็นไปได้ที่ข้อมูลการใช้สัตว์เพียงชนิดเดียวนั้นจะเพียงพอสำหรับการประเมิน โดยปกติชนิดของสัตว์ที่ถูกเลือกใช้ในการศึกษาความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของร่างกาย คือ หนูแรท และ กระต่าย (สำหรับบางกรณีที่กระต่ายไม่เหมาะสมต่อการศึกษาสามารถใช้หนูเม้าส์แทน)

การประเมินความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายได้มีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงในเรื่องของการเพิ่มขอบเขต (Scope) และความไวของการทดสอบ (sensitivity) ในการประเมินความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายดังนี้

1. การขยายช่วงของการสัมผัสสารให้นานขึ้น ตั้งแต่ช่วงการฝังตัว (implantation) ของตัวอ่อนตลอดไปจนถึงการปิดของเพดานในช่องปากของตัวอ่อนเสร็จสิ้น (closure of the palate) เป็นการแสดงว่ากระบวนการสร้างอวัยวะของตัวอ่อนครบถ้วนแล้ว (organogenesis) (ตรงกับวันที่ 6-15 ของอายุการตั้งครรภ์ของหนูแรท) ตลอดไปจนถึงช่วงสุดท้ายของการตั้งครรภ์จนถึงวันก่อนที่จะทำการฆ่าสัตว์ (sacrifice) ซึ่งจะสามารถครอบคลุมถึงระบบการพัฒนาอวัยวะช่วงสุดท้าย เช่น ระบบสืบพันธุ์และระบบประสาทส่วนกลางของตัวอ่อน
2. จำนวนของสัตว์ทดลอง ชนิดที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะ (non-rodent) ต่อกลุ่มที่ได้รับสารในแต่ละขนาด ใช้ 20 ตัว ในขณะที่สัตว์กัดแทะ (rodent) ใช้ 12 ตัว
3. การทดสอบกระดูกและกระดูกอ่อน (cartilage) ซึ่งกระดูกอ่อนจะสามารถให้ข้อมูลสำหรับการตัดสินหรือการประเมินการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างกระดูก (skeletal) ซึ่งส่งผลต่อความผิดปกติของโครงสร้าง

3.8 ความเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxicity)

ความหมาย

ความเป็นพิษต่อระบบประสาท หมายถึง การเปลี่ยนแปลงที่เป็นผลร้ายต่อโครงสร้างหรือการทำหน้าที่ของระบบประสาทส่วนกลางหรือประสาทส่วนปลายหลังจากการได้รับสัมผัสสารเคมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติหรือสารสังเคราะห์หรือสารที่มีคุณสมบัติเกี่ยวกับทางกายภาพ (physical agent) (Tilson, 1990b; ECETOC, 1992; Ladefoged et al.,1995)

The Nordic Council of Ministers ได้อธิบายความหมายเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อระบบประสาทว่าเป็นความสามารถของสารเคมีที่ทำให้เกิดผลกระทบที่เป็นผลเสียต่อระบบประสาทส่วนกลาง ระบบประสาทส่วนปลาย หรืออวัยวะรับความรู้สึกและส่งผลให้เกิดความผิดปกติแบบถาวรของระบบประสาทหรือรอยโรคที่เกิดขึ้น

คำอธิบายของผลเสียจากความเป็นพิษต่อระบบประสาทที่เป็นที่ยอมรับทั่วไปคือ การได้รับสัมผัสแล้วส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานขั้นพื้นฐาน ส่งผลให้การปรับตัวของอวัยวะที่จะอยู่รอด การสร้างใหม่หรือการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อมของอวัยวะลดลง (ECETOC, 1992; Ladefoged et al., 1995; USEPA, 1998a;IPCS, 2001a)

International Programme on Chemical Safety (IPCS) ได้อธิบายผลกระทบที่เป็นผลเสียไว้ด้วยเช่นกัน คือ เป็นการเปลี่ยนแปลงของรูปร่าง (morphology), สรีรวิทยา, การเจริญเติบโต, พัฒนาการหรืออายุขัย (Life span) ของสิ่งมีชีวิตซึ่งทำให้เกิดผลของความสามารถในการทำหน้าที่ลดลงหรือมีผลต่อการเพิ่มความจำเพาะต่อสิ่งแวดล้อมที่เข้ามากระทบ

การประเมินความเป็นพิษต่อระบบประสาท

วิธีการประเมินการทำงานของระบบประสาทประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงของรูปร่าง สรีรวิทยา ชีวเคมี การแสดงออกที่เกี่ยวกับพฤติกรรม และส่วนประกอบต่างๆที่มีปฏิกิริยาต่อกันในการทำหน้าที่ได้ถูกระบุไว้ในแนวทางการทดสอบที่เฉพาะสำหรับการทดสอบแต่ละวิธี แนวทางการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบประสาทที่ยังคงมีอยู่มีการพัฒนาโดยหลายประเทศและในองค์กรระหว่างประเทศซึ่งจะรวมถึงการประเมินดังต่อไปนี้ ความเป็นพิษทั่วไป, จุลพยาธิวิทยา (gross histopathology) และการประเมินหน้าที่การทำงานที่เกี่ยวกับพฤติกรรม (USEPA, 1991a,c, 1998a; ICME, 1994; OECD, 1995b,c, 1997; USFDA, 2000) แนวทางสำหรับการศึกษาความเป็นพิษต่อการพัฒนาระบบประสาทของตัวอ่อน สิ่งที่เหมาะสมที่ควรปฏิบัติคือ จะต้องมีการแนะนำขนาดของสารเคมีที่สัตว์ทดลองได้รับในช่วงการตั้งครรภ์และระยะการให้น้ำนม และทำการประเมินทางกายภาพของตัวอ่อนที่เพิ่งคลอด การพัฒนาที่เกี่ยวกับพฤติกรรมรวมถึงการเรียนรู้และความจำ และการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของระบบประสาทเป็น (USEPA, 1991b; USFDA, 2000; OECD, 2007)

ก) การประเมินกระบวนการของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเนื้อเยื่อและอวัยวะ (morphological evaluations) ของระบบประสาทในสิ่งมีชีวิต

ความเป็นพิษต่อระบบประสาทของสารที่นำมาทดสอบสามารถสังเกตได้จากพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อที่สามารถเห็นด้วยตาเปล่า (gross histopathological) โดยพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อสมองของสัตว์ที่ได้รับสารพิษที่มีความเป็นพิษต่อระบบประสาท แต่อาจจะไม่พบเสมอไปได้ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (morphological changes) ต้องถูกใช้เป็นหลักฐานของการเกิดพิษต่อระบบประสาทนั้นร่วมด้วย

เพื่อความเข้าใจเพิ่มขึ้นของโครงสร้างที่ซับซ้อน ระดับของการทดสอบอื่นๆจะต้องถูกใช้เพิ่มเติม ได้แก่ การเชื่อมต่อ (Connectivity) และปฏิกิริยาต่อกันระหว่างเซลล์กับเซลล์โดยทำการตรวจสอบสัณฐานวิทยา (morphological) หรือพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ (histopathological)

ชนิดของรอยโรคทางพยาธิวิทยาระบบประสาท (neuropathological) สามารถจัดประเภทตามบริเวณที่รอยโรคนั้นปรากฏ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระบบประสาทปรากฏการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ (histopathological) เช่น กระบวนการเสื่อมของเซลล์ประสาทสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วหรือช้าขึ้นอยู่ภายใต้กลไกการตอบสนอง ยกตัวอย่างกรณี ความเสื่อมของเซลล์ประสาท (neurons) สามารถเสื่อมถอยหลังจากการออกฤทธิ์โดยตรงต่อตัวเซลล์หรือว่าเสื่อมถอยจากการสูญเสียของ synaptic target site influencesหรือว่าเสื่อมถอยจากการสูญเสียของ trophic factors หรือว่าเสื่อมถอยจากการสูญเสียของ stimulus innervation จากเซลล์ประสาทอื่น อย่างไรก็ตามการทดสอบที่กล่าวมานี้ยังคงมีข้อมูลเกี่ยวกับประสาทกายวิภาคศาสตร์ (neuroanatomy) ของสมองอยู่น้อย (บริเวณของสมองที่มีความเฉพาะเจาะจงในการตรวจสอบที่มีส่วนรวมกับวิถีการทำงานระบบประสาท การเปลี่ยนแปลงเซลล์รูปแบบต่างๆ และลักษณะที่มีเพียงอย่างเดียวของการตรวจคัดกรอง เนื้อเยื่อระบบประสาทที่ถูกทำลายเมื่อเทียบกับระบบอวัยวะอื่น)

การประเมินพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ (histopathological) เป็นวิธีที่น่าเชื่อถือได้เพียงอย่างเดียวโดยใช้การย้อม เช่น haematoxylin และ eosin และให้เพิ่มการย้อมทาง immunohistochemical สำหรับชนิดของเซลล์ที่มีความจำเพาะ การย้อมพิเศษอย่างหนึ่งที่แนะนำให้ปฏิบัติในเอกสารคำแนะนำมากมายคือ การย้อมทาง immunological สำหรับตรวจสอบโครงสร้างโปรตีนหลักของ astrocytes (ผลจากการตอบสนองต่อการได้รับความเสียหายและการทำงานของระบบประสาทที่มากเกินทำให้ astrocytes เพิ่มขนาดเป็นผลให้มีโครงสร้างของโปรตีนเพิ่มขึ้น), glial fibrillary acidic protein การตรวจพบ astrocyte ที่เพิ่มขนาดในบริเวณสมองเป็นตัวบ่งชี้ให้ทำการทดสอบที่มีรายละเอียดมากขึ้น การตรวจพบไมโครเกลีย (microglia) แสดงว่ามีกระบวนการอักเสบเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อสมองซึ่งเกิดความเสียหายในช่วงแรกซึ่งเป็นผลมาจากการได้รับบาดเจ็บของเนื้อเยื่อสมองจากการได้รับความเสียหายที่เกิดจากสารเคมีซึ่งการทดสอบนี้จะไม่ได้ผลสำหรับการสัมผัสสารพิษในขนาดต่ำซึ่งจำเป็นต้องใช้ cytoarchitecture ของสมองว่ามีความผิดปกติไปจากเดิมมากน้อยเพียงใด ซึ่งจะต้องทำการประเมินการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphological) ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

การประเมินเชิงปริมาณสามารถทำได้โดยรวมจุดผลลัพธ์สุดท้าย เช่น น้ำหนักสมองและการวัดขนาดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphometric dimensions) การพัฒนาการของสมองที่ล่าช้ากว่าปกติจากบริเวณหนึ่งของสมองไปยังบริเวณอื่น ตัวอย่างเช่น หลายบริเวณที่เจริญเติบโตเต็มที่หลังจากการคลอด

ได้แก่ เปลือกสมองใหญ่ (cerebral cortex), ซีรีเบลลั่ม (cerebellum) และ ฮิปโปแคมปัส (hippocampus) อาจจะได้รับผลกระทบจากการสัมผัสสารเคมีมากว่าโครงสร้าง ที่เป็นส่วน subcortical ในขณะที่ตัวอ่อนถูกพัฒนาในมดลูก วิธีที่เฉพาะเจาะจงในความผิดปกติที่เกิดขึ้นสามารถตรวจสอบด้วยวิธีทางชีวเคมีและโมเลกุล (biochemical and molecular) ตัวอย่างเช่น ontological profiles ของโครงสร้างโปรตีนที่ควบคุมพัฒนาการและmessenger RNAs (mRNAs) ที่เกี่ยวข้องสามารถเป็นหลักฐานของการก่อตัวที่ล่าช้าหรือการสร้างไซแนบส์หรือการสร้างไมอิลีนที่เปลี่ยนแปลงไป ขนาดและน้ำหนักของสมองที่มีพัฒนาการล่าช้าหรือมีขนาดเล็กกว่าปกติ สามารถพบในสัตว์ที่ยังไม่โตเต็มวัยที่มีภาวะขาดอาหาร ทั้งนี้อัตราส่วนของน้ำหนักสมองกับน้ำหนักตัวของลูกหนูจะต้องเท่ากันหรือมีค่ามากกว่าลูกหนูที่มีภาวะโภชนาการปกติ ในลูกหนูที่มีภาวะโภชนาการต่ำอาจเป็นผลมาจากจำนวนต่อคลอกที่เพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำนมที่ลูกได้รับน้อยลงทำให้ภาวะโภชนาการของแม่ต่ำลงหรือการดูแลลูกไม่ทั่วถึง ดังนั้นปัจจัยที่กล่าวมาทั้งหมดเป็นจุดวิกฤตที่จะต้องควบคุมก่อนที่จะทำการอภิปรายผลของสารที่มีความเป็นพิษต่อระบบประสาท

สำหรับการหาข้อมูลในเชิงปริมาณของ neuropathological จะรวมการประเมิน morphometric ของโครงสร้างบริเวณเฉพาะเจาะจงโดยการใช้

- การวัดขอบเขตของสมอง เช่น ความกว้างหรือความยาวระว่างบริเวณที่เฉพาะเจาะจง 2 ตำแหน่ง
- การวัดของพื้นที่ของสมองแบบ 2 มิติ
- การวัดแบบ stereological คือ การวัดที่ถูกสมมติเพื่อทำให้เกิดการรวม 3 มิติกับ 2 มิติ เข้าด้วยกัน

ปัจจัยที่ส่งผลให้การวัดแตกต่างหรือไม่แน่นอนในแต่ละครั้ง ได้แก่ ระนาบของภาคตัดขวางที่ไม่เป็นมาตรฐานเดียวกันในแต่ละการศึกษา, การกำหนดพื้นที่ที่ชี้วัดการเจ็บป่วยที่ไม่เหมือนกัน ฐานข้อมูลที่ไม่เพียงพอ การขาดของข้อตกลงร่วมกันของวิธีการสำหรับการประเมินทางพิษวิทยา

การใช้เทคนิค Magnetic resonance imaging (MRI) เป็นการช่วยให้การประเมินพัฒนาของสมองที่มีการเปลี่ยนแปลงไปมีความถูกต้องมากขึ้นและสามารถระบุบริเวณเป้าหมายเฉพาะที่เกิดความเป็นพิษ

ข) การประเมินความผิดปกติที่แสดงออกทางพฤติกรรมอันเนื่องมาจากระบบประสาท (neurobehavioural evaluation)

การประเมินความเป็นพิษต่อระบบประสาทไม่จำเป็นต้องทดสอบในสารเคมีทุกตัวเสมอไป แต่จะทำก็ต่อเมื่อมีข้อบ่งชี้เท่านั้น เช่น จากการพิจารณาโครงสร้างของสารเคมีที่ออกฤทธิ์หรือจากผลของการทดสอบความเป็นพิษในวิธีอื่น การประเมินความผิดปกติที่แสดงออกทางพฤติกรรมเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงสภาวะความผิดปกติของหลายส่วนประกอบของระบบประสาทร่วมกัน

วิธีการประเมินความผิดปกติที่แสดงออกทางพฤติกรรมที่เกิดจากระบบประสาทจะถูกใช้ประเมินผลกระทบของสารพิษที่มีผลต่อการพัฒนาระบบประสาทในด้าน การรับความรู้สึก, ระบบประสาทสั่งการ (motor) และส่วนที่ทำหน้าที่รับรู้ เป็นสิ่งสำคัญที่ควรตระหนักว่าผลกระทบทางอ้อมที่อาจแสดงออกจะมีผลต่อระบบอวัยวะอื่นๆ เช่น หลอดเลือดหัวใจ, ต่อมไร้ท่อ และระบบทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา

ค) ความเป็นพิษต่อการพัฒนาระบบประสาท (Developmental neurotoxicity)

ความเป็นพิษต่อการพัฒนาระบบประสาท หมายถึง ผลกระทบใดๆที่มีผลต่อระบบการพัฒนาระบบประสาทที่เกิดขึ้นก่อนหรือหลังคลอด ที่มีผลต่อโครงสร้างและการทำงานของระบบประสาทปกติ ทั้งนี้ให้ยึดถือแนวทางตาม OECD ที่รายงานไว้ในปี 2007 (OECD, 2007) ข้อควรคำนึงถึงเพิ่มเติมสำหรับผลกระทบต่อการพัฒนาระบบประสาทได้แสดงไว้ในหลายวารสารซึ่งรวมทั้งสารขัดขว้างการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disrupting agents) (USNRC, 1993, 1999; USEPA, 1998a,b; EC, 1999; Damstra et al., 2002)

ในการประเมินศักยภาพของสารเคมีที่ขัดขวางการสร้างและเจริญเติบโตเต็มที่ของเครือข่ายระบบประสาท ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงมีดังต่อไปนี้

- ขั้นตอนการพัฒนาของเนื้อเยื่อที่เป็นเป้าหมายหรือส่วนประกอบของระบบประสาทที่มีความเฉพาะเจาะจง
- รูปแบบหรือกลไกการออกฤทธิ์ (mode or mechanism of action) ของสารพิษ
- ขนาดของสารที่ส่งไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมาย
- ผลลัพธ์สุดท้ายของการเกิดพิษที่อยู่ในความสนใจ
- อายุของลูกสัตว์ทดลองในระหว่างการทดสอบ
- วิธีที่ใช้ประเมินผลลัพธ์

ทั้งนี้ผลกระทบความเป็นพิษต่อระบบประสาทขึ้นอยู่กับขนาดของสารที่ได้รับ, ช่วงการได้รับสัมผัสและขั้นตอนของพัฒนาการระบบประสาทขณะได้รับสัมผัสสาร รวมทั้งกระบวนการเภสัชจลนศาสตร์ซึ่งจะเป็นการควบคุมการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีภายในร่างกายของตัวอ่อนและตัวเต็มวัย นอกจากนี้ลักษณะทางกายภาพบางอย่างจะส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อระบบประสาท เช่น ตัวขวางกั้นของรก (placenta barrier) และพัฒนาการของ blood-brain barrier และ blood-nerve barrier

ง) ลำดับขั้นตอนการวางแผนการทดสอบ (Tiered testing strategy)

ลำดับขั้นตอนวิธีทดสอบสารพิษต่อระบบประสาทให้ดำเนินตามข้อแนะนำของผู้เชี่ยวชาญ (IPCS,1986b; United States Congress, Office of Technology Assessment, 1990; USNRC, 1992; EC, 1996; USFDA, 2000) ในระยะเบื้องต้นการระบุขนาดที่มีความเป็นพิษต่อระบบประสาท (hazard identification) ขั้นตอนวิธีการทดสอบพิษต่อระบบประสาทให้ดำเนินการตามลำดับดังต่อไปนี้

- ลำดับที่ 1: Systematic clinical observation เป็นการสังเกตอาการทางคลินิกภายใต้ระเบียบวิธีวิจัยที่เป็นระบบ ทั้งนี้ในลำดับที่ 1 นี้การทดสอบที่จะถูกนำมาคัดกรองสารพิษต่อระบบประสาทจะต้องประกอบด้วย 1) วิธีที่เลือกใช้และจุดผลลัพธ์สุดท้ายจะต้องชัดเจน 2) สามารถบอกระดับความรุนแรงของจุดผลลัพธ์สุดท้ายได้ 3) นักวิจัยที่สังเกตอาการจะต้องมีความเชี่ยวชาญและถูกฝึกฝน 4) จำนวนผลลัพธ์สุดท้ายจะต้องมากพอที่จะใช้ประเมินหน้าที่ของระบบประสาทที่ครอบคลุม ในการทดสอบลำดับที่ 1 นี้ให้สังเกตความผิดปกติของระบบประสาท พฤติกรรมที่

ผิดปกติ ความผิดปกติทางสรีรวิทยาและอาการอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับพิษต่อระบบประสาท การประเมินความรุนแรงของอาการให้สังเกตการแสดงออกทางกายภาพ เช่น ท่าทาง น้ำหนัก การชัก กระตุก อัมพาต ความตื่นตัว ความไวต่อสิ่งเร้า ความสัมพันธ์ของประสาทสั่งการ การหลั่งของน้ำลายที่มากกว่าปกติ ท้องร่วง ปัสสาวะบ่อย รวมทั้งความผิดปกติที่เกี่ยวกับการเคลื่อนไหวทั้งส่วนแขนและเท้า เป็นต้น

- ลำดับที่ 2: Characterize the nature and dose-response for the neurotoxic effect เป็นการอธิบายลักษณะของธรรมชาติของสารพิษและขนาดที่มีผลต่อความเป็นพิษต่อระบบประสาท ในลำดับนี้จะต้องใช้วิธีการทดสอบที่จำเพาะมากกว่าในลำดับที่ 1 ทั้งนี้ให้พิจารณาข้อมูลจากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พิจารณาความสัมพันธ์ของสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ให้นำกลไกการออกฤทธิ์มาพิจารณาด้วยเพื่อเป็นการประเมินผลในเชิงปริมาณและเพื่อเป็นการกำหนดค่า NOAELs
- ลำดับที่ 3: Mechanistic studies for establishing neurotoxic agent's profile เป็นการศึกษาการจัดการของระบบประสาทซึ่งจะรวมพฤติกรรมที่แสดงออก สรีรวิทยา เซลล์และโมเลกุลของสัตว์ที่ทำการศึกษา วิธีที่ถูกนำมาใช้ในการทดสอบในลำดับนี้จะต้องสามารถประเมินกลไกดังต่อไปนี้ เอนไซม์ สมดุลของอิออน การชักนำของสัญญาณสื่อประสาท การเปลี่ยนแปลงของ receptor และกลไกการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลซึ่งสัมพันธ์กับอาการความผิดปกติที่แสดงออก

จ) การแปลผลที่ได้จากการทดสอบ

ผลลัพธ์สุดท้ายของความเป็นพิษต่อระบบประสาทไม่ได้แสดงออกโดยการเกิดมะเร็ง การบ่งชี้ผลกระทบความเป็นพิษต่อระบบประสาทจะต้องสามารถตอบคำถามหลักๆ 4 คำถามดังต่อไปนี้

1. สารนั้นก่อให้เกิดผลกระทบจากการได้รับสัมผัสหรือไม่
2. สารนั้นมีผลกระทบที่เป็นพิษต่อระบบประสาทอย่างชัดเจนหรือไม่
3. ผลการทดสอบให้ผลลัพธ์ที่คงที่สำหรับการแสดงออกทางพฤติกรรม สรีรวิทยา การเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อได้รับสารพิษต่อระบบประสาทหรือไม่
4. ผลกระทบที่เกิดขึ้นนั้นจะสามารถใช้ทำนายความผิดปกติในสถานการณ์ที่แตกต่างกันหรือไม่

มีหลักการสำหรับคุณภาพของข้อมูลที่ถูกนำมาใช้ประเมินความเสี่ยงที่อธิบายรูปแบบของผลกระทบที่พบในร่างกายสิ่งมีชีวิตหรืออธิบายความเป็นพิษต่อระบบประสาทได้ถูกกล่าวไว้ในรายละเอียดของ IPCS (2001a) โดยทั่วไป วิธีการทดสอบการเกิดพิษต่อระบบประสาทในเชิงปริมาณเพื่อประเมินความเสี่ยงจะสัมพันธ์กับหลักการต่างๆ ดังต่อไปนี้

- วิธีทดสอบจะต้องไวพอที่จะสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสัมผัสและไม่ได้รับสัมผัส

- มีความจำเพาะต่อผลลัพธ์สุดท้ายที่แตกต่างกันของความเป็นพิษต่อระบบประสาทของสารชนิดเดียวกัน
- ความแน่นอนของการวัดและผลกระทบที่เกิดขึ้น ณ เวลาของการทดสอบใดๆก็ตาม
- กระบวนการที่ทำการทดสอบด้วยวิธีต่างๆให้ผลสอดคล้องกัน เช่น การแสดงออกทางพฤติกรรม ผลทางสรีรวิทยา ผลชีวเคมีหรือกายวิภาคศาสตร์

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการรับสัมผัสและความรุนแรงของการตอบสนองหรือรวมถึงผลกระทบของหน้าที่การทำงานที่เพิ่มเติม เพิ่มการสนับสนุนการเกิดความเป็นพิษต่อระบบประสาทที่สังเกตได้ การเปรียบเทียบผลจากการทดสอบจากสัตว์ทดลองมายังคนรวมทั้งกลไกการเกิดพิษของสารพิษต่อระบบประสาทสามารถดูรายละเอียดได้ใน USEPA (1998a) และ IPCS (1986b, 2001a)

3.9 พิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunotoxicity)

ผลกระทบของการเกิดพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจะรวมถึงการกดระบบภูมิคุ้มกัน การกระตุ้นความไวต่อการตอบสนองที่มากเกินไปและการแพ้ภูมิตนเอง (autoimmunity) สิ่งที่กล่าวมานี้อาจจะส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของสถานการณ์การติดเชื้อหรือเพิ่มอัตราการเกิดโรคเนื้องอก (neoplastic) ตลอดจนภูมิแพ้ หืดหอบหรือโรคภูมิแพ้ตนเอง (autoimmune disease)

<u>การประเมินการเกิดพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Assessment of immunotoxicity)</u>

สำหรับการศึกษาในสัตว์ทดลองนั้น สัตว์กัดแทะถูกพิจารณาให้เป็นรูปแบบที่มีประโยชน์สำหรับการตรวจสอบความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันของสารประกอบที่ไม่มีผลกระทบจำเพาะกับชนิดของสัตว์ทดลอง เนื่องจากความคล้ายคลึงกันในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์กัดแทะและมนุษย์ การอภิปรายผลความเป็นพิษของสารต่อระบบภูมิคุ้มกันจะต้องระมัดระวังความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นเนื่องมาจากภาวะของตัวสัตว์ทดลองเอง เช่น ความเครียดหรือภาวะทุพโภชนการ (malnutrition) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมไม่ให้เกิดสภาวะดังกล่าวในสัตว์ทดลอง ในการออกแบบการทดลอง ต้องมีกลุ่มควบคุมบวก (positive control group) ที่แสดงการกดภูมิคุ้มกันที่เป็นแบบอย่างลักษณะที่ดีซึ่งเป็นสิ่งสำคัญเพื่อยืนยันวิธีการทดสอบว่าเทียบเคียงได้กับวิธีทดสอบที่เป็นมาตรฐาน

การประเมินความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน ประกอบด้วย การศึกษา 2 วิธี คือ

1) การศึกษาที่เป็นมาตรฐานทางพิษวิทยา (standard toxicology studies)
2) การศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกัน (immunology studies) วิธีต่างๆดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

- <u>การศึกษาที่เป็นมาตรฐานทางพิษวิทยา (standard toxicology studies)</u> ให้อ้างอิงตามวิธีการของ OECD Test Guideline No. 407 (OECD, 2008) และ ICH S8 guideline (ICH, 2005) การเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดระบบภูมิคุ้มกันอาจจะเกิดร่วมกับผลกระทบความเป็นพิษของระบบอวัยวะทั่วไปทั้งหมด น้ำหนักที่ลดลงเป็นผลมาจากการบริโภคที่ลดลงและปริมาณการบริโภคโปรตีนและไมโครนิวเทรียน (micronutrient) ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหรือการตอบสนองต่อความเครียดส่งผลให้การผลิตคอร์ติโคสเตอรอยด์เพิ่มขึ้น ภายใต้สภาวะนี้จุดผลลัพธ์สุดท้ายของ

ระบบภูมิคุ้มกันที่เปลี่ยนแปลงควรจะถูกแปลผลด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของสารที่ทำให้เกิดพิษต่อระบบภูมิกันอาจจะไม่ได้เป็นขนาดเดียวกันกับขนาดที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบอวัยวะทั่วๆไป สามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของต่อมน้ำเหลือง (lymphoid organ) ซึ่งเป็นสิ่งที่บอกถึงการเปลี่ยนแปลง dystrophic or dysplastic นอกจากนี้จะต้องพิจารณาองค์ประกอบอื่นร่วมด้วย เช่น การเปลี่ยนแปลงการตอบสนองภูมิคุ้มกันในการทำหน้าที่ สภาวะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathological) เป็นส่วนวิธีการซึ่งเป็นหลักฐานที่มีน้ำหนักเพื่อประเมินการกดภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นหรือไม่ ข้อมูลทางโลหิตวิทยาที่รวมถึงการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงอ่อน (erythrocyte counts) ฮีโมโกลบิน ค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (haematocrit), mean corpuscular volume, mean corpuscular haemoglobin, mean corpuscular haemoglobin concentration, การนับจำนวนเกร็ดเลือด (platelet count) จำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดและการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด (leukocyte differentials) เช่นเดียวกันกับข้อมูลทางเคมีคลินิก เช่น อัตราส่วนของอัลบูมินต่อโกลบลูลิน ระดับอิมมูโนโกลบุลินทั้งหมด (ถ้ามี) และเอนไซม์ในตับ ซึ่งองค์ประกอบทั้งหมดเหล่านี้เป็นมาตรฐานที่ต้องตรวจในการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีทางด้านพิษวิทยาอยู่แล้ว จุดผลลัพธ์สุดท้ายเหล่านี้จะทำให้มีข้อมูลที่เป็นพื้นฐานต่อระบบอวัยวะอื่นๆที่ถูกกระทบจากความเป็นพิษของสารเคมีต่อระบบภูมิคุ้มกัน ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ของเซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) หรือการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวอาจจะบ่งบอกการทำงานของไขกระดูกที่เปลี่ยนแปลงและลดการผลิตของสารตั้งต้นที่สร้างเซลล์ภูมิคุ้มกัน รวมถึงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของอัลบูมินต่อโกลบลูลินอาจจะบอกให้ทราบถึงการสังเคราะห์แอนติบอดีที่ลดลง การเปลี่ยนแปลงจุดผลลัพธ์สุดท้ายนี้อาจจะบอกถึงความจำเพาะที่เกิดขึ้นต่อระบบภูมิคุ้มกันซึ่งเป็นผลมาจากสารเคมีนั้นไปกดภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเพียงอย่างเดียวก็ยังไม่ได้พิจารณาว่าเป็นตัวบ่งบอกที่น่าเชื่อถือสำหรับการเกิดพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากมีข้อจำกัดในบางสภาวะ เช่น กรณีในเด็กที่เป็นโรคภูมิคุ้มความบกพร่องชนิดปฐมภูมิ (primary immunodeficiencies)

- <u>การศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกัน (immunology studies)</u> การประเมินความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันมีวิธีการที่เป็นลำดับ ดังนี้ ลำดับที่ 1 น้ำหนักและจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของอวัยวะระบบน้ำเหลือง(lymphoid) ลำดับที่ 2 การประเมินเชิงปริมาณของเซลล์เนื้อเยื่อระบบน้ำเหลือง lymphoid และระบบโลหิตวิทยาของเลือดส่วนปลาย (peripheral blood) ลำดับที่ 3 การทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันที่ระดับที่ก่อให้เกิดผลกระทบและควบคุม ลำดับที่ 4 การศึกษาการต้านทานที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อหรือการกระตุ้นให้เกิดเนื้องอก (neoplastic) ของสิ่งมีชีวิตที่ถูกกระทบ โดยการทดสอบในลำดับที่ 1 จะถูกนำมาใช้เพื่อคัดกรองสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน ในขณะที่วิธีทดสอบลำดับอื่นๆต่อมาจะถูกนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน คือ ยืนยันผลสารที่จำเพาะ ความต้านทานของสิ่งมีชีวิตที่ทำการทดสอบหรือกลไกการออกฤทธิ์เชิงลึก

นอกจากวิธีดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีวิธีการตรวจอื่นๆร่วมด้วย ดังนี้

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) เป็นการตรวจสอบเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissues) ด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่ถูกนำมาใช้ในการประเมินศักยภาพของสารประกอบที่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาโดยเฉพาะในไทมัสได้แสดงว่าเป็นข้อบ่งชี้ที่ดีต่อความเป็นพิษของระบบภูมิคุ้มกันและรอยโรคในไทมิกคอร์เท็ก (thymic cortex) จะสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของสารภูมิต้านทานที่ถูกผลิต ทั้งนี้การทดสอบทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของระบบภูมิคุ้มกันสามารถทำควบคู่ไปกับการศึกษาทางพิษวิทยาที่ทำการศึกษาโดยใช้สัตว์กัดแทะเป็นระยะเวลานาน 28 วัน โดยไม่จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนสัตว์ทดลอง

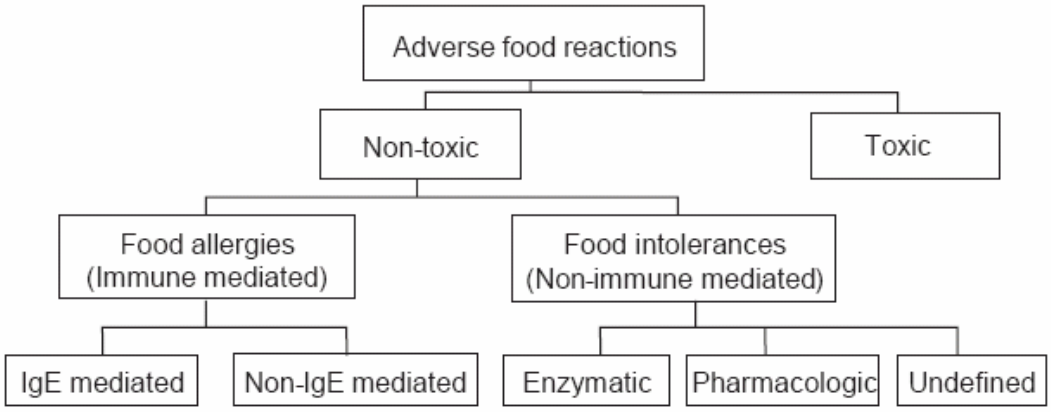
การตรวจ Lymphocyte phenotyping เป็นหนึ่งในการวัดทางคลินิกที่มีประโยชน์สำหรับการประเมินระบบภูมิคุ้มกัน การลดลงของจำนวนลิมโฟไซต์ที่จำเพาะสามารถเป็นข้อบ่งชี้ที่ดีของการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในการทำงานของภูมิคุ้มกัน มากกว่านั้นวิธีนี้สามารถปฏิบัติได้ในการศึกษาในมนุษย์ วิธีการที่มีอยู่คือ การเตรียมสารแขวนลอยที่อยู่ในลักษณะเซลล์เดี่ยว (single-cell) ซึ่งเตรียมได้จากเลือดหรือม้ามตลอดจนการเตรียมจากไทมัส ต่อมน้ำเหลืองหรือไขกระดูกก็จะถูกใช้ด้วย แล้วนำมาย้อมด้วยสารภูมิต้านทาน (antibody) ที่บนผิวเซลล์มี marker ที่จำเพาะในการจับกับสารที่ต้องการทดสอบและทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง flow cytometry

<u>การศึกษาความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันในมนุษย์ (human immunotoxicity studies)</u>

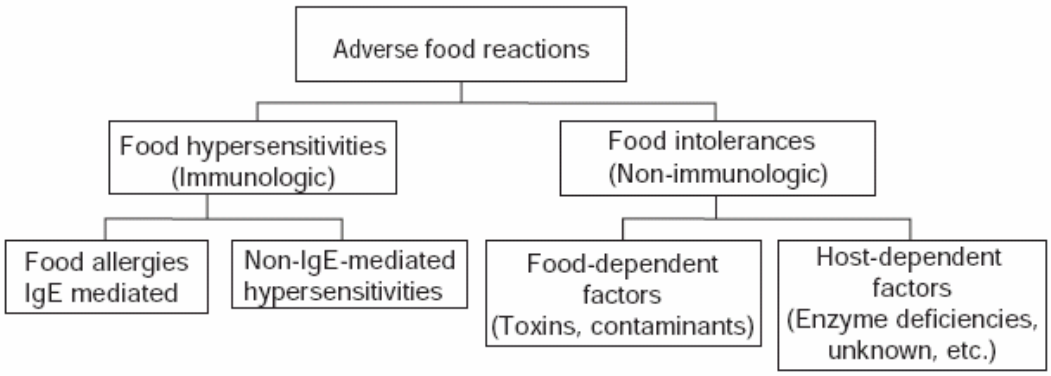
การศึกษาทางระบาดวิทยาแบบ retrospective ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบศักยภาพของการเกิดพิษต่อภูมิคุ้มกันในมนุษย์เมื่อสัมผัสสารเคมี วิธีการที่ถูกนำมาใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสขึ้นกับปริมาณสารที่ได้รับว่ามากน้อยเพียงใดและช่วงของการได้รับสัมผัส เช่น หากการได้รับสัมผัสสารปริมาณสูงจากอาชีพการทำงานสามารถใช้การศึกษาแบบ cohort ที่มีขนาดเล็กแต่หากเป็นการได้รับสัมผัสสารปริมาณน้อยแบบเรื้อรังจำเป็นต้องใช้การศึกษาแบบ cohort ที่มีขนาดใหญ่กว่า ในการประเมินความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันในมนุษย์เป็นสิ่งที่ยุ่งยาก เนื่องจากมีปัจจัยที่ทำให้เกิดความสับสน (confounding factors) เข้ามามีผลต่อผลการศึกษา เช่น ความหลากหลายทางพันธุกรรม อายุ และปัจจัยของรูปแบบการใช้ชีวิต เช่น การสูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์หรือการใช้ยา วิธีการทดสอบสำหรับการประเมินผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันวิทยาในแต่ละการได้รับสัมผัสต่อสารเคมีต่างๆที่มีความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันได้อธิบายใน EHC No. 180 (IPCS, 1996), EHC No. 212 (IPCS, 1999) และ EHC No. 236 (IPCS, 2006a)

3.10 การแพ้อาหารและภาวะภูมิไวเกินต่ออาหาร (Food allergy and food hypersensitivities)

การแพ้อาหาร (Food allergy) และภาวะภูมิไวเกินต่ออาหาร (food hypersensitivities) เป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะต่ออาหารหรือส่วนผสมของอาหารที่ปรากฏในผู้ที่มีความไวต่อการตอบสนอง ทั้งนี้การตอบสนองจะจำเพาะในเฉพาะบุคคลเท่านั้นไม่ใช่ในประชากรทั่วๆไป Sampson และ Johansson ได้พยายามที่จะจัดประเภทของปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดผลเสียของอาหาร**ดังรูปที่ 1 และ 2** (Sampson, 1999; Johansson et al., 2001)



รูปที่ 1. การจัดประเภทการแพ้อาหารที่มีสาเหตุจากภูมิคุ้มกันและที่ไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันตาม the European Academy of Allergology and Clinical Immunology nomenclature task force (ปรับปรุงจาก Johansson et al., 2001)



รูปที่ 2. การจัดประเภทภาวะภูมิไวเกินต่ออาหารที่มีสาเหตุจากภูมิคุ้มกันและที่ไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน (ปรับปรุงจาก Sampson, 1999)

องค์การภูมิแพ้ของโลก (The World Allergy Organization) ได้สรุปไว้ในปี ค.ศ. 2004 (Johansson et al., 2004) ว่าตามคำจำกัดความของ food allergy แล้วจะจัดเป็น food allergy ได้ก็ต่อเมื่อมีการแสดงกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเกิดขึ้น ถ้า IgE มีความเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาจะจัดเป็น IgE-mediated food allergy ส่วน Non-IgE-mediated immunological reactions จะจัดเป็นได้ทั้ง non-IgE-mediated food allergy หรือ non-IgE-mediated hypersensitivity ส่วนปฏิกิริยาอื่นที่นอกเหนือไปจากที่กล่าวจะจัดเป็น non-allergic food hypersensitivity กลไกทางพยาธิวิทยาของภาวะภูมิไวเกินต่ออาหารบางกรณีจะเป็นกลไกของภูมิคุ้มกันบางกรณีก็จะไม่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน กลไกการเกิดภาวะภูมิไวเกินต่ออาหารอาจเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องกับ IgE-mediated หรือเป็น IgE-mediated บางส่วนเท่านั้น เช่น eosinophilic oesophagitis หรือโรคหอบหืด (asthma) ปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันสามารถเป็นได้ทั้งแบบ non-IgE-mediated หรือ IgG mediated หรือ cell mediated ซึ่งในขณะเดียวกันจะแสดงออกถึงความผิดปกติด้วย เช่น coeliac disease ความไวต่อการแสดงออกเหล่านี้อาจจะส่งผลต่อความผิดปกติทางด้าน metabolic หรือมีปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแบบที่ไม่ทราบกลไก

การแพ้อาหารแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน IgE (IgE-mediated food allergy) และชนิดที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันระบบอื่นที่ไม่ใช่ IgE (non-IgE-mediated food allergy)

1. **ชนิดที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน IgE (IgE-mediated food allergy)** จะถูกแบ่งเป็น

   class I food allergy หรือ traditional food allergy ซึ่งจะเป็นสาเหตุที่เกิดขึ้นบ่อยๆจากการแพ้สารที่เคยแพ้เป็นประจำซึ่งการกระตุ้นที่ก่อให้เกิดอาการไวเกิน (sensitization) เกิดขึ้นภายในระบบทางเดินอาหาร สำหรับอาหารที่เป็นสารก่อภูมิแพ้ (food allergens) ในการแพ้ในกลุ่มนี้ที่รู้จักกันดีจะเป็นโปรตีน ชนิดไกลโคโปรตีนที่ละลายน้ำได้ ขนาด 10-70 กิโลดอลตัน และทนต่อความร้อน ทนกรดและเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease)

   class II food allergy จะพัฒนาหลังจากการกระตุ้นที่ก่อให้เกิดอาการไวเกิน (sensitization) จากสารก่อภูมิแพ้ที่มาจากอากาศผ่านเข้าไปทางปอดและเป็นสาเหตุจากละอองเกสรดอกไม้ที่เข้าทำปฏิกิริยากับสารก่อภูมิแพ้ที่อยู่ในอาหาร ทั้งนี้ class I food allergy จะพบมากในเด็กขณะที่ class II food allergy จะพบในวัยผู้ใหญ่ตอนต้นและวัยผู้ใหญ่

   - นมและไข่เป็นอาหารที่เป็นสารก่อภูมิแพ้ (food allergens) ที่พบว่าเกิดขึ้นมากที่สุดในเด็กและพบได้ทั่วโลก พฤติกรรมการบริโภคอาจจะมีอิทธิพลต่อการพัฒนาของการเกิดภูมิแพ้ในอาหาร เช่น การแพ้งา ที่พบได้บ่อยในประเทศอิสราเอลอาจจะเป็นไปได้ว่าสาเหตุอาจเป็นเพราะการ ให้เริ่มรับประทานงากวนที่เรียกว่า tahini เร็วเกินไป
   - เด็กทารกส่วนใหญ่จะมีพัฒนาการของการแพ้นมวัวในขวบปีแรกแต่ประมาณร้อยละ85 จะพบว่าอาการแพ้จะดีขึ้นหรือสามารถเป็นปกติได้ตอนอายุ 3 ปี
   - การแพ้ไข่ไก่จะมีพัฒนาการของการแพ้ใน 2 ปีแรกและพบว่าประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยอาการแพ้จะดีขึ้นหรือสามารถเป็นปกติได้ตอนเมื่ออายุ 3 ปีและมากกว่าร้อยละ 66 ของเด็กอาการแพ้จะดีขึ้นหรือสามารถเป็นปกติได้ตอนอายุ 5 ปี
   - สำหรับการแพ้ถั่วลิสงมีแนวโน้มที่จะยังคงมีตลอดไปในวัยผู้ใหญ่ ถึงแม้ว่ามากกว่าร้อยละ 20 ของผู้ป่วยเด็กที่แพ้ถั่วลิสงอาการแพ้จะหายไปได้ในช่วงวัยเด็ก

   ปัจจัยต่างๆเช่น อายุ ปัจจัยทางพันธุกรรม รวมถึงจำนวนและความถี่ในการรับประทานอาหารชนิดนั้นอาจจะมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดการกระตุ้นการแพ้ได้

   อาการแพ้อาหารเริ่มต้นจากอาการผิดปกติเพียงเล็กน้อยไปจนถึงขั้นรุนแรง อาการต่างๆอาจจะเริ่มจากผิวหนัง (เช่น คัน แดง บวม) ระบบทางเดินอาหาร (เช่น ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง คันและบวมในช่องปาก) ระบบทางเดินหายใจ (คันและบวมที่จมูกและช่องคอ หรือมีอาการหอบหืด) ตา (คันและบวม) หรือระบบหลอดเลือดหัวใจ (เช่น เจ็บหน้าอก การเต้นของหัวใจผิดจังหวะ ความดันเลือดต่ำหรือหมดสติ) โดยปฏิกิริยาการแพ้อาจจะปรากฏภายใน 2-3 นาทีหลังจากการรับประทานอาหารที่เป็นสาเหตุ แต่การแสดงออกของอาการจะปรากฏเมื่อเวลาผ่านไปหลายชั่วโมง ความรุนแรงหรืออาการจำเพาะของปฏิกิริยาการแพ้ขึ้นกับสาเหตุต่างๆดังต่อไปนี้

1. ชนิดและจำนวนของสารก่อภูมิแพ้ (allergen) ที่บริโภค
2. ปริมาณการดื่มแอลกอฮอล์
3. การใช้ยาแอสไพรินหรือยาอื่นๆ เช่น beta-blocker และ angiotensin-converting enzyme inhibitors
4. การออกกำลังกาย
5. ความเครียด
6. ความไวต่อการกระตุ้นของตัวผู้แพ้

อาการที่พบได้บ่อยในการแพ้อาหาร (food allergies) คือ อาการคันและบวมที่ปาก Anaphylaxis เป็นปฏิกิริยาการแพ้ที่รุนแรงที่เกิดขึ้นเฉียบพลันและอาจทำให้เสียชีวิตได้ ในยุโรปและอเมริกา ถั่วลิสงและถั่วเปลือกแข็งต่างๆจะเป็นอาหารที่มีการรายงานว่าเป็นสาเหตุของ Anaphylaxis มากที่สุด สำหรับในประเทศญี่ปุ่น นม ไข่ และข้าวสาลี เหมือนว่าจะเป็นอาหารที่มีส่วนร่วมกับการเกิด Anaphylaxis ด้วยเช่นกัน หากเกิดอาการแพ้จะต้องให้ยา adrenaline เพื่อช่วยบรรเทาอาการความรุนแรง

สำหรับการแพ้ชนิด class I allergy สามารถลดความรุนแรงได้โดยอาหารที่มีองค์ประกอบของโปรตีนที่เป็นตัวที่ทำให้เกิดอาการแพ้ถูกนำผ่านกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การให้ความร้อน (ย่างหรือต้ม) การทำให้โปรตีนสลายตัวและถูกย่อยไป

การแพ้ชนิด class II allergy เป็นผลที่ตามมาของการถูกกระตุ้นจากสารก่อภูมิแพ้จากการได้รับสัมผัสจากทางเดินหายใจทำปฏิกิริยากันกับสารภูมิแพ้ในผลไม้และผัก สารที่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ชนิดนี้จะเป็นสารที่มีการเปลี่ยนแปลงหรือสลายไปได้มากกว่าสารก่อภูมิแพ้ที่มีสาเหตุมาจากการแพ้ชนิด class I และจะเป็นสาเหตุของกลุ่มอาการของโรคที่เรียกว่า oral allergy syndrome แต่สามารถทำให้เกิดอาการ anaphylaxis

<u>การประเมินความเสี่ยงในการแพ้อาหาร (Risk assessment in food allergy)</u>

การประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสารก่อภูมิแพ้ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์อาหารโดยไม่ได้อยู่ในรูปแบบของส่วนประกอบที่ตั้งใจเติมลงไปแต่เป็นการปนเปื้อนโดยความไม่ตั้งใจ เช่น นมในช็อกโกแลตดำ (Dark chocolate) อีกกรณีหนึ่งเช่น การได้รับการยกเว้นที่จะระบุในฉลาก เช่น ในกรณีที่โปรตีนที่หลงเหลืออยู่ในน้ำมันถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการกลั่น

การประเมินความเสี่ยงจะอยู่บนพื้นฐานข้อมูลจากการทดลองในผู้ป่วยที่แพ้อาหาร ข้อมูลการบริโภค ระดับของการปนเปื้อนของอาหารที่มีสารก่อภูมิแพ้ หรือข้อมูลของอัตราการเกิดการแพ้ การประเมินความเสี่ยงที่ปฏิบัติมากที่สุดจะเป็นการประเมินเป็นกรณีๆไป นำข้อมูลที่เกี่ยวข้องไปอธิบาย การประเมินความเสี่ยงจะสรุปได้ว่าของการปนเปื้อนสารก่อภูมิแพ้ (Allergen) จะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาที่มีผลเสียต่อคนที่เป็นโรคภูมิแพ้อาหารใช่หรือไม่ การประเมินความเสี่ยงของสารก่อภูมิแพ้เป็นเรื่องที่ค่อนข้างใหม่และยังไม่มีข้อสรุปในปัจจุบันว่าจะใช้วิธีการใดในการประเมินแต่มีแนวคิดที่ถูกแนะนำให้ใช้ในการประเมินเป็น 3 แนวทางดังต่อไปนี้

1) ค่า NOAEL และปัจจัยความไม่แน่นอน (Uncertainty factors)

2) Benchmark dose (BMD) และ Margin of expose (MOE)

3) การประเมินความเสี่ยงที่มีความน่าจะเป็นไปได้

- วิธีที่ 1 การประเมินความเสี่ยงในการแพ้อาหารโดยใช้ thresholds และuncertainty factors ขึ้นอยู่กับการใช้ข้อมูลจากการทดลองที่สามารถระบุค่า NOAEL หรือ LOAEL (ถ้าค่า NOAEL ไม่ได้ถูกระบุ) การประเมินความเสี่ยงให้ใช้ค่า NOAEL หารด้วย Uncertainty factors การกำหนดค่า uncertainty factors สำหรับการประเมินการแพ้อาหารยังไม่ได้เป็นข้อตกลงร่วมกันแต่แนะนำว่าให้ใช้ค่าเท่ากับ 10 เพื่อชดเชยความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองและให้เพิ่ม Uncertainty factors อีก 10 เพื่อที่จะชดเชยกับปฏิกิริยาความรุนแรงในกลุ่มประชากรที่มีความไวต่อการกระตุ้นสูง ข้อดีของวิธีนี้คือ ค่อนข้างง่ายและการใช้วิธีนี้ก็เป็นที่รู้จักกันดีในทางพิษวิทยา ข้อเสียคือ การประเมินอยู่บนพื้นฐานของค่า NOAEL หรือ LOAEL ค่าเดียวที่ได้จากการศึกษาเพียงการศึกษาเดียวและค่าที่ได้อาจเป็นค่า thresholds ที่ต่ำเกินไปที่จะนำไปใช้ อย่างไรก็ตามการใช้รูปแบบการคำนวณทางคณิตศาสตร์บนพื้นฐานการกระจาย (distribution model) ของผลบวกจากการศึกษาเดียวหรือจากการรวมผลของการศึกษาอื่นที่มีการศึกษาการแพ้อาหารเหมือนกันได้ถูกแนะนำให้ใช้แทนการใช้จุดข้อมูลเดียวจากการศึกษาเดียว ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาการแพ้ถั่วลิสงจะนำค่าจากการศึกษา 12 การศึกษาจากผู้ป่วย 185 คน มากำหนดค่า BMD โดยใช้ distribution model ค่า ED_{10} คือ ปริมาณหรือขนาดที่ทำให้ผู้ป่วยแสดงอาการแพ้คิดเป็นร้อยละ 10 ของจำนวนผู้ที่แพ้ถั่วลิสงทั้งหมด ทั้งนี้ค่า ED_{10} ของการแพ้ถั่วลิสงมีค่าเท่ากับ 17.6, 17.0, หรือ 14.6 มิลลิกรัม ค่าที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับรูปแบบที่เลือกใช้
- วิธีที่ 2 วิธี Margin of expose (MOE) จะใช้ค่าที่ต่ำกว่า 95% confidence limit ของ BMD ซึ่งเรียกว่า the Benchmark dose lower limit (BMDL) ค่า MOE เท่ากับปริมาณการได้รับอาหาร (estimated intake) ที่มีสารก่อภูมิแพ้อาหารหารด้วย BMDL ข้อดีของวิธีนี้ คือ ใช้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องทั้งหมดในการตั้งค่า BMD ข้อเสียคือ ไม่ได้อธิบายความเสี่ยงในเชิงปริมาณ
- วิธีที่ 3 รูปแบบการประเมินความเสี่ยงความน่าจะเป็น (The probabilistic risk assessment model) เป็นการคำนวณจำนวนที่เป็นไปได้มากที่สุดของการเกิดการแพ้ที่อาจจะเป็นผลจากการได้รับสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารไม่ได้ตั้งใจ การคำนวณจะใช้การกระจายตัวของ positive challenges ร่วมกับความสัมพันธ์กับตัวแปรขององค์ประกอบของสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นส่วนประกอบในอาหาร ซึ่งตัวแปรเหล่านี้จะรวมถึง ปริมาณการบริโภคของส่วนประกอบที่ทำให้แพ้ ปริมาณของอาหารที่บริโภคต่อการบริโภค 1 ครั้งที่เกิดอาการแพ้นั้น ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำให้ได้ผลการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ ข้อเสียคือ ข้อมูลที่ต้องการไม่ได้มีแค่ข้อมูล challenges เท่านั้นแต่ต้องรู้ข้อมูลการกระจายตัวของข้อมูลการบริโภคด้วย

ปฏิกิริยาของสารภูมิแพ้ในอาหาร (food allergen) จะคล้ายคลึงกับกรณีของการเกิดพิษเฉียบพลันมากกว่าการเกิดพิษแบบเรื้อรัง ดังนั้นในการประเมินการได้รับสัมผัสที่ตรงกับปัญหาควรจะอยู่บนพื้นฐานของมื้ออาหาร/โอกาสที่จะได้รับมากว่าการได้รับสัมผัสตลอดทั้งวันหรือจากอาหารเพียงชนิดเดียว

<u>การประเมินการเกิดภูมิแพ้ของอาหารดัดแปรพันธุกรรม (Genetically modified: GM)</u>

ส่วนหนึ่งของการประเมินความปลอดภัยของอาหารดัดแปรพันธุกรรมคือ การประเมินว่าโปรตีนที่ตัวใหม่ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการดัดแปรพันธุกรรมนั้นมีผลก่อให้เกิดการแพ้หรือไม่ โดยมีวัตถุประสงค์ในการประเมินเพื่อ

- ปกป้องผู้ที่แพ้อาหารจากการได้รับสัมผัสต่อสารก่อภูมิแพ้ (allergen)
- ปกป้องประชาชนทั่วไปจากการได้รับสารก่อภูมิแพ้ในอาหาร (food allergens) ชนิดใหม่

จากข้อกำหนด FAO/WHO (2001b) แนะนำว่าให้เปรียบเทียบระหว่างโปรตีนที่แสดงออกกับสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นที่รู้จักแล้ว (โปรตีนชนิดนี้ถูกบันทึกไว้แล้วในฐานข้อมูล) ดังนี้

- กรณีที่ 1 หากลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีนที่แสดงออกมากกว่าร้อยละ 35 เหมือนกันกับลักษณะของโปรตีนที่ถูกบันทึกอยู่ในฐานข้อมูล
- หรือ กรณีที่ 2 คือ มี contiguous amino acids 6 ชนิดที่เหมือนกันกับโปรตีนที่มีในฐานข้อมูล

หากพบว่าให้ผลลบในกรณีที่ 1 แต่ให้ผลบวกในกรณีที่ 2 ให้ยืนยันผลโดยการทดสอบที่ใช้สารภูมิต้านทานที่เหมาะสมจากคนหรือสัตว์เพื่อประเมินศักยภาพในการเกิด cross-reactivity แต่หากให้ผลบวกในกรณีที่ 1 จะถูกพิจารณาว่าสารใหม่นั้นเป็นสารก่อภูมิแพ้ได้เลยโดยไม่ต้องทำการทดสอบในกรณีที่ 2

2. การแพ้ชนิดที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันระบบอื่นที่ไม่ใช่ IgE (non-IgE-mediated food allergy) คือโรค Coeliac หรือ โรคแพ้กลูเตน ซึ่งเป็นโรคที่ลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้จากการบริโภคกลูเตน (gluten) ซึ่งกลูเตนเป็นโปรตีนที่พบได้ใน ข้าวสาลี ข้าวบาเล่ย์ และข้าวไรย์ เมื่อคนที่ป่วยด้วยโรค Coeliac รับประทานกลูเตน (gluten) ปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกันวิทยาในลำไส้เล็กจะทำให้เกิดการฝ่อของเยื่อบุลำไส้เล็ก เยื่อบุลำไส้จะเสียหายจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของระบบภูมิคุ้มกันไม่ใช่จากสารภูมิต้านทาน อาการแพ้กลูเตนจะมีความแตกต่างไปจากอาการแพ้อาหาร การรักษาผู้ป่วยจะต้องหลีกเลี่ยงอาหารที่ทำให้เกิดอาการแพ้ โรคนี้เป็นความผิดปกติหลายอย่างรวมกันด้วยการปรากฏอาการต่างๆที่ไม่ได้เกิดแค่ระบบทางเดินอาหาร หลายๆอาการและหลายโรคจะเกิดร่วมกับโรคแพ้กลูเตนด้วย ตัวอย่างเช่น เยื่อบุลำไส้ที่ฝ่อจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการดูดซึมสารอาหารที่ไม่ดีในลำไส้ทำให้เกิดการดูดซึมธาตุเหล็กได้ไม่ดีก่อให้เกิดโรคโลหิตจาง การดูดซึมวิตามิน บี 12 ได้ไม่ดีทำให้เกิดโรคสมองเสื่อม เป็นต้น โรคแพ้กลูเตนมักจะพบว่าเกี่ยวข้องกับโรคทางระบบภูมิคุ้มกันอื่น เช่น เบาหวานและโรคข้ออักเสบรูมาทอยด์ได้บ่อย

การประเมินความเสี่ยงของโรค Coeliac

การกำหนดปริมาณกลูเตนที่ผู้ป่วยโรค Coeliac สามารถรับได้จะต้องทำการศึกษาเป็นระยะเวลาที่นานพอ (เช่น 90 วัน) โดยอาการความผิดปกติจะถูกติดตามหรือประเมินจากระดับของสารภูมิต้านทานในซีรั่มรวมกับการดูการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของลำไส้เล็ก โดยทั่วไปแล้วพบว่าผู้ป่วยโรคนี้จำนวนมากควรจะบริโภคกลูเตนได้ในปริมาณที่ต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อวัน การกำหนดค่าสูงสุดตามมาตรฐานของ Codex สำหรับอาหารที่วัตถุประสงค์พิเศษสำหรับผู้ที่มีอาการแพ้กลูเตนมีการกำหนดเป็น 2 มาตรฐาน (FAO/WHO, 2008) ดังต่อไปนี้

1. ผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากกลูเตน (gluten-free) จะต้องมีปริมาณของกลูเตนต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
2. ผลิตภัณฑ์กลูเตนต่ำมาก (very low gluten contain) อาจจะมีกลูเตนได้ตั้งแต่ 20-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ส่วนวิธีการตรวจสอบกลูเตนให้ใช้วิธีที่เรียกว่า R5 ELISA method for gluten/gliadin ซึ่งวิธีนี้จะมีความไวและข้อจำกัดของการตรวจวัดที่ระดับ gliadin ที่มากกว่า 1.5มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ภาวะภูมิไวเกินต่ออาหารที่ไม่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Non-immune-mediated food hypersensitivity) ได้แก่ 1) ภาวะความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม (metabolic disorder) เช่น lactose intolerance (อาการไม่พึงประสงค์จากภาวะการขาดเอนไซม์แลคแตส) และ Favism (การขาดเอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase) 2) ภาวะภูมิไวต่อวัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะกรณีบางคนที่มีความไวเท่านั้นหรือยกเว้นกรณีของซัลไฟต์ที่จะเกิดอาการแพ้ในผู้ป่วยหอบหืดส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนัง

3.11 หลักการในการศึกษาในมนุษย์โดยทั่วไป (General principles of studies in humans)

EHC 70 (IPCS, 1987) ได้ชี้แจงว่า JECFA ยอมรับข้อมูลในมนุษย์ที่บางครั้งมีความต้องการสำหรับบางข้อมูลและจะมีการใช้ข้อมูลเหล่านั้นเสมอในการประเมิน ในขณะที่ EHC 104 (IPCS, 1990) ได้กล่าวไว้ว่าข้อมูลของมนุษย์ทั้งหมด เช่น ข้อมูลการได้รับสัมผัสที่เกิดขึ้นโดยบังเอิญ จากอาชีพที่ทำ และการได้รับสัมผัสในการทดลองซึ่งเป็นพื้นฐานสำหรับการประเมินทางด้านพิษวิทยาทั้งหมดของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือสัตว์ (pesticides) และสารที่ตกค้างในอาหารซึ่ง EHC 104 ได้สรุปไว้ 3 หลัก ดังนี้

1. การเสนอข้อมูลของมนุษย์เพื่อวัตถุประสงค์ในการกำหนดค่าขนาดที่ก่อให้เกิดผลกระทบและความสัมพันธ์ของขนาดที่ก่อให้เกิดการตอบสนองในมนุษย์นั่นคือข้อมูลต้องแสดง dose response relationship จึงจะได้รับการยอมรับเป็นอย่างมาก
2. การศึกษาในอาสาสมัครจะเป็นตัวสำคัญที่มีความเกี่ยวข้องโดยการนำค่าหรือข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลองมาใช้กำหนดขนาดหรือรูปแบบของการศึกษาในมนุษย์ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องคำนึงถึงด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ด้วยเป็นสิ่งสำคัญ

3. การใช้ข้อมูลการเปรียบเทียบเมแทบอลิกระหว่างมนุษย์และสัตว์ชนิดต่างๆควรต้องคำนึงถึงเมื่อจะทำการประเมินค่าที่ได้จากสัตว์มาสู่มนุษย์

ข้อมูลของ EHC ในปัจจุบันได้ใช้หลักการรูปแบบขนาดที่ตอบสนอง (does-response modeling) (IPCS, 2009) เพื่อยืนยันค่าหรือขนาดการบริโภคในมนุษย์:

"In the evaluation of human health risks, sound human data, whenever available, are preferred to animal data. Animal and in vitro studies provide support and are used mainly to supply evidence missing from human studies. It is mandatory that research on human subjects is conducted in full accord with ethical principles, including the provisions of the Helsinki Declaration" (see World Medical Association, 1997) ข้อความดังกล่าวหมายถึง

"ในการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ ข้อมูลของมนุษย์ที่ดีไม่ว่าจะมีการได้มาซึ่งข้อมูลในลักษณะใดก็ตามจะถูกเลือกนำมาเป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงมากกว่าข้อมูลจากสัตว์ทดลอง ผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองและนอกสัตว์ทดลอง (in vitro) จะนำมาเป็นข้อมูลสนับสนุนซึ่งโดยส่วนใหญ่จะถูกนำมาใช้เพื่อทดแทนหรือเพิ่มเติมหลักฐานที่การศึกษาในมนุษย์ไม่มี มันเป็นข้อบังคับว่าการวิจัยในผู้ที่ได้รับการทดลองที่เป็นมนุษย์จะต้องทำด้วยความสมัครใจตามหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ซึ่งรวมถึงมาตรการตามที่ระบุใน Helsinki Declaration"

ข้อมูลจากมนุษย์จะมีความสำคัญเป็นอย่างมากในการระบุและอธิบายลักษณะของอันตรายและการประเมินความเสี่ยงต่างๆของส่วนประกอบหลักในอาหารและในสารเคมีต่างๆ เช่น วัตถุเจือปนอาหาร สิ่งที่ปนเปื้อนและสิ่งที่ตกค้างของยาและสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือสัตว์ (Pesticides) ข้อมูลอาจจะได้มาจาก

- การทดลองในอาสาสมัครที่เป็นมนุษย์ที่มีการออกแบบการทดลองที่มีกลุ่มควบคุมและมีจุดผลลัพธ์สุดท้ายที่จำเพาะหรือพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetic)
- การศึกษาด้านการควบคุมดูแล (surveillance) ที่รวมถึงการเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์หลังวางจำหน่าย (surveillance post-marketing)
- การศึกษาทางระบาดวิทยาของประชากรในระดับที่แตกต่างกันของการได้รับสัมผัสที่อาจจะเป็นส่วนสำคัญ โดยเฉพาะในการปนเปื้อนต่างๆ
- การศึกษาที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการหรือการศึกษาทางระบาดวิทยาในประชากรเฉพาะกลุ่ม
- การรายงานทางคลินิกหรือการรายงานอาการความผิดปกติของผู้ป่วยมากกว่าหนึ่งราย (case-series) ในผู้ป่วยแต่ละราย

การสังเกตในมนุษย์อาจจะได้มาจากการศึกษาระยะสั้นที่รวมถึงการได้รับสัมผัสที่ถูกควบคุมของบุคคลกลุ่มจำนวนน้อยๆที่ได้รับการทดลองที่ถูกติดตามอย่างเข้มงวดในห้องปฏิบัติการทางคลินิกหรือได้จากการศึกษาของบุคคลจำนวนมากที่ได้รับสัมผัสในระยะยาวและเป็นการศึกษาที่ถูกควบคุมไม่ค่อยเข้มงวด

มากนักของผู้ถูกทดลองที่อาศัยอยู่ในชุมชน แต่ยังคงถูกควบคุมปริมาณการได้รับสัมผัสอยู่ หรือการสังเกตจากระบาดวิทยาของประชากรในชุมชนที่เป็นกลุ่มประชากรส่วนใหญ่ในการใช้ชีวิตและการรับประทานอาหารที่เป็นปกติ จุดผลลัพธ์สุดท้ายอาจจะรวมการตรวจสอบความปลอดภัยหรือความทนได้ (Tolerance) ภาวะโภชนาการและลักษณะการทำหน้าที่ของอาหารและองค์ประกอบอาหาร เมแทบอลิซึมและพิษจลนศาสตร์ของสารเคมี กลไกหรือรูปแบบการทำงาน การใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ที่เป็นไปได้สำหรับผลกระทบที่ระบุในการศึกษาในสัตว์ทดลองและผลกระทบที่มีผลเสียต่อสุขภาพจากการได้รับสัมผัสที่ไม่ได้ตั้งใจ เช่น การปนเปื้อน เป็นต้น

The WHO Scientific Group on Procedures for Investigating Intentional and Unintentional Food Additives (WHO, 1967) ได้เน้นย้ำประเด็นดังต่อไปนี้

> *“the need, at a relatively early stage, to obtain information on the absorption, distribution, metabolism, and elimination of the chemical in human subjects, since this makes it possible to compare this information with that obtained in various animal species and to choose the species that are most likely to have a high predictive value for human responses.” ซึ่งมีความหมายดังนี้*
>
> *“ความต้องการในขั้นแรกๆ จะมีความเกี่ยวข้องกับข้อมูลการดูดซึม การกระจายตัว เมแทบอลิซึมและการขับออกของสารเคมีในอาสาสมัครที่ได้รับการทดสอบที่ซึ่งจะทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะเปรียบเทียบข้อมูลนี้กับข้อมูลที่ได้จากสัตว์ทดลองชนิดต่างๆที่หลากหลายและให้เลือกชนิดของสัตว์ทดลองที่คล้ายคลึงกับมนุษย์มากที่สุด”*

ประเด็นสำคัญที่ต้องคำนึงถึงเมื่อทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์ คือ จริยธรรม ความชำนาญและการควบคุมต่างๆตามกฎหมายพื้นฐานซึ่งระบุความจำเป็นของการศึกษาในมนุษย์และการปฏิบัติอย่างเหมาะสมต่ออาสาสมัคร ก่อนทำการวิจัยในมนุษย์ต้องพิจารณาข้อมูลจาก *ex vivo* และ *in vitro* ของการศึกษาที่ใช้เนื้อเยื่อในมนุษย์ว่ามีเพียงพอหรือไม่ก่อน บางข้อมูลที่คล้ายกันทำให้มีประโยชน์ที่เพิ่มขึ้นในการรวบรวมข้อมูลทางระบบเมแทบอลิกของมนุษย์เข้ากับระบบการทดสอบใน *in vitro* เข้าด้วยกัน ก่อนที่จะให้การรับรองการทดลองใหม่ใน *in vivo* ของมนุษย์ให้พิจารณาข้อมูลการศึกษาที่ผ่านมาดังนี้ ข้อมูลทางคลินิกจากแหล่งอื่น เช่น การสังเกตผลกระทบอย่างใดอย่างหนึ่งจากการได้รับสัมผัสสารเคมีที่เป็นที่น่าสนใจในสถานที่ทำงาน รายงานของการได้รับสารเคมีเกินขนาดและการเปรียบเทียบการได้รับยาชนิดเดียวกันที่ใช้ในการรักษามนุษย์หรือสัตว์ควรจะถูกนำวิเคราะห์เพื่อประเมินความจำเป็นของงานวิจัยที่จะทำการศึกษาในมนุษย์เพิ่มเติม การคำนึงถึงจริยธรรมที่เพิ่มขึ้นเกี่ยวกับความจำเป็นและความปลอดภัยของการศึกษาในมนุษย์หมายความว่าในอนาคตมันอาจจะมีความยากมากขึ้นในการแสดงเหตุผลและได้รับการรับรองทางด้านจริยธรรมสำหรับการศึกษาในมนุษย์ที่เกี่ยวข้องกับการได้รับสารที่ไม่มีผลทางการรักษาโรค

ประเภทของการศึกษาในมนุษย์ (Types of studies in humans)

ประเภทของการศึกษาในมนุษย์ดังแสดงใน **ตารางที่ 2**

อาสาสมัครของการศึกษาวิจัยที่ต้องใช้มนุษย์ที่เข้าร่วมการศึกษาจะต้องเข้าใจและรับทราบวัตถุประสงค์ของการศึกษาที่ตนเองเข้าร่วม การได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการศึกษาในมนุษย์ผู้ทำการศึกษาจะต้องแสดงการคำนวณขนาดของอาสาสมัครที่ต้องใช้ในการศึกษาที่สนองตอบวัตถุประสงค์ของการศึกษาซึ่งจะต้องแสดงผลลัพธ์ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งนี้วิธีการทางสถิติที่นำมาใช้จะต้องเป็นวิธีการที่เป็นมาตรฐาน จำนวนของอาสาสมัครจะต้องแสดงขนาดและรายละเอียดของกลุ่มควบคุมทั้งนี้ให้คำนึงถึงจำนวนของอาสาสมัครที่ถอนตัวจากการศึกษาด้วย อัตราการถอนตัวขึ้นอยู่ผลกระทบที่เกิดขึ้นเองในขณะทำการศึกษาและแบบแผนการศึกษาก่อให้เกิดความไม่สะดวกแก่อาสาสมัครในการให้ความร่วมมือ

ตารางที่ 2. หลักการของวิธีการศึกษาในมนุษย์ที่กำหนดโดย JECFA และ JMPR

Type of study	Principal features	Common reasons for considering it
Short-term	Control of exposure with the administration of low doses predicted to be non-toxic. Intensive monitoring of end-points, effect and safety. Usually in healthy volunteers. Special studies may be undertaken in population subgroups, such as diabetics taking intense sweeteners.	
Physiology	Functional effects on gastrointestinal tract or other body system.	Basic research. Effect of dietary component.
Pharmacology	Interference with normal functions.	Basic research. Potentially harmful effects of dietary components, such as inhibition of AChE. Identification and cause of intolerance.
Biochemistry	Mechanistic investigation of action on metabolic processes.	Basic research. Mechanism of potentially adverse effects, such as enzyme inhibition or enzyme induction. Identification and cause of intolerance.
Toxicokinetics	Absorption, disposition, metabolism and clearance of substance.	Identification of species differences to assist interspecies extrapolation. Identification of genotypic or phenotypic differences to assist identification of possibly vulnerable population subgroups. Validation of biomarkers of exposure.
Immunology	Effects on or via immune system.	Basic research. Potentially harmful effects of dietary components, such as allergic sensitization. Identification and cause of intolerance.

ตารางที่ 2. หลักการของวิธีการศึกษาในมนุษย์ที่กำหนดโดย JECFA และ JMPR (ต่อ)

Type of study	Principal features	Common reasons for considering it
Nutrition	Effects on blood levels of essential nutrients or other biomarkers.	Interference with normal nutritional processes, such as the absorption of micronutrients.
Toxicology	Low exposure usually of limited duration. Sensitive indicator of minimal effect (biomarker).	Mechanistic investigations using reversible biomarkers of effect. Identification and cause of intolerance.
Long-term	In general populations or selected subgroups. Exposure via normal dietary matrix and conventional preparative methods.	
Epidemiology	Case-series, case–control or cohort studies, etc.	Identification and characterization of adverse effects, usually for inadvertent contaminants.
Toxicology	Tolerability	Assessment of general tolerability of an approved substance administered at or close to the health-based guidance value.

- การศึกษาทางห้องปฏิบัติการทางคลินิกระยะสั้น (Short-term clinical laboratory studies)

ลักษณะสำคัญของการศึกษาทางห้องปฏิบัติการทางคลินิกคือ 1) ต้องเป็นการศึกษาระยะสั้น 2) เป็นการศึกษาที่ใช้อาสาสมัครจำนวนน้อยเพียงแค่ 2-3 คน ภายใต้การดูแลที่ใกล้ชิดของผู้ที่เชี่ยวชาญ 3) ลักษณะและปริมาณของการได้รับสัมผัสของอาสาสมัครต่อสิ่งที่ต้องการทดสอบจะถูกจำกัดอย่างเคร่งครัด 4) การประเมินความปลอดภัยและความทนได้ (tolerance) จะถูกควบคุมติดตามอย่างใกล้ชิด

การศึกษาทางห้องปฏิบัติการทางคลินิกระยะสั้นจะครอบคลุมการศึกษาดังต่อไปนี้ พิษจลนศาสตร์ของสารที่ต้องการทดสอบที่กระทบต่อการทำงานหรือหน้าที่และกระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น การดูดซึมไขมันในอาหาร ระดับไขมันในเลือด การดูดซึมและการนำเข้า (uptake) ของแคลเซียมหรือธาตุเหล็กในร่างกาย ผลกระทบต่อวิตามินและการแทนที่วิตามิน ผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ (intestinal flora) และอื่นๆ สำหรับวัตถุเจือปนอาหาร ยาสัตว์ (veterinary drugs) และ สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือสัตว์ (pesticides) การดูดซึม เมทาบอลิสมและการขับออกของมนุษย์สามารถอธิบายโดยการศึกษาแบบที่เรียกว่าการศึกษาการให้สารเคมีขนาดเดียว (single-does studies) ที่ถูกออกแบบอย่างเหมาะสมโดยการเลือกขนาดที่ใช้ในการทดสอบตามค่าที่กำหนดตามคำแนะนำของสารที่ควรได้รับต่อวัน (health-based guidance value) ซึ่งอยู่บนพื้นฐานข้อมูลทางด้านพิษวิทยา การเข้าใจวิถี (fate) ของสารเคมีในร่างกายสามารถทำได้โดยสารที่ต้องการทดสอบจะถูกติดฉลาก (labeled materials) เพื่อติดตามการดูดซึมและการนำเข้า (uptake) และกระบวนการจัดการสารเคมี (disposition) ภายในร่างกาย เช่น radioactive หรือไอโซโทรปที่มีความเสถียร สำหรับการศึกษาการออกฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันวิทยา เภสัชวิทยา สรีรวิทยา หรือพยาธิสรีรวิทยาอย่างใดอย่างหนึ่งของสารเคมีที่อาจจะเป็นการศึกษาการใช้ขนาดสารเคมีขนาดเดียว (single-does studies) หรือขนาดจำนวนน้อย แต่อย่างไรก็ตามการจะใช้ขนาดเดียวหรือหลายขนาดให้คำนึงถึงผลที่สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ (reversible effect) โดยทั่วไปแล้วดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ที่จะทำการวัดจะเป็นผลที่เปลี่ยนกลับไปมาเรียบร้อยแล้วมากกว่าผลที่แสดงออกในความผิดปกติของสุขภาพ การศึกษาระยะสั้นสามารถใช้เพื่อประเมินผลกระทบใดผลกระทบหนึ่งของสารเคมีในอาหารต่อสรีรวิทยาตามปกติ ภาวะโภชนาการ ชีวเคมีหรือกระบวนการทางร่างกายอื่นๆ รสชาติและลักษณะที่น่ารับประทานของอาหาร ในกรณีที่ต้องศึกษาในกลุ่มคนที่มีความจำเพาะให้ใช้หลักการตัดสินผลเช่นเดียวกับในคนปกติและต้องได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมเช่นเดียวกับการศึกษาในคนปกติ

กรณีการศึกษาวิจัยขององค์ประกอบอาหารที่เตรียมจาก GM organisms เช่น เอนไซม์ที่ถูกประเมินโดย JECFA ที่เป็นที่สนใจโดยเฉพาะอย่างยิ่งในยุโรปที่การศึกษาทางคลินิกถูกนำมาใช้ในการประเมินการยอมรับ บรรทัดฐานสำหรับความเหมาะสมและการยอมรับที่จะทำการศึกษาให้อ้างอิงตาม the United Kingdom Advisory Committee on Novel Foods and Processes (FSA, 2002) การประเมินความปลอดภัยขององค์ประกอบของอาหารและสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ที่มาจาก GM organisms จะต้องทำการศึกษาโดยใช้สัตว์กัดแทะเป็นระยะเวลา 90 วัน

- การศึกษาทางห้องปฏิบัติการทางคลินิกระยะยาว (More prolonged clinical laboratory studies)

หลักการคือ องค์ประกอบของอาหารจะถูกให้กับกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีหรือผู้ป่วยเป็นช่วงระยะเวลาหลายวันหรือไม่ก็ 2-3 สัปดาห์ ที่อยู่ในข้อกำหนดการปฏิบัติทางคลินิกที่ถูกควบคุม แต่ในความเป็นจริงสิ่งที่รบกวนต่อกิจกรรมของมนุษย์ที่เป็นปกตินั้นหมายถึง ถ้าการศึกษาเป็นการศึกษาระยะยาวมากกว่า 2-3 วัน การออกแบบที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาที่อาจเป็นไปได้ต่อผู้ได้รับการทดลองตลอดการทดสอบเป็นระยะเวลาต่อเนื่องในขณะที่การใช้ชีวิตปกติของผู้ถูกทดสอบและกลับมาห้องปฏิบัติการเป็นระยะๆในการวัดและการสังเกต วิธีนี้สามารถทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่จะสนับสนุนความปลอดภัยและความทนได้ (tolerability) ขององค์ประกอบของอาหารที่ได้รับการประเมิน ตัวอย่างที่ดีของวิธีการนี้คือ การศึกษาของแอสปาแตมในอาสาสมัคร 53 คน ที่ได้รับแอสปาแตม 75 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 26 สัปดาห์ (Leon et al., 1989)

อย่างไรก็ตามการทดสอบทางคลินิกในมนุษย์ทั้งระยะสั้นและระยะยาวที่ได้นำเสนอมาแล้วเป็นแนวทางสำหรับการขออนุญาตในระบบ pre-marketing คือเป็นข้อมูลก่อนการวางจำหน่าย

<u>แหล่งข้อมูลอื่นที่เกี่ยวกับผลกระทบต่างๆในมนุษย์ (Other sources of information about effects in humans)</u>

โดยมีแหล่งข้อมูลอื่นที่เกี่ยวกับผลกระทบต่างๆในมนุษย์ที่นำมาใช้อ้างอิงได้ดังนี้

- การเกิดพิษ (Poisoning)

การรายงานกรณีที่เกิดพิษในผู้ป่วย (case-reports) และรายงานผู้ป่วยมากกว่าหนึ่งราย (case-series) จากการติดตามกรณีการเกิดพิษที่เกิดขึ้นโดยเจตนาหรือเป็นอุบัติเหตุ เช่น จาก ข้อมูลในส่วนภูมิภาคและศูนย์ข้อมูลการเกิดพิษแห่งชาติซึ่งจะเป็นตัวบ่งบอกที่เป็นประโยชน์มากของอันตรายที่มีสาเหตุมาจากสารเคมีขนาดสูงเช่นเดียวกับข้อมูลที่ได้จากการเกิดพิษจากการประกอบอาชีพ โดยรายงานต้องเป็นการอธิบายด้วยการคำนึงถึงความเกี่ยวข้องกับแบบแผน การได้รับสัมผัสในขนาดต่ำ แต่ข้อมูลที่ได้จากการเกิดพิษจากการประกอบอาชีพยังเป็นข้อมูลที่สำคัญในการบ่งชี้อวัยวะเป้าหมายและผลกระทบที่เกิดขึ้นรวมถึงระดับขนาดที่ทำให้เกิดพิษด้วย ข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาที่มีประสิทธิภาพสามารถเป็นแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อกลไกของการเกิดพิษและพิษจลนศาสตร์ของสารเคมีในมนุษย์ด้วย

- เนื้อเยื่อต่างๆของมนุษย์และส่วนผสมที่ถูกเตรียมขึ้นเพื่อการทดสอบนอกร่างกายสัตว์ทดลอง (*in vitro*)

การทดลองนอกร่างกายสัตว์ทดลอง (*in vitro*) ที่ใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อของมนุษย์หรือส่วนผสมที่ถูกเตรียมขึ้นที่มีองค์ประกอบของเอนไซม์มนุษย์ ตัวรับ (receptors) และปัจจัยในระดับย่อยของเซลล์ (subcellular factors) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในมนุษย์เนื่องจากการขาดกระบวนการดูดซึม การกระจายตัว วิถีหรือแนวทางของเมแทบอลิซึมที่เปลี่ยนแปลงและการขับออกซึ่งเป็นข้อแตกต่างกับการศึกษาในมนุษย์ แต่ข้อดีหรือประโยชน์ของการศึกษาในลักษณะนี้คือ เราสามารถศึกษากลไกการออกฤทธิ์ภายใต้สภาวะที่ถูกควบคุม ความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบควรจะให้ผลที่สัมพันธ์กันระหว่าง

ความเข้มข้นในเลือดและเนื้อเยื่อของสารเคมีและการเปลี่ยนแปลงทางพิษจลนศาสตร์เพื่อที่จะระบุผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการศึกษานอกร่างกายสัตว์ทดลองซึ่งอาจส่งผลที่เป็นไปได้ในสัตว์ทดลอง

<u>ประเด็นที่เกี่ยวกับด้านจริยธรรม กฎหมาย ข้อกำหนด</u>

ประเด็นที่เกี่ยวกับด้านจริยธรรม กฎหมาย ข้อกำหนดต้องนำมาพิจารณาในการศึกษาที่มีความเกี่ยวข้องกับมนุษย์และเนื้อเยื่อของมนุษย์ซึ่งบางอย่างจะเหมาะสมที่จะใช้ได้ทั่วโลกและบางอย่างจะจำเพาะสำหรับภูมิภาคที่ทำการศึกษา ปัจจัยร่วมที่มีผลกระทบต่อการศึกษาในมนุษย์จะต้องเป็นกฎหมายแห่งชาติที่ควบคุมเกี่ยวกับแนวโน้มที่ก่อให้เกิดอันตรายที่เป็นผลจากการได้รับสัมผัสหรือการทดลอง ความต้องการในการรับประกันความเสี่ยงและการปกป้องทางกฎหมายที่ครอบคลุมสามารถทำให้เกิดความไว้วางใจว่าข้อมูลส่วนบุคคลจะถูกปิดเป็นความลับ หลายสิ่งที่ต้องการจะต้องเป็นข้อบังคับและไม่ยินยอมหรือไม่ให้มีการฝ่าฝืน จะมีการปกป้องข้อมูลของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษาตั้งแต่เริ่มต้นโครงการ หรือเป็นวิธีการบังคับโดยใช้กฎหมาย (legal sanctions) และการลงโทษ (penalties) แบบอื่นๆหากไม่มีการดำเนินการที่ได้รับความยินยอมจากผู้เข้าร่วมโครงการ เช่น การปฏิเสธโดยหน่วยงานของข้อมูลที่ได้มา และการปฏิเสธโดยบรรณาธิการที่พิจารณารายงานเพื่อการตีพิมพ์ในสื่อสิ่งพิมพ์ทางการแพทย์

การทดลองในมนุษย์จะถูกควบคุมอย่างเข้มงวดเพื่อทำให้แน่ใจว่าอาสาสมัครจะได้รับการปกป้องคุ้มครองทางด้านจริยธรรม กฎหมาย ของอาสาสมัครและหลีกเลี่ยงความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นนั้นได้ซึ่งเป็นข้อบังคับที่ต้องปฏิบัติ ดังนั้นในการวางแผนการทำงานทางคลินิกเพื่อพิสูจน์แผนโครงการที่ทำการทดลองในมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเกี่ยวข้องกับข้อมูลที่จะถูกนำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยงที่ซึ่งจะบอกปัจจัยความไม่แน่นอน (Uncertainty) เกี่ยวกับความเสี่ยงต่างๆที่ผู้เข้าร่วมอาจจะได้รับสัมผัสได้โดยการวางแผนการทำทดลองต้องทำให้เกิดความชัดเจนในการอธิบายวัตถุประสงค์เกี่ยวกับผลต่างๆที่เกิดขึ้นจากการทดลองในมนุษย์จะทำให้ได้ข้อมูลที่มีความจำเป็นสำหรับการประเมินสารเคมีนั้นซึ่งต้องแสดงให้เห็นว่าที่มาของข้อมูลมาได้อย่างไร เช่น ข้อมูลจากการทดลองที่ใช้วิธีการดั้งเดิม การทดลองแบบ non-clinical การศึกษาที่ทำการศึกษานอกสัตว์ทดลองและในสัตว์ทดลองที่มีการใช้เนื้อเยื่อของมนุษย์หรือมีการเตรียมส่วนผสมที่แสดงคุณสมบัติเหมือนเอนไซม์ในมนุษย์ เป็นต้น แต่ควรพึงระลึกเสมอว่าข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดจะมีน้ำหนักไม่เท่ากันเมื่อนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการประเมินความเสี่ยง การควบคุมปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดในการศึกษาในบุคคลที่มีสุขภาพดีคือ ต้องมีการประเมินอย่างเป็นทางการของอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นได้โดยต้องมีการระบุอันตรายที่อาจเกิดขึ้นและมีระบบการบันทึก การประเมินขั้นพื้นฐานจะเหมือนกันในการศึกษาที่ใช้มนุษย์ในทุกรูปแบบ หลักการประเมินความเสี่ยงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะถูกนำมาใช้โดยคณะกรรมการวิจัยของหน่วยงาน (The institutional review board) ซึ่งจะต้องเป็นคณะกรรมการคนละคณะกับคณะกรรมการจริยธรรมซึ่งเป็นผู้พิจารณา การประเมินผลที่ได้จากการศึกษาหลายการศึกษาที่มีการใช้สารเคมีในอาหารให้ผู้ประเมินยึดหลักการประเมินที่นำค่าที่ได้จากการศึกษาหลายๆการศึกษาที่เป็น non-clinical คือไม่ได้ศึกษาในมนุษย์มาใช้ทำนายความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้

3.12 ผลกระทบต่อจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (Gut flora)

ปฏิกิริยาที่อาจจะเกิดขึ้นระหว่างสารเคมีต่างๆในอาหาร รวมทั้งวัตถุเจือปนอาหาร ยาสัตว์ตกค้าง (Veterinary drugs) กับจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร ควรจะถูกนำมาพิจารณาในมุมมองสองประเด็นคือ 1. ผลกระทบของจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร ต่อสารเคมีและ 2. ผลกระทบของสารเคมีในอาหารต่อจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) ทั้งนี้เนื่องจากgut microflora มีความสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิกและกระบวนการทำงานทางด้านพิษวิทยาของสารเคมีบางชนิด การประเมินความปลอดภัยควรพิจารณาความเป็นไปได้ว่าสารเคมีในอาหารอาจกระทบต่อจุลชีพประจำถิ่น (host microflora) ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของสารเคมีนั้น นอกจากนี้จุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) อาจจะกระทบต่อผลการทดสอบทางพิษวิทยาโดยกระทบต่อภาวะโภชนาการของสัตว์ทดลองที่จุลชีพอาศัยอยู่ (host animal) อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของ xenobiotics ก่อนที่จะถูกดูดซึมและถูกย่อยโดยจับกับน้ำดี ทั้งนี้ JECFA ได้คำนึงถึงประเด็นนี้และได้ให้ความสนใจต่อการประเมินทางพิษวิทยาที่ต้องศึกษาเมแทบอลิซึมของสารเคมีที่เข้าสู่ร่างกายและถูกเปลี่ยนแปลงโดยจุลชีพหรือจุลชีพที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (intestinal microflora)

1. <u>ผลกระทบของจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) ต่อสารเคมีในอาหารที่เข้าสู่ร่างกาย (Effect of the gut microflora on the chemical)</u>

จุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารจะทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายแตกต่างจากระบบทำลายสารพิษในตับโดยส่วนใหญ่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็นปฏิกิริยารีดักชั่นและไฮโดรไลซีส ในขณะที่ระบบทำลายสารพิษในตับจะเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและคอนจูเกชั่น รูปแบบการทำงานของปฏิกิริยาของจุลชีพในระบบทางเดินอาหารมี 3 แบบ คือ 1) การไฮโดรไลซีสของไกลโคลไซด์ (รวมถึง glucoronide conjugates) กลุ่มเอไมด์ กลุ่มซัลเฟตและซัลฟาเมท 2) การเกิดรีดักชั่นของพันธะคู่และ functional groups 3) การกำจัด functional groups เช่น ส่วนของฟีนอลและกรดคาร์บอกซิลิก

จากการพิจารณาโครงสร้างโดยทั่วไปของสารเคมีหลายชนิดในอาหารจะเห็นได้ว่าเป็นสารตั้งต้นที่มีศักยภาพที่ดีต่อเมแทบอลิซึมของจุลชีพ (microbial) ดังนั้นมันจึงไปเปลี่ยนแปลงสารประกอบที่แปลกปลอมให้มีความเป็นพิษมากขึ้น

จุลชีพในระบบทางเดินอาหารจะอาศัยอยู่ในส่วนปลายของลำไส้เป็นหลักและเจริญได้ในภาวะที่ไม่มีอากาศหรือไม่มีออกซิเจนเท่านั้น (strict anaerobes) ดังนั้นสารประกอบที่ละลายในไขมันได้ดีจะถูกดูดซึมไปก่อนในระบบทางเดินอาหารส่วนบนและจะไม่ผ่านมาถึงลำไส้ส่วนล่างจึงไม่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของจุลชีพ เว้นแต่กรณีที่เมแทบอลิซึมของเนื้อเยื่อสร้างสารที่ไปจับคู่ (conjugates) แล้วขับออกทางน้ำดีจะถูกส่งผ่านไปยังจุลชีพที่อยู่ที่ลำไส้ส่วนปลาย ดังนั้นการออกแบบการศึกษาวิจัยที่เหมาะสมและชัดเจนที่สุดคือการออกแบบการศึกษาต้องคำนึงถึงกระบวนการการดูดซึมและเมแทบอลิซึมที่เป็นผลเนื่องมาจากจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) ด้วย

วิธีการศึกษาเบื้องต้นแบบ *in vivo* สำหรับการศึกษาบทบาทของจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora) มี 3 วิธี คือ

1. หากสารที่ต้องการทดสอบเป็นสารประกอบที่มีขั้ว (polar compounds) ซึ่งถูกดูดซึมได้ไม่ดีและมีผลให้ให้เมแทบอลิซึมของจุลชีพ (microbial) ลดลงนั้น ให้ทำการทดสอบโดยให้สารผ่านทางหลอดเลือด (parenteral) เปรียบเทียบขนาด (dose) ของสารกับการให้สารทางปาก (oral)
2. การศึกษาในสัตว์ทดลองซึ่งจุลชีพในระบบทางเดินอาหารถูกทำให้ลดลงโดยการที่สัตว์ได้รับยาปฏิชีวนะ (antibiotics)
3. การศึกษาในสัตว์ปลอดเชื้อโรค (germ-free animals) ให้เพิ่มจำนวนแบคทีเรียโดยมีการใส่แบคทีเรียที่รู้ชนิดของสายพันธุ์ (gnotobiotic animals)

การเพาะเชื้อของจุลชีพที่ได้จากลำไส้ส่วนต้น (caecum) หรืออุจจาระ เมื่อทำการทดสอบวัตถุเจือปนอาหารหรือเมแทบอไลต์ของวัตถุเจือปนอาหารในระบบ *in vitro* เป็นประโยชน์แต่เป็นเทคนิคที่มีความยากและอาจเป็นไปได้ที่ข้อมูลจะเกิดความผิดพลาด

<u>ข้อควรระวัง</u>บางอย่างของการเพาะเชื้อในระยะเวลานาน คือ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารอาหารซึ่งทำให้มีการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ได้เป็นจุลชีพที่ต้องการศึกษามีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและใช้วัตถุเจือปนอาหารที่ต้องการทดสอบเป็นแหล่งพลังงาน

ปัจจัยที่จุลชีพประจำถิ่น (Host microflora) มีอิทธิพลต่อการกระตุ้นเมแทบอลิซึมของสารเคมีแปลกปลอมมีดังต่อไปนี้

- *ชนิดของสัตว์ทดลองที่จุลชีพอาศัยอยู่ (Host species)* สัตว์ต่างชนิดมีผลต่อจำนวนและชนิดของแบคทีเรียที่พบในระบบทางเดินอาหารแตกต่างกัน รวมทั้งการกระจายตัวของมันตลอดทั้งระบบทางเดินอาหารและลำไส้ที่แตกต่างกันด้วย เป็นที่ยอมรับกันว่าหนูแรทและหนูเม้าส์เป็น model การศึกษาทดลองที่ไม่ดีสำหรับมนุษย์ เนื่องจากมีสภาวะความด่างในกระเพาะอาหารที่ค่าความเป็นกรดต่ำ (pH สูง) ส่งผลให้มี aerobic bacteria ปริมาณมากในทางเดินอาหารส่วนบน ซึ่งบริเวณนี้สำหรับในมนุษย์ สุนัข และกระต่ายแทบจะเป็นบริเวณปราศจากเชื้อ เพราะ organism ต่างๆจะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะความเป็นกรดสูง (pH ต่ำ) นอกจากนั้นพฤติกรรมการกินอุจจาระตัวเอง (coprophagy) ที่ปรากฏในสัตว์กัดแทะหรือกระต่ายอาจส่งผลต่อจลนพลศาสตร์ของสารประกอบที่ดูดซึมได้ไม่ดีและสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิกซึ่งเป็นไปตามหลักทฤษฎี
- *ความผันแปรในแต่ละบุคคล (Individual variations)* มีความผันแปรสูงภายในชนิดของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน ซึ่งมีผลทำให้สารประกอบบางอย่างถูกเมแทบอไลต์โดยจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร ความผันแปรระหว่างบุคคลในการที่สารให้ความหวานคือ ไซคลาเมทถูกไฮโดรไลท์มีผลต่อความผันแปรของการเมแทบอไลต์สารแปลกปลอมที่เกิดขึ้นภายในตับ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นผลมาจากศักยภาพของเอนไซม์ในจุลชีพนั้น ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาใน

สัตว์ทดลองแล้วพบว่าสารเคมีที่อยู่ในอาหารนั้นถูกเมแทบอไลต์โดยจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร แล้วสามารถสร้างสารพิษขึ้นได้จำเป็นจะต้องทำการทดสอบในมนุษย์ที่ต้องใช้จำนวนผู้ถูกทดสอบมากพอเพื่อลดความแปรปรวนของผลการศึกษา

- *อาหาร (Diet)* องค์ประกอบของจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora) ขึ้นอยู่กับอาหารซึ่งมีอิทธิพลต่อปริมาณ (extent) ของเมแทบอลิซึมของจุลชีพที่มีผลต่อสารเคมีในอาหาร
- *ยา (Medication)* การรับประทานยาหลากหลายชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะและยาลดกรดในมนุษย์เป็นสาเหตุสำคัญของความแปรผันในเมแทบอลิซึมโดยจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora)
- *การปรับเปลี่ยนเมแทบอลิก (Metabolic adaptation)*: ความสามารถทางเมแทบอลิกของจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora) มีการปรับเปลี่ยนที่ยืดหยุ่นได้มากกว่าความสามารถทางเมแทบอลิกของ host ดังนั้นการที่ได้รับสารเคมีแปลกปลอมเป็นระยะเวลานานสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งในรูปแบบและปริมาณ (extent) ของเมแทบอลิซึมของจุลชีพ (microbial) ที่เป็นผลมาจากสารเคมีนั้นเพราะก่อนที่จุลชีพจะได้รับสัมผัสกับสารประกอบในอาหารภายใต้การทดสอบนั้นๆอาจไปเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพของเมแทบอลิกของจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) ดังนั้นการศึกษาเมแทบอลิก นอกจากทดสอบกับสัตว์ที่ไม่ได้รับสัมผัสสารเคมีมาก่อนหน้านี้แล้วควรจะทำการทดสอบกับสัตว์ที่เคยได้รับสัมผัสกับสารประกอบที่จะทดสอบเป็นระยะเวลานานเพียงพอที่จะทำให้เกิดการปรับตัวของแมแทบอลิกด้วย (ช่วงเวลาเป็นหลายสัปดาห์มากกว่าช่วงเวลาเป็นหลายวัน) ในทางเดียวกันการศึกษาใน *in vitro* ควรจะทำการทดลองที่ลำไส้ส่วนต้น (caecal contents) จะต้องถูกเก็บทั้งก่อนและระหว่างทำการศึกษาที่สัตว์ทดลองได้รับสารที่ต้องการทดสอบในระยะยาว

2. <u>ผลกระทบของสารเคมีต่อจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora)</u>

การศึกษาที่มีการให้สารเคมีขนาดสูงแก่สัตว์ทดลองมีผลให้จุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (Gut microflora) ถูกกระทบ 2 ทาง คือ

- *ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ (Antibacterial activity)*: การต้านเชื้อจุลชีพที่อ่อนแอลง ตัวอย่างเช่น การได้รับวัตถุเจือปนอาหารในขนาด (dose) สูง (ใกล้ขนาดที่ทำให้เกิดพิษ) ที่ต่อเนื่องเป็นเวลานานส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อจำนวนของแบคทีเรียซึ่งสามารถวัดได้โดยตรงหรือส่งผลต่อเมแทบอลิซึมจุลชีพ (microbial metabolism) ที่ผิดปกติไปซึ่งความผิดปกตินี้สามารถวัดโดยปริมาณของสารเมแทบอไลต์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora) สารเมแทบอไลต์ที่กล่าวถึงได้แก่ phenol และ *p-cresol* ซึ่งเป็นหลักฐานโดยอ้อมของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหรืออาจตรวจสอบโดยวิธีทดสอบสมดุลไนโตรเจน (nitrogen balance)
- *สารตั้งต้นของจุลชีพในระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น (Increased substrate for gut microflora)*: สารเคมีที่ต้องการทดสอบอาจเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงคือทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของ

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียซึ่งสามารถทราบได้โดยการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารขนาดสูง ควบคู่ไปกับการศึกษาระบบเมแทบอลิซึมใน *in vitro* ต่อจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut microflora) ทางเลือกอื่น คือ สารเคมีอาจจะยับยั้งการย่อยหรือยับยั้งการดูดซึมองค์ประกอบสารอาหารอื่นซึ่งจะกลายมาเป็นอาหารของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็กส่วนล่าง (lower intestinal) และสามารถเพิ่มจำนวนมากขึ้น

การเพิ่มจำนวนของสารตั้งต้นในบริเวณลำไส้เล็กส่วนล่าง (Lower intestinal) ทำให้มีผลต่อการเพิ่มออสโมติกในลำไส้ส่วนต้น (caecum) ซึ่งส่งผลให้สำไส้ส่วนต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น (caecal enlargement) ดังนั้นต้องหาสาเหตุที่ทำให้สำไส้ส่วนต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น (caecal enlargement) ก่อนที่จะมีผลต่อการเกิดรอยโรค (lesion) เพราะสภาวะที่เกิดขึ้นนี้อาจจะเป็นข้อบ่งชี้ของ

1) สมดุลที่เกี่ยวกับการดูดซึม (osmotic) ผิดปกติทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของแร่ธาตุในลำไส้ส่วนต้นซึ่งสามารถนำไปสู่การเกิดนิ่วในไต (Nephrocalcinosis)

2) เมแทบอลิซึมจุลชีพของสารอาหารต่างๆ (microbial metabolism of nutrients) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการก่อตัวของสารเมแทบอไลต์ที่เป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นได้และทำให้สมดุลของไนโตรเจนเกิดความผิดปกติ

3) เมแทบอลิซึมจุลชีพของสารเคมี (microbial metabolism of the chemical) ที่อาจจะนำไปสู่การก่อตัวของผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษ

บทที่ 4 ค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการได้รับต่อวัน (Acceptable Daily Intake: ADI)

การประเมินความปลอดภัย (Safety assessment) ของวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) จะพิจารณาจากค่าที่ปลอดภัยในการรับโดยการรับประทานต่อวันโดยไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ (Acceptable Daily Intake: ADI) ซึ่งค่าดังกล่าวถูกกำหนดโดย JECFA หน่วยของ ADI คือมิลลิกรัมของวัตถุเจือปนอาหารคิดต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ข้อมูลที่ถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดค่า ADI ประกอบด้วยค่า NOAEL (ค่าของขนาดสูงสุดที่ให้แก่สัตว์ทดลองแล้วไม่สังเกตพบความผิดปกติ) และ UFs (ค่าความไม่แน่นอน)

ค่า ADI สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$ADI = NOAEL \div UFs$$

เมื่อ NOAEL คือ ขนาดสูงสุดของสารที่สัตว์หรือมนุษย์ได้รับแล้วไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติ
UFs คือ ค่าความไม่แน่นอน

(ก) ค่าของขนาดสูงสุดที่ให้แก่สัตว์ทดลองแล้วไม่สังเกตพบความผิดปกติ (No-observed-adverse-effect level: NOAEL)

ในอดีตที่ผ่านมา Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ใช้คำว่า “No observed effect level: NOEL” และระบุใน EHC 70 (IPCS, 1987) หมายถึง “ปริมาณสูงสุดของสารที่สัตว์หรือมนุษย์ได้รับแล้วไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง หน้าที่ การเจริญเติบโต และช่วงอายุขัย” ส่วน Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) ใช้คำว่า “No observed adverse effect level: NOAEL” และระบุใน EHC 104 (IPCS, 1990) หมายถึง “ปริมาณสูงสุดของสารที่สัตว์หรือมนุษย์ได้รับแล้วไม่ก่อให้เกิดพิษ” ซึ่งในความเป็นจริงแล้วทั้ง NOEL และ NOAEL มีความหมายเหมือนกันดังนั้นทั้ง JECFA และ JMPR จึงใช้คำว่า NOAEL เป็นค่าที่กำหนดผลกระทบต่อสุขภาพ

นิยามของ NOAEL ตามที่ระบุใน EHC 240 นี้ หมายถึง “ปริมาณสูงสุดของสารที่สัตว์หรือมนุษย์ได้รับโดยเป็นข้อมูลจากการทดลองหรือจากการสังเกต แล้วไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง หน้าที่ การเจริญเติบโต และช่วงอายุขัย ภายใต้เงื่อนไขที่ถูกกำหนดของการสัมผัสสารนั้น”

การจะกำหนดค่า NOAEL สำหรับสารใดๆโดยพิจารณาข้อมูลทางพิษวิทยาของสารนั้นๆ จากการศึกษาต่างๆมากมายนั้น ค่าจากการศึกษาใดจะถูกนำมากำหนดเป็น ค่า NOAEL ที่เชื่อถือได้นั้นจะต้องพิจารณาข้อมูลประกอบ ดังต่อไปนี้

1) การศึกษานั้นจะต้องออกแบบการทดลองที่สัตว์ทดลองได้รับสารในรูปแบบเดียวกับสารที่เรากำลังจะประเมินความปลอดภัย เช่น หากสารนั้นเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มนุษย์จะได้รับจากการกิน ดังนั้นการศึกษาที่เราจะนำค่า NOAEL มาใช้ก็ต้องเป็นการศึกษาที่สัตว์ทดลองได้รับสารนั้นโดยการกินไม่ใช่ได้รับโดยการฉีดหรือทาบริเวณผิวหนัง
2) ระยะเวลาในการได้รับเป็นช่วงๆหรือตลอดเวลาในช่วงชีวิตของสัตว์
3) รูปแบบของการได้รับว่าเป็นสารเดี่ยวหรือในรูปของอาหาร
4) ขนาดตัวอย่าง (Sample size) ต้องมากพอในแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับวัตถุเจือปนอาหารที่แต่ละขนาดหรือปริมาณที่ทำการศึกษา
5) อย่างน้อยมี 1 ขนาด (dose) ที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
6) ผลลัพธ์ที่ปรากฏในตอนท้ายต้องเหมือนกันหรือเทียบเคียงกันได้ในสัตว์ชนิด (species) เดียวกัน
7) การประเมินผลการศึกษากำหนดให้สถิติที่ใช้ในการศึกษาต้องใช้ Pairwise statistical test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับวัตถุเจือปนอาหารที่ขนาดต่างๆ กับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารที่เราศึกษา และผลต้องปรากฏว่ามีปริมาณสารที่เราศึกษาขนาดใดขนาดหนึ่งที่ทำให้สัตว์ทดลองแสดงความผิดปกติโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม
8) หากมีค่า NOAEL ของสารชนิดเดียวกันจากหลายการศึกษา ให้ตัดข้อมูลที่ค่า NOAEL สูงมากจนแตกต่างจากค่า NOAEL ของการศึกษาอื่นๆออกไปไม่นำมาใช้ ให้พิจารณา ทั้งนี้ค่าที่เชื่อถือได้ในแต่ละการศึกษาต้องมีผลลัพธ์คืออาการความผิดปกติที่ใกล้เคียงกันในแต่ละการศึกษาที่เลือกมาพิจารณา โดยระดับความรุนแรงที่ปรากฏเปลี่ยนแปลงตามขนาดหรือปริมาณของวัตถุเจือปนอาหารที่สัตว์หรือมนุษย์ได้รับ และต้องมีอย่างน้อย 3 ขนาด หรือ 4 ขนาด (ในกรณีรวมกลุ่มควบคุมด้วย)

(ข) องค์ประกอบความปลอดภัย (Safety factor) หรือค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty factor: UF)

ในปัจจุบันจะใช้คำว่า Uncertainty factor (UF) มากกว่า Safety factor ซึ่งเป็นคำที่ใช้ในอดีต ส่วนคำที่ถูกนำมาใช้เรียกอื่นๆอีก ได้แก่ adjustment factor, assessment factor การนำค่าความไม่แน่นอนมาประยุกต์ใช้นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดขอบเขตความปลอดภัย (Margin of safety) สำหรับผู้บริโภคโดยจะต้องคำนึงถึงกลุ่มผู้บริโภคที่มีความไว (sensitive) ต่อการได้รับวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้นๆด้วย ในอดีตเมื่อปี ค.ศ. 1987 IPCS กำหนดค่า UF

เท่ากับ 100 สำหรับใช้ในการแปลงค่า NOAEL ที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลองมากำหนดเป็นค่าความปลอดภัยในการได้รับสัมผัสในมนุษย์ ทั้งนี้หากไม่มีรายงานใดระบุค่า NOAEL ได้ หรือพบความผิดปกติเกิดขึ้นในทุกขนาดของตัวอย่างที่ทำการศึกษา ให้ใช้ค่า LOAEL มาใช้ประเมินเพื่อกำหนดค่าความปลอดภัยสำหรับมนุษย์ได้ (IPCS, 1994)

ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงการเลือกใช้ค่า UF ได้แก่ ธรรมชาติของสารนั้น คุณภาพของข้อมูลจากการศึกษาด้านพิษวิทยาของสารนั้น ผลกระทบของสารนั้นในธรรมชาติ นอกจากนี้ปัจจัยที่ยังต้องคำนึงถึง ได้แก่ ความแตกต่างของสายพันธุ์ (species) ความแปรปรวนภายในตัวสัตว์ทดลองเอง และความไม่สมบูรณ์ของข้อมูลที่ได้มา

- หลักเกณฑ์การเลือกใช้ค่า UF ที่ระบุใน EHC 240 ได้ปรับปรุงมาจาก EHC 140 และ IPCS 1990 มีหลักการดังนี้

1) UF = 100 เท่า ใช้ในการประเมินค่าความปลอดภัยในมนุษย์สำหรับวัตถุเจือปนนั้นๆ หากค่า NOAEL ที่ได้มาจากการศึกษาที่ใช้สัตว์ทดลอง
2) UF = 10 เท่า ใช้ในการประเมินค่าความปลอดภัยในมนุษย์ หากค่า NOAELของวัตถุเจือปนนั้นๆ มาจากการศึกษาในมนุษย์ (เพิ่มเติมข้อมูลตาม IPCS 2005) ระบุตาม 5-22 ของ EHC 240)
3) กำหนด UF สูงกว่า 100 (การศึกษาที่ใช้สัตว์ทดลอง) หรือ UF สูงกว่า 10 (การศึกษาในมนุษย์) ได้ มีผลให้เมื่อนำไปคำนวณค่า ADI ทำให้ค่า ADI ต่ำแสดงว่าความเสี่ยงต่ออันตรายที่จะได้รับจากสารนั้นมากขึ้น การกำหนดเช่นนั้นทำได้ดังกรณีต่อไปนี้
    3.1) ค่า NOAEL ที่นำมาใช้นั้นมาจากการศึกษาที่คุณภาพของข้อมูลยังไม่ดีพอ เช่น ค่าที่ได้ยังขาดนัยสำคัญทางสถิติ
    3.2) รูปร่างของกราฟ Dose response curve มีความชันมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า NOAEL เข้าใกล้ค่า LOAEL มาก
    3.3) นำข้อมูลพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetic) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกาย มาพิจารณาประกอบการเลือกใช้ค่า UF
    3.4) ให้เพิ่มตัวเลขอีก 10 เท่าเป็นตัวคูณค่า UF ในกรณีข้อมูลความเป็นพิษมาจากการศึกษาที่เป็นพิษกึ่งเรื้อรัง sub-chronic toxicity study และหากแปลงค่า LOAEL ไปเป็น NOAEL ให้เพิ่มตัวเลข1-10 เท่า เป็นตัวคูณค่า UF โดยขึ้นกับความรุนแรงของอาการความเป็นพิษที่เกิดขึ้นว่ามากน้อยเพียงใด
    3.5) ค่า Chemical-specific adjustment factor (CSAF) กำหนดที่ 10 เท่าเป็นตัวคูณค่า UF ในกรณีการศึกษาทางคลินิกในมนุษย์เนื่องจากความแตกต่างของ 2 ปัจจัยคือ ความแตกต่างของ พิษจลนศาสตร์ (toxicokinetic) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกาย หรือ พิษ

พลศาสตร์ (toxicodynamic) ของการตอบสนองต่อสารที่เข้าสู่ร่างกาย ในแต่ละบุคคลมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้หากมีข้อมูลทางระบาดวิทยาที่สามารถบ่งบอกความแตกต่างในกลุ่มคนได้ก็สามารถนำมาประกอบการพิจารณาเลือกใช้ค่า UF ที่เหมาะสมได้

อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ค่า UF ที่เท่าใดนั้นไม่ได้ถูกกำหนดตายตัว แต่การการเพิ่มหรือลดค่าขึ้นอยู่กับน้ำหนักหลักฐานของการศึกษาที่นำมาอ้างอิงว่ามากน้อยเพียงใด ดังนั้นการเลือกใช้ให้เหมาะสมอาจต้องพิจารณาเป็นกรณีไป

(ค) ค่าที่ปลอดภัยในการรับประทานต่อวันโดยไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ (Acceptable Daily Intake: ADI)

คำจำกัดความของ Acceptable Daily Intake (ADI) คือปริมาณสารที่อยู่ในอาหารหรือน้ำดื่มที่บริโภคต่อวันโดยปลอดภัยไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ หน่วยของ ADI คือ ปริมาณสาร (มิลลิกรัม) ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน โดยคิดค่าน้ำหนักตัวมาตรฐานเท่ากับ 60 กิโลกรัม

การกำหนดค่า ADI ของสารหนึ่งต้องมีค่า NOAEL และค่า UF เมื่อค่า NOAEL ที่ได้มาจากการทดลองที่มากกว่า 2 การศึกษาขึ้นไป จะเลือกใช้ค่า ADI ที่มาจากการศึกษาในสัตว์ที่มีความไวมากที่สุด เช่น การศึกษาที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษที่ขนาดหรือปริมาณสารต่ำสุด

ค่า ADI ที่กำหนดขึ้นจะเป็นค่าในประชากรทั่วไปมาจากการอ้างอิงการศึกษาทางพิษวิทยาโดยยังไม่ได้พิจารณาว่าปริมาณการได้รับสัมผัสจริงในกลุ่มประชากรเป็นเท่าไร แต่เมื่อนำค่า ADI มาใช้ในการประเมินความปลอดภัยของวัตถุเจือปนอาหารนั้นๆจำเป็นจะต้องรู้ปริมาณและรูปแบบการได้รับสัมผัสจริงในกลุ่มประชากรทั่วไป หรืออาจต้องรู้ด้วยว่ามีกลุ่มผู้ได้รับสัมผัสที่เป็นเฉพาะกลุ่มที่สัมผัสบ่อยหรือได้รับปริมาณสูงหรือไม่ เช่น กรณีที่วัตถุเจือปนอาหารนั้นๆถูกใช้ในนมดัดแปลงสำหรับทารก (infant formula) การประเมินความปลอดภัยจะต้องอ้างอิงข้อมูลการศึกษาจากสัตว์ทดลองที่มีอายุน้อยๆด้วย

บางกรณีที่ JECFA ไม่ระบุค่า ADI สำหรับสารหนึ่งดังนั้นจะแสดงระบุเป็น ADI “**not specified**” หมายถึง สารนั้นมีความเป็นพิษต่ำบนพื้นฐานของข้อมูลที่มีอยู่ ได้แก่ ข้อมูลทางเคมี ชีวเคมี ความเป็นพิษและอื่นๆ และ JECFA มีความเห็นว่าการได้รับสารนั้นในรูปขององค์ประกอบในอาหารที่มนุษย์บริโภคเพื่อตอบสนองความจำเป็นพื้นฐานไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นสามารถระบุปริมาณการใช้ตาม Good Manufacturing Practice (GMP) คือใช้ในปริมาณต่ำสุดตามความจำเป็นในการตอบสนองคุณสมบัติที่ต้องการ โดยการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อยู่ภายใต้เทคโนโลยีการผลิตที่มีประสิทธิภาพ โดยปริมาณที่ใช้เติมลงไปนี้ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพอาหารและสมดุลทางโภชนาการ

ค่า ADI ที่เป็นค่าที่ถูกกำหนดชั่วคราวนั้น JECFA เรียก “**temporary ADI**” การคำนวณ ADI ที่ได้มาจากสูตรจะใช้ตัวเลข 2 เท่าคูณค่า UF นั่นคือใช้ค่า safety factor ที่สูงกว่าปกติ เนื่องจากข้อมูลความปลอดภัยของสารนั้นยังไม่เพียงพอ เช่น ขาดข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษระยะยาว เป็นต้น หากต่อมามีข้อมูลเพียงพอ JECFA จะพิจารณากำหนดเป็นค่า ADI ได้ หรือสามารถขยายเวลาการเป็น “temporary ADI” ไปอีกได้จนกว่าจะมีข้อมูลครบถ้วน

ค่า “**ADI กลุ่ม (group ADIs)**” ใช้กำหนดเพื่อจำกัดการใช้กลุ่มสารที่นำมาใช้ร่วมกันในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดดียวกัน ค่านี้ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่าเฉลี่ยของ NOAEL ของสารทุกตัวในกลุ่มที่ถูกนำมาใช้รวมกัน หรือเพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ใช้ค่า NOAEL ของสารที่ต่ำสุดในกลุ่ม ทั้งนี้ให้พิจารณาคุณภาพของข้อมูลการศึกษา และระยะเวลาการศึกษาความเป็นพิษของสารแต่ละชนิดในกลุ่มนั้นประกอบด้วย โดยที่หากมีค่า NOAEL ของสารชนิดหนึ่งในกลุ่มมีค่าแตกต่างอย่างมากกับค่า NOAEL ของสารที่เหลือทั้งหมดในกลุ่มให้แยกสารที่มีค่า NOAEL ที่แตกต่างนั้นออกไปพิจารณากำหนด ADI แตกต่างออกไปจากกลุ่มได้

กลุ่มวัตถุเจือปนอาหารที่มีคุณสมบัติทางเคมีหรือโครงสร้างใกล้เคียงกัน เช่นเป็นกลุ่มสมาชิกเดียวกัน เช่น fatty acids series แต่ขาดข้อมูลทางพิษวิทยา สามารถใช้หลักการเดียวกับการกำหนดเป็นค่า “ADI กลุ่ม (group ADIs)” ไปก่อนได้

วัตถุแต่งกลิ่นรสที่สูตรโครงสร้างเป็นเอสเทอร์สามารถใช้หลักการ “ADI กลุ่ม” ได้โดยอาศัยข้อมูลด้านเมตาบอลิกของสารกลุ่มนั้น โดยพิจารณาข้อมูลทางพิษวิทยาขององค์ประกอบที่เป็นกรด (acids) และแอลกอฮอล์เมื่อถูกย่อยในกระเพาะอาหาร

วัตถุเจือปนอาหารที่มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันแต่ให้ผลในเชิงสรีรวิทยาหรือความเป็นพิษในลักษณะเดียวกันสามารถกำหนดค่า ADI แบบ “ADI กลุ่ม” ได้ ตัวอย่างเช่น สารให้ความหวาน (bulk sweeteners) ที่ร่างกายดูดซึมไม่ได้และมีฤทธิ์ในการระบาย

บทที่ 5 การประเมินการได้รับสัมผัสจากสารเคมีในอาหาร (Dietary exposure assessment of chemicals in food)

การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment) เป็นการประเมินเชิงคุณภาพและปริมาณของการได้รับสารทั้ง เคมี ชีวภาพ และกายภาพ โดยผ่านทางอาหาร รวมทั้งการได้รับผ่านแหล่งอื่นๆด้วย ในบทนี้จะกล่าวเฉพาะการประเมินการได้รับสัมผัสของสารเคมีที่มีในอาหาร เช่น วัตถุเจือปนอาหาร และสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) การประเมินการได้รับสัมผัสจะต้องมีข้อมูลการบริโภคอาหาร (consumption data) และปริมาณสารเคมีหรือวัตถุเจือปนอาหารที่อยู่ในอาหาร

คำว่า “acute exposure” หมายถึงการได้รับสัมผัสภายใน 24 ชั่วโมงส่วน “chronic exposure” จะเป็นการได้รับสัมผัสในระยะยาวโดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของการได้รับสัมผัสต่อวัน

สมการในการคำนวณการได้รับสัมผัสทั้งแบบ acute และ chronic แสดงดังนี้

$$\text{การได้รับสัมผัสสารเคมี} = \frac{\text{(ปริมาณสารเคมีในอาหาร x ปริมาณการบริโภค)}}{\text{น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)}}$$

ทั้งนี้คำว่า “อาหาร” ให้รวม อาหาร เครื่องดื่ม น้ำดื่มและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ซึ่งที่ควรคำนึงถึงในการประเมินการได้รับสัมผัสคือ 1) การประเมินต้องครอบคลุมข้อมูลของประชากรทั่วไปรวมทั้งกลุ่มเสี่ยงหรือผู้ที่อาจถูกกระทบเป็นกรณีพิเศษด้วย เช่น ทารก เด็ก หญิงตั้งครรภ์ ผู้สูงอายุและกลุ่มผู้บริโภคมังสวิรัติ 2) การกำหนดค่าการได้รับสัมผัสโดยองค์กรระดับนานาชาติ คือ the Codex Alimentarius Commission (CAC) หากค่าการได้รับสัมผัสของสารใดมีค่าเกินกว่าค่าที่แนะนำให้ได้รับต่อวัน (health based guidance value) ที่ประเทศนั้นๆกำหนดอยู่ให้องค์กรระดับประเทศนั้นยื่นเรื่องไปยัง CAC หรือคณะกรรมการด้านวิชาการของ CAC หรือส่งตรงต่อ JECFA เพื่อพิจารณาต่อไป

วิธีการประเมินการได้รับสัมผัส (Dietary exposure assessment methods)

วิธี Stepwise เป็นวิธีที่แนะนำให้ใช้ซึ่งวิธี screening สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อหาชนิดและปริมาณสารเคมีจำนวนมากที่มีอยู่ในอาหารในเวลาที่มีค่อนข้างจำกัดซึ่งสารเหล่านี้ไม่จำเป็นต้องหาด้วยวิธีการประเมินแบบ refined exposure

หากใช้วิธี screening ผลลัพธ์ที่ได้มักมีค่าที่ได้รับสัมผัสสูงเกินกว่าความเป็นจริง (overestimate) เนื่องจากเป็นข้อมูลจากกลุ่มผู้บริโภคที่บริโภคในปริมาณสูงซึ่งค่าที่ได้มาจะเป็นการปกป้องผู้บริโภคจากการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีนั้นๆอยู่ในส่วนประกอบของอาหารซึ่งบางครั้งทำให้เกิดข้อผิดพลาดได้ เช่นกรณีผลลัพธ์ที่ได้มา ค่าการสัมผัสอาจมีค่าที่ต่ำกว่าค่าที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเพื่อป้องกันการขาด (health-based guidance) ดังนั้นเพื่อเป็นการคัดกรองเบื้องต้นอย่างมีประสิทธิภาพของวัตถุเจือปนอาหารที่ถูกนำมาใช้ในอาหารว่าผู้บริโภคได้รับสัมผัสมากน้อยเพียงใดเพื่อกำหนดลำดับของการประเมินความเสี่ยงจึงไม่ควรใช้วิธี screening กับ unsustainable diets เพื่อประมาณขนาดการบริโภคซึ่งจะเป็นการดีกว่าที่จะต้องนำค่าทางสรีรวิทยาที่มีการจำกัดในระบบร่างกายนำมาพิจารณาด้วย ในขั้นตอนต่อไปให้นำวิธีการประเมินแบบ refined exposure มาใช้กับสารเคมีเฉพาะที่มีโอกาสได้รับสัมผัสจากการบริโภคในอาหารได้สูงเพื่อการประเมินที่ได้จะได้ไม่ให้ผลลัพธ์ต่ำกว่าความเป็นจริง วิธีที่ถูกนำมาใช้จะต้องพิจารณาด้วยว่าไม่ควรนำค่าจากการบริโภคในปริมาณสูงมากของบุคคลบางกลุ่มมาเป็นค่าที่นำมาหาค่าเฉลี่ยร่วมกับข้อมูลการบริโภคของคนส่วนใหญ่ทั่วไป เนื่องจากคนกลุ่มดังกล่าวมีความชอบหรือยึดติดกับยี่ห้อของอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นกรณีพิเศษซึ่งส่งผลให้ค่าที่ได้เบี่ยงเบนไปมาก

รายละเอียดของวิธีที่นำมาใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสมีดังต่อไปนี้

5.1 Screening method

การประเมินแบบ screening ของวัตถุเจือปนอาหารถูกออกแบบโดย JECFA เป็นวิธีที่ง่ายผลลัพธ์ที่ได้มักมีค่าที่ได้รับสัมผัสสูงเกินกว่าความเป็นจริง (overestimate) เนื่องจากเป็นข้อมูลจากกลุ่มผู้บริโภคที่บริโภคในปริมาณสูง เป็นการประเมินที่ค่อนข้างปกป้องผู้บริโภคอย่างมาก เช่นวิธี budget ซึ่งวิธีนี้ไม่ได้เป็นการประเมินค่าจากการสัมผัสอาหารที่แท้จริงแต่เพื่อหาสารเคมีที่นำมาใช้กับอาหาร ตัวอย่างเช่น วิธี budget ถูกนำมาใช้คัดกรองวัตถุเจือปนอาหารในยุโรปจำนวน 58 ชนิด ปรากฏว่าเมื่อใช้ budget method มีวัตถุเจือปนอาหาร 22 ชนิดมีค่าการได้รับสัมผัส ที่ต่ำกว่าค่า ADI ในขณะที่ วัตถุเจือปนอาหาร 36 ชนิดไม่ผ่านการประเมิน ทำให้ทั้ง 36 ชนิดดังกล่าวต้องนำไปประเมินโดยใช้การประเมินด้วยวิธี refined exposure ต่อไป ดังนั้น screening method จะเหมาะกับนำมาใช้ในกลุ่มบุคคลเฉพาะที่มีการสัมผัสสารที่มีความเป็นพิษทั้งจากการสัมผัสแบบเฉียบพลัน (acute) และสัมผัสต่อเนื่องเป็นเวลานาน (chronic)

Screening method มี 3 แบบคือ 1) Poundage data 2) Budget method 3) Model diets ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) Poundage data

วิธีนี้ใช้กับวัตถุเจือปนอาหาร (food additives) รวมทั้งวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavours) เป็นการประมาณปริมาณของสารเคมีที่ได้รับต่อจำนวนประชากรสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารของประเทศในช่วงเวลาหนึ่ง (โดยทั่วไปกำหนดที่ 1 ปี) การประมาณการได้รับสัมผัสจากอาหารคำนวณจากการสังเกตรูปแบบการบริโภค (consumption patterns) หรืออีกทางหนึ่งคือปริมาณสารเคมีที่มีอยู่จริงในอาหาร โดยใช้ปริมาณการนำเข้าและส่งออกสารเคมีและอาหารที่มีสารเคมีประกอบอยู่ซึ่งสารเคมีที่ไม่ได้ถูกนำมาใช้ในอาหารก็จะถูกนำไปคำนวณรวมอยู่ด้วย ข้อมูลการสำรวจมาจากรายงานของผู้ผลิตซึ่งค่าที่ได้ในแต่ละปีจะแปรผันมากจึงเป็นข้อมูลที่เหมาะจะใช้เป็นปีต่อปีเท่านั้น

หากจะใช้วิธี Poundage data ในการประเมินการได้รับสัมผัสอาจต้องนำค่าสัดส่วนของประชากรที่ชอบบริโภคอาหารที่มีวัตถุเจือปนอาหารนั้นๆ (ร้อยละของผู้บริโภค) มาปรับคิดค่าที่คำนวณด้วยซึ่งค่าดังกล่าวจะไม่อยู่ในรายงานของผู้ผลิต มิเช่นนั้นแล้วจะมีค่าความไม่แน่นอนที่กว้างมากสำหรับค่าเฉลี่ยของการบริโภคที่คำนวณได้มาจากวิธี Poundage data ข้อมูลที่ได้จากวิธีนี้จะไม่เพียงพอที่จะใช้อธิบายกลุ่มผู้บริโภคที่ได้รับสัมผัสในปริมาณสูงหากค่าที่ได้จากการคำนวณพบว่าการได้รับสัมผัสอยู่ในค่าที่แนะนำให้บริโภคต่อวันดังนั้นอาจต้องไปเลือกใช้วิธี budget ดังนั้นข้อดีของ Poundage data ก็คือสำหรับใช้เป็นข้อมูลในการทำนายแนวโน้มจากอดีตและการเปลี่ยนแปลงในอนาคตของการใช้วัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่งว่าจะมีแนวโน้มมากขึ้นหรือลดลงอย่างไรหรือเปรียบเทียบการได้รับสัมผัสจากอาหารของประชากรทั้งหมดกับวัตถุเจือปนอาหารชนิดอื่นๆ

2) Budget method

ใช้สำหรับประเมินค่าการสัมผัสสูงสุดในแต่ละวันต่อวัตถุเจือปนอาหารบางชนิด ค่าที่คำนวณได้จะนำไปเทียบกับค่า ADI ของวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้นๆ ซึ่ง Budget methodนี้ JECFA นำไปใช้เป็นลำดับต้นๆของการประเมินวัตถุเจือปนอาหารในกลุ่มสหภาพยุโรป วิธีนี้ใช้หลักสมมุติฐานดังต่อไปนี้ 1.ปริมาณการบริโภคอาหารและเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม) 2. ปริมาณวัตถุเจือปนอาหารที่มีในอาหารและเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม) 3. สัดส่วนของอาหารและเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม)ที่มีวัตถุเจือปนอาหารนั้นๆเป็นส่วนประกอบอยู่ ที่เฉพาะไปกว่านั้นคือระดับของการบริโภคให้คิดค่าสูงสุดของการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มตามสรีรวิทยาของร่างกายที่จะรับได้ เช่น การดื่มเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม) คิดที่ 0.1 ลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวันและพลังงานที่ร่างกายได้รับ 100 กิโลแคลอรี่ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมาจากการบริโภคอาหาร (เทียบเท่ากับ 0.05 กิโลกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยประมาณจาก energy density 2 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม) ดังนั้นคนที่หนัก 60 กิโลกรัมจะมีการบริโภคเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม) ปริมาณ 6 ลิตร และบริโภคอาหาร 3 กิโลกรัม

ให้สมมุติค่าของวัตถุเจือปนอาหารที่นำมาใช้ในเครื่องดื่ม (ไม่ใช่นม) และอาหารเป็นค่าสูงสุดของวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้นๆ เมื่อวัตถุเจือปนอาหารนั้นๆถูกใช้ในประเภทหรือชนิดอาหารใด

มากที่สุด เช่นถูกใช้ในหมากฝรั่งเป็นปริมาณสูงสุดให้นำค่าจากหมากฝรั่งมาเป็นตัวแทนของกลุ่ม/ชนิดอาหารนั้นมาคิดคำนวณ มีการกำหนดสัดส่วนระหว่างอาหารที่เป็นของแข็ง (solid foods) และของเหลวซึ่งในที่นี้คือเครื่องดื่มว่ามีสัดส่วนของวัตถุเจือปนอาหารในของแข็ง และของเหลวเป็นเท่าใดด้วยโดยคิดค่า default ของอาหารที่เป็นของแข็ง (solid foods) เท่ากับ 12.5% และเครื่องดื่มเท่ากับ 25% ดังนั้นจะได้สมการในการคำนวณค่าสูงสุดของการได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหารในแต่ละวันดังนี้

ค่าสูงสุดของการได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหารต่อวัน (มก./น.น. ตัว 1 กก.ต่อวัน) เท่ากับ

[ปริมาณสูงสุดของวัตถุเจือปนอาหารในเครื่องดื่ม (มก./ลิตร) x 0.1 (ลิตร/น.น. ตัว 1 กก.) x %ของเครื่องดื่มที่มีวัตถุเจือปนอาหารนั้น]

+

[ปริมาณสูงสุดของวัตถุเจือปนอาหารในอาหาร (มก./ กก.) x 0.05 (กก./น.น. ตัว 1 กก.) x %ของอาหารที่มีตถุเจือปนอาหารนั้น]

ตัวอย่าง วัตถุเจือปนอาหาร A ถูกนำมาใช้กับเครื่องดื่ม 350 มก.ต่อลิตร และใช้ในอาหารเท่ากับ 1,000 มก.ต่ออาหาร 1 กก. หากสัดส่วนของเครื่องดื่มและอาหารคิดเป็น 25% และ 12.5% ตามลำดับ ดังนั้นค่าสูงสุดของการได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหาร A เท่ากับ
[350 x 0.1 x 0.25] + [1,000 x 0.05 x 0.125] = 15 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก.
หากน้ำหนักตัว 60 กก.ค่าสูงสุดของการได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหาร A เท่ากับ 900 มก.ต่อวันซึ่งการได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหาร A มาจากการบริโภคเครื่องดื่ม 1.5 ลิตร และอาหาร 375 ก.ที่มีวัตถุเจือปนอาหาร A เป็นส่วนประกอบอยู่

มีการประยุกต์ใช้ budget method กับกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงเนื่องจากปริมาณการบริโภคต่างจากผู้บริโภคทั่วไป เช่น เด็กเล็ก เช่นการกำหนดโดยกลุ่มสหภาพยุโรป โดยจะคิดค่าสัดส่วนของเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบของวัตถุเจือปนอาหารเป็น 100% ปริมาณการบริโภคเครื่องดื่มคิดเป็น 0.1 ลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กก. (เช่น คิดเป็น 1.5 ลิตรสำหรับเด็กอายุ 3 ปี ที่มีน้ำหนักตัว 15 กก. เป็นต้น) ทั้งนี้ตัวเลขดังกล่าวได้มาจากผลข้อมูลการสำรวจของสหราชอาณาจักรซึ่งรายงานการบริโภคเครื่องดื่มที่มีวัตถุเจือปนอาหารเป็นส่วนประกอบที่ 97.5 เปอร์เซ็นไทล์มีค่าเท่ากับ 0.07-0.08 ลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กก.ในเด็กอายุ 1.5-4.5 ปี (Gregory *et al.*, 1995)

<u>ข้อดี</u> วิธี budget method ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ทั่วไป (ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารรวมทั้ง สารแต่งกลิ่นรส สารช่วยในกระบวนการผลิต เป็นต้น) ไม่จำเพาะ ง่าย ประหยัดค่าใช้จ่าย ทำได้รวดเร็วและเป็นการปกป้องผู้บริโภคสูงมาก สามารถนำมาเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงทางพิษวิทยาเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของวัตถุเจือปนอาหารที่ให้ใช้ในอาหารได้

ข้อจำกัด ผลลัพธ์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของวัตถุเจือปนอาหารที่มีอยู่ในเครื่องดื่มและอาหารซึ่งแตกต่างกันในแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์ที่วัตถุเจือปนอาหารนั้นๆถูกใช้ อีกประการที่ต้องระมัดระวังคือ การประเมินกลุ่มอาหารที่มีการใช้วัตถุเจือปนอาหารในปริมาณสูงจะไม่เป็นตัวแทนที่ดีของอาหารทั้งหมด เช่น หมากฝรั่ง เมื่อนำมาประเมินทำให้ค่าการได้รับสัมผัสสูงมากเกินค่าที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (Health-based guidance value)

3) Model diets

เป็นวิธีการที่ออกแบบมาจากข้อมูลการบริโภคให้เป็นตัวแทนของอาหารสำหรับประชากรที่ได้รับสัมผัสเป็นวิธีที่สะท้อนอาหารของประชากรทั่วไปหรือกลุ่มย่อยที่เฉพาะ เช่น ตัวอย่างที่ต้องการประเมินการสัมผัสในกลุ่มที่การบริโภคอาหารที่สนใจศึกษาในปริมาณสูงมากเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว วิธีนี้จะเหมาะกับกลุ่มที่เป็นกรณีการประเมินแบบค่อนข้างรุนแรง ดังกรณีต่อไปนี้

a. สำหรับสารแต่งกลิ่นรส เป็นรูปแบบการประเมินแบบค่อนข้างปกป้องผู้บริโภคเป็นอย่างมากในการกำหนดปริมาณการสัมผัสต่อสารแต่งกลิ่นรสเฉพาะชนิดบนพื้นฐานของค่าสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ (Upper use levels: UUL) ในแต่ละกลุ่มอาหารและเครื่องดื่มที่แตกต่างกัน การประมาณค่าการได้รับสัมผัสเป็นการตั้งสมมุติฐานว่าผู้บริโภคกลุ่มนี้มีการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มที่มีการเติมสารแต่งกลิ่นรสชนิดนี้ทุกวันในปริมาณที่เท่ากันที่ค่า UULค่าหนึ่ง ค่า TAMDI จะคำนวณจากการรวมปริมาณการสัมผัสที่ประมาณจากแต่ละกลุ่มอาหารที่มีการเติมสารแต่งกลิ่นรสชนิดนี้ การคำนวณค่า TAMDI แสดงใน**ตารางที่ 3**

ตารางที่ 3. การบริโภคอาหารและปริมาณที่ใช้ในการคำนวณค่า TAMDI

อาหารและเครื่องดื่ม	**การบริโภค** (ก.ต่อวัน)	**ปริมาณ** (มก.ต่อ ก.)
เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์	324	UUL1
อาหาร	133	UUL2
ยกเว้น		
- ลูกอม ลูกกวาด	27	UUL3
- เครื่องปรุงรส	20	UUL4
- เครื่องดื่มแอลกอฮอล์	20	UUL5
- ซุป และ อาหารเรียกน้ำย่อย	20	UUL6
- อื่นๆ เช่น หมากฝรั่ง	2	UUL7

ดังนั้น ค่า TAMDI (มก.ต่อวัน)

= (324 × UUL1) + (133 × UUL2) + (27 × UUL3) + (20×UUL4) + (20 × UUL5) + (20 × UUL6) + (2 × UUL7).

ค่า TAMDI ถูกนำมาใช้โดย the European Scientific Committee on Food (SCF) เพื่อประเมินการสัมผัสต่อสารแต่งกลิ่นรสชนิดใดชนิดหนึ่ง (EC, 2003) ค่าปริมาณการบริโภคที่นำมาใช้ในการคำนวณค่า TAMDI อาจจะเป็นค่าที่ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยการบริโภคสารแต่งกลิ่นรสของกลุ่มผู้บริโภคบางกลุ่ม ในทางตรงกันข้ามการประมาณอาหารทั้งหมดที่มีการเติมสารแต่งกลิ่นรสที่มีการบริโภคในแต่ละวันจะมีสารแต่งกลิ่นรสชนิดเดียวกันที่มีค่า UUL ค่อนข้างจะเป็นค่าที่ปกป้องผู้บริโภคมากเกินความเป็นจริง

ข้อดี ของวิธี TAMDI คือง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้และการตั้งสมมุติฐานอยู่บนพื้นฐานของความโปร่งใสของปริมาณการบริโภคและปริมาณสารที่ได้รับ วิธีนี้ควรนำไปใช้เพิ่มเติมจากการประเมินการสัมผัสทั่วไป โดยเหมาะกับการประเมินเฉพาะกลุ่มที่มีการบริโภคปริมาณสูงสำหรับอาหารหรือเครื่องดื่มกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งมากเป็นพิเศษซึ่งมีผลให้ได้รับสารแต่งกลิ่นรสชนิดหนึ่งสูงมาก

ข้อจำกัด คือการจัดกลุ่มอาหาร (food categories) และขนาดของหน่วยบริโภค (portion size) วิธีนี้ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกันที่อยู่ในกลุ่มอาหารกลุ่มเดียวกันดังแสดงใน**ตารางที่ 3** ดังนั้นวิธี TAMDI จะไม่เหมาะสมหากการประเมินการได้รับสัมผัสไม่ได้มาจากค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่มากกว่า 90 หรือ 95

สำหรับวิธีที่เป็นการปกป้องผู้บริโภคที่ไม่เคร่งครัดมากและ JECFA ได้นำมาใช้คือวิธีที่เรียกว่า the single portion exposure technique (SPET) (FAO/WHO, 2009a)

5.2 Point estimates method

Point estimates เป็นรูปแบบที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นลำดับต่อไปในการประเมินการสัมผัส การประเมินจะเป็นการปกป้องผู้บริโภคที่มากเกินไปหรือน้อยเกินไปขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการประเมินหรือความสมบูรณ์ของข้อมูล สำหรับข้อมูลที่มีระดับความเข้มข้น วิธี Point estimates ปกติจะประกอบด้วยค่าเฉลี่ย (mean) ค่ากลาง (median) ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงของค่าที่ได้จากการสังเกตหรือแม้แต่ค่า Maximum limit (ML) ก็เป็นค่าที่ถูกเสนอโดยองค์กรทางด้านอาหารระดับนานาชาติหรือระดับชาติ ระดับความเข้มข้นอาจถูกปรับให้เหมาะสมโดยการใช้ correction factor

สำหรับข้อมูลการบริโภคอาหารการประเมินแบบ Point estimates จะประกอบด้วยค่าเฉลี่ย (mean) หรือค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงของค่าการบริโภคทั้งหมดของอาหารที่เราต้องการพิจารณาในกลุ่มประชากรที่สนใจ

ข้อดี ของวิธี Point estimates คือค่อนข้างง่ายต่อการทำให้เกิดผล สามารถพัฒนาโดยการใช้โปรแกรม spreadsheet หรือ database

ข้อจำกัด ข้อมูลค่อนข้างจำกัด การแปรผลค่อนข้างเป็นปัญหา ผลลัพธ์ที่ได้ขึ้นกับข้อมูลที่ป้อนเข้าไป (input data) แต่ผลกระทบอาจไม่เด่นชัดนัก เช่น หากเลือกค่าที่ป้อนไม่เป็นตัวแทนของการกระจายตัวที่ดีของข้อมูลจะมีผลให้ค่าที่ได้ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของข้อมูล ถ้าเป็นค่าที่ค่อนข้าง

ปกป้องผู้บริโภคมาก เช่น ความเข้มข้นสูงและค่าการบริโภคสูงด้วยถูกนำมาใช้ในการประเมินด้วยวิธีนี้ ผลการประมาณการสัมผัสจะได้ค่าที่เกินกว่าความเป็นจริง เมื่อไม่ทราบค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงของการบริโภคหรือไม่ทราบค่าความเข้มข้นจะต้องมีค่า default procedure มาคิดเพื่อใช้กำหนดค่าที่เป็นตัวแทนของจุดต่างๆเหล่านี้

a) <u>รูปแบบสำหรับผู้บริโภคปริมาณสูง</u>

ใช้ข้อมูลจากการสำรวจการบริโภคอาหาร (Food Consumption Survey) เป็นทางเลือกหนึ่งรองจาก budget method หรืออาจเป็นรูปแบบที่เพิ่มเติมจากวิธีที่เป็นกระบวนการ screening ตัวอย่างเช่น กรณีการใช้ model diet ในยุโรปเพื่อประมาณการสัมผัสอาหารแบบต่อเนื่องระยะเวลานาน (chronic dietary exposure) โดยอยู่บนพื้นฐานของการสันนิษฐานว่าผู้บริโภคอาจมีค่าเฉลี่ยการบริโภคอาหารหลายชนิดที่แตกต่างกัน แต่การบริโภคปริมาณสูงอาจมีเพียงอาหาร 1-2 ชนิด พฤติกรรมของผู้บริโภคกลุ่มดังกล่าวใน European model จะถูกกำหนดโดยเพิ่มศักยภาพที่การได้รับสัมผัสจากอาหารของสารเคมีในอาหารที่ 97.5 เปอร์เซ็นไทล์ของผู้ที่บริโภคอาหาร 2 กลุ่มอาหารที่นำไปสู่การสัมผัสอาหารที่ปริมาณสูงสุดด้วยค่าเฉลี่ยของศักยภาพในการสัมผัสอาหารทุกกลุ่ม การเลือกค่าเปอร์เซ็นไทล์ของการได้รับสัมผัสอาหารที่ค่าสูงขึ้นจะขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการประเมินการสัมผัสและข้อมูลที่ผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessor) และผู้จัดการความเสี่ยง (risk manager) มีอยู่ ข้อดีของ the European high consumption คือสามารถนำไปปรับใช้ได้กับการสำรวจซึ่งข้อมูลที่ได้มีเพียงค่าเฉลี่ยและค่าปริมาณการบริโภคที่สูงของกลุ่มอาหารกลุ่มใหญ่ที่มีข้อมูลอยู่ ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้ทั้ง EFSA และ JECFA นำมาใช้สำหรับการประเมินการได้รับสัมผัสจากอาหารแบบต่อเนื่อง (chronic dietary exposure) สำหรับสารปรุงแต่งอาหารที่มีข้อมูลการบริโภค (food consumption data) ที่รวบรวมได้น้อยกว่า 20 กลุ่มอาหารกลุ่มใหญ่ ซึ่งผลที่ได้จะถูกต้องมีเหตุผลหากจำนวนกลุ่มอาหารถูกจำกัด

ปริมาณและการได้รับสัมผัสด้วยวิธีนี้จะประเมินจากข้อมูลที่เป็น distribution data ตัวอย่าง เช่น การได้รับสัมผัสอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน (chronic exposure) ให้ประมาณโดยใช้ค่าการบริโภค 1 หรือ 2 วัน ของการบริโภคอาหารของแต่ละคน โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 90 ของกลุ่มผู้บริโภคอาหารนั้นๆ (eater only) เป็นค่าที่เป็นตัวแทนกลุ่มผู้บริโภคอาหารชนิดนั้นในปริมาณสูง หากกรณีที่ข้อมูลการสำรวจการบริโภคอาหารได้ทำในเวลาหลายวันคือมากกว่า 2 วันก็สามารถใช้ค่าเฉลี่ยการบริโภคตลอดช่วงเวลาที่ทำการสำรวจได้สำหรับผู้บริโภครายบุคคล ดังนั้นอาจใช้ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงๆ ได้ กรณีการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารเป็นแบบเฉียบพลัน (acute exposure) การประมาณการบริโภคอาหารที่มีวัตถุเจือปนอาหารจะใช้ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 97.5 ของข้อมูลการบริโภคจากหลายวันโดยไม่ได้เป็นค่าเฉลี่ยตลอดช่วงการสำรวจที่เป็นค่าการบริโภคของแต่ละบุคคล ข้อที่ควรระมัดระวังในการประมาณการด้วยวิธีแบบเฉียบพลัน (acute exposure) นี้คือหากข้อมูลที่มีอยู่ไม่สามารถหาค่าที่เปอร์เซ็นไทล์สูงๆได้ อาจใช้ข้อมูลการบริโภคของอาหารกลุ่มหลักของอาหารชนิดนั้นแทนได้ ตัวอย่าง เช่น ข้อมูลการบริโภคที่ 97.5 เปอร์เซ็นไทล์ของพืชจำพวกรากหรือหัวใต้ดินทั้งหมดสามารถนำข้อมูลการบริโภคมาใช้แทนแครอทได้ในการประเมินการได้รับสัมผัสจากอาหารแบบเฉียบพลัน

(acute exposure) หากข้อมูลของกลุ่มผู้บริโภคแครอทมีไม่เพียงพอ ทางเลือกอีกทางคือ ใช้วิธีการทางสถิติเพื่อดูกราฟการกระจายตัวของข้อมูล (distribution curve) จากข้อสรุปของข้อมูลการบริโภคอาหาร (food consumption data) เช่น ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard diviation) แล้วหาค่าที่เปอร์เซ็นไทล์สูงๆ

การวิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูลแบบเต็มรูปแบบเป็นอีกวิธีหนึ่ง เรียกว่า Monte Carlo technique จะใช้ในกรณีที่ข้อมูลการกระจายตัวมีไม่เพียงพอสำหรับวิเคราะห์การกระจายของข้อมูล จะต้องมีการคิดปัจจัยที่ไร้เหตุผล (arbitory factor) เพิ่มเติมเข้าไปกับวิธี point estimate เพื่อกระตุ้นให้ได้ค่าสูงสุดของการกระจายตัวของการได้รับสัมผัสสารเคมีในอาหาร เช่นให้สมมุติฐานว่าการกระจายของข้อมูลเป็น lognormal จะใช้แฟกเตอร์ 2 หรือ 3 เป็นตัวคูณกับค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้ค่าการสัมผัสจากการบริโภคของกลุ่มผู้ที่บริโภคปริมาณสูงอย่างคร่าวๆ

b) <u>รูปแบบสำหรับผู้บริโภคปริมาณปกติ</u>

การใช้ข้อมูลจากกลุ่มผู้บริโภคทั่วไปที่ไม่ได้ยึดติดกับยี่ห้อหรือชนิดจะเป็นข้อมูลที่ควรนำมาเป็นตัวแทนในการประเมินการสัมผัสสารเคมีที่ได้รับจากผลิตภัณฑ์อาหารแบบที่ได้รับต่อเนื่องเป็นเวลาติดต่อกัน (high chronic dietary exposure) ซึ่งสารเคมีในอาหารเหล่านี้จะรวม วัตถุเจือปนอาหาร (food additives) สารแต่งกลิ่นรส (flavoring agents) สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) สารเคมีที่สามารถหลุดออกจากภาชนะบรรจุ (chemicals migrating from packaging)

5.3 วิธีอื่นๆของ Point estimates โดยใช้ model diets

วิธีอื่นที่ให้รายละเอียดมากกว่า Point estimates method ได้แก่ a) GEMS/Food consumption cluster diets b) Total diet studies (TDSs) รายละเอียดของแต่ละวิธีมีดังนี้

a) GEMS/Food consumption cluster diets

เป็นวิธีที่ถูกพัฒนาขึ้นโดย WHO วิธีการคิดอยู่บนพื้นฐานของ FAO food balance sheet และแสดงเป็นค่าเฉลี่ยการบริโภคต่อจำนวนประชากร วิธีนี้ถูกใช้แทนอาหารของ 5 ภูมิภาค โดยการริเริ่มวิธีนี้มาจากการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสสารปนเปื้อน มีการเปรียบเทียบข้อมูลการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของแต่ละประเทศมาเปรียบเทียบกัน ทั้ง JMPR และ JECFA ใช้ข้อมูลจาก *GEMS/Food consumption cluster diets* เป็น model diets ในการประเมินการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารแบบที่ได้รับต่อเนื่องเป็นเวลาติดต่อกัน (chronic dietary exposure) โดยคิดที่ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 97.5 ของแต่ละบุคคลต่อวัน จากการสำรวจระดับชาติ (national surveys) วิธีนี้เป็น cluster analysis approach ในพื้นที่ที่ประเทศนั้นๆมีรูปแบบการบริโภคของอาหารหลัก 20 ชนิด คล้ายๆกันจะถูกจัดกลุ่มเข้าด้วยกันแล้วถูกแยกประเภท โดยลักษณะที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ จะได้กลุ่มclusterของอาหาร 13 cluster ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้มาจาก food balance sheet ที่จัดทำในปี ค.ศ. 1997-2001 (สามารถดูรายละเอียดใน http://www.who.int/ foodsafety/chem/gems/ en/index1.html) ต่อมามีการจัดปรับใหม่

ในปี ค.ศ. 2006 โดยมีข้อคิดเห็นจากประเทศต่างๆเพื่อพยายามลดช่องว่างต่างๆที่เป็นปัญหาอุปสรรคจากรายงานในฉบับแรกเพื่อให้สมบูรณ์มากขึ้น (สามารถดูรายละเอียดใน http://www.who.int/foodsafety/chem/ClusterDietsAug06.xls) ทั้งนี้ *GEMS/Food consumption cluster diets* จะมีการจัดปรับทุก 10 ปี ในปัจจุบันกลุ่มclusterของอาหาร 13 cluster ถูกใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารแบบที่ได้รับต่อเนื่องเป็นเวลาติดต่อกัน (chronic dietary exposure) ในระดับนานาชาติโดย JMPR (ประเมินสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง) และ JECFA (ประเมินวัตถุเจือปนอาหาร) และถูกนำมาใช้แทนที่อาหารของ 5 ภูมิภาคที่ WHO พัฒนามาในอดีต สมการการคิดปริมาณการบริโภคต่อประชากรแสดงดังนี้

$$\text{ปริมาณการบริโภคเฉลี่ยต่อประชากร} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของปริมาณการบริโภคของประชากรทั้งหมด (per capita)}}{\text{ปริมาณอาหารสำหรับการบริโภคภายในประเทศหรือในภูมิภาคโดยประชากรทั้งหมด}}$$

b) Total diet studies (TDSs)

TDSs ถูกออกแบบเพื่อประเมินการได้รับสัมผัสจากสารเคมีที่อยู่ในอาหารที่บริโภคแบบที่ได้รับต่อเนื่องเป็นเวลาติดต่อกัน (chronic dietary exposure) โดยใช้ปริมาณสารเคมีในอาหารที่บริโภคโดยประชากรของประเทศและหากเป็นไปได้ให้ประมาณจากประชากรกลุ่มย่อยด้วย ซึ่งทำได้โดยการวัดปริมาณสารเคมีในอาหารและน้ำดื่ม ทั้งนี้วิธีนี้สามารถนำมาใช้กับวัตถุเจือปนอาหารได้ด้วย ผลของการประเมินแบบ TDSs จะเป็นประโยชน์ต่อองค์กรที่มีหน้าที่กำกับดูแลด้านกฎหมายการควบคุมการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีเป็นส่วนประกอบเพื่อตรวจติดตามควบคุมระดับการใช้สารเคมีในแหล่งอาหารและแนวโน้มการได้รับสัมผัสสารเคมีจากอาหารที่บริโภค

TDSs ที่ใช้อย่างกว้างขวางทั่วโลกส่วนใหญ่จะใช้ point estimate ในการประเมินค่าเฉลี่ยการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารสำหรับประชากรทั้งหมด หรือประเมินค่าเฉลี่ยการได้รับสัมผัสในกลุ่มผู้บริโภคปริมาณสูงโดยใช้ค่า specific factor คูณเข้าไปก็ได้เช่นกัน สำหรับกลุ่มที่เฉพาะบางกลุ่มเช่น ทารก หรือเด็กเล็กก็สามารถประเมินค่าเฉลี่ยการได้รับสัมผัสได้เช่นกันหากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศมีอยู่

วิธี TDSs ไม่เหมาะกับประเมินการได้รับสัมผัสจากสารเคมีที่อยู่ในอาหารที่บริโภคแบบที่ได้รับเฉียบพลัน (acute dietary exposure)

5.4 วิธีพิเศษที่ออกแบบมาเพื่อตอบคำถามที่เฉพาะ

หากมีความจำเป็นอาจต้องออกแบบการศึกษาที่เฉพาะเจาะจงเพื่อตอบคำถามของการได้รับสัมผัสจากอาหาร ซึ่งเป็นการศึกษาที่อาจวัดปริมาณการสัมผัสโดยตรงหรืออาจเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับตัวชี้วัดเพียง 1 หรือหลายตัวชี้วัดของการได้รับสัมผัส ตัวอย่างวิธีพิเศษต่างๆ

ได้แก่ a) Selective studies of individual foods b) Duplicate portion studies รายละเอียดแต่ละวิธีมีดังนี้

a) Selective studies of individual foods

ข้อมูลการสำรวจอาหารเฉพาะชนิดหรือกลุ่มจะเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้ประเมินการได้รับสัมผัสหากสารเคมีถูกนำมาใช้ในอาหารที่เฉพาะกลุ่ม 1- 2 กลุ่มเท่านั้นไม่ได้ถูกใช้ในอาหารที่หลากหลาย เช่น ตัวอย่างของปรอทตกค้างในปลาและอาหารทะเล มลพิษกลุ่ม persistent organic pollutants (POPs) ในอาหารที่มีไขมัน วัตถุเจือปนอาหารและยาสัตว์ตกค้างในอาหารกลุ่มที่มีการใช้เฉพาะเท่านั้น

b) Duplicate portion studies

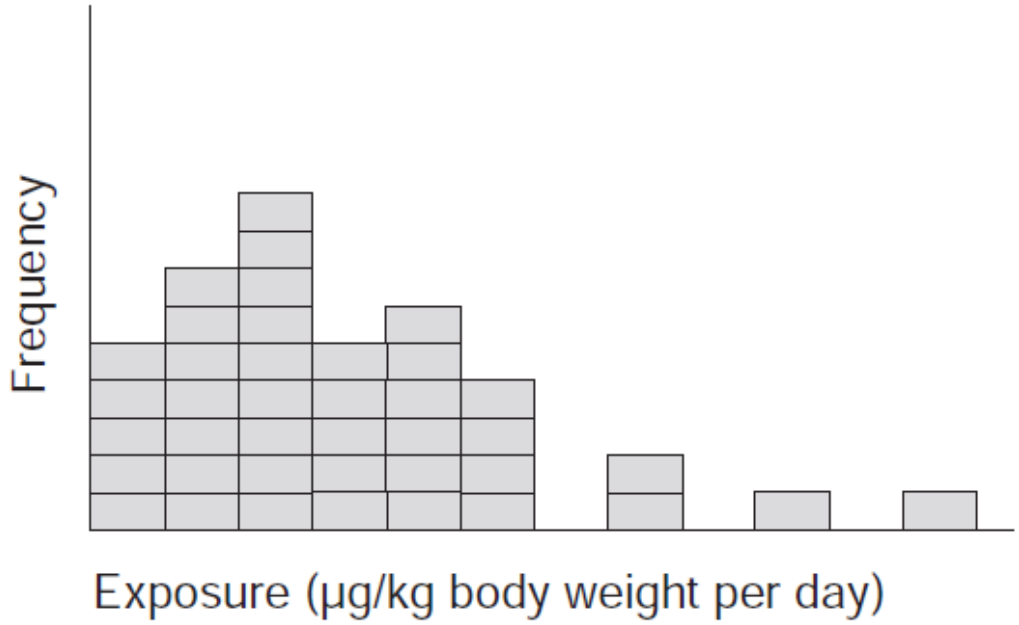
ใช้ประเมินการได้รับสัมผัสในประชากรกลุ่มย่อยที่เฉพาะ ซึ่งเป็นข้อมูลการได้รับสัมผัสเป็นรายบุคคลบนพื้นฐานของอาหารที่ถูกบริโภค เช่น กลุ่มมังสวิรัติ เด็ก หญิงให้นมบุตร หญิงวัยทำงานหรือกลุ่มคนทำงานที่มักบริโภคอาหารนอกบ้าน แต่ข้อจำกัดของวิธี *Duplicate portion studies* คือค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง วิธีการบริหารจัดการผู้เข้าร่วมโครงการศึกษาที่ต้องรอบคอบ แต่ข้อดีคือเป็นการศึกษาที่เป็นประโยชน์มากเนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถที่จะได้ข้อมูลการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารที่ใช้เป็นจุดหรือเกณฑ์มาตรฐาน (benchmark) สำหรับประเมินระดับที่เกินจริงหรือต่ำกว่าความเป็นจริงเมื่อมีข้อมูลที่ค่อนข้างจำกัด เช่น กรณีของอะคริลาไมด์ (acrylamide) ในครั้งแรกการประเมินการได้รับสัมผัสอะคริลาไมด์ (acrylamide) จากอาหารในปี ค.ศ. 2002 Swiss Federal Office of Public Health ได้ใช้วิธี Total diet studies (TDS) เพื่อประมาณการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารทั้งหมดโดยนำอาหารที่เป็นแหล่งของ acrylamide มาวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนทั้งหมด

5.5 การประเมินการได้รับสัมผัสแบบ Refine

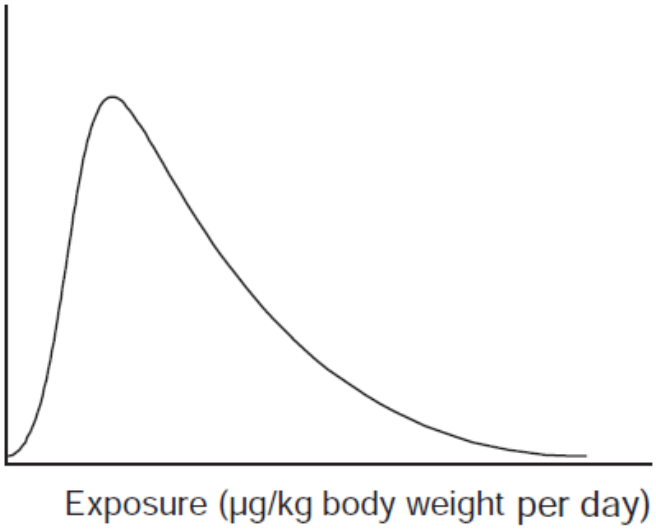
วิธีนี้จะใช้ Probabilistic models โดยเป็นการประเมินการสัมผัสแบบค่อนข้างละเอียดโดยข้อมูลการสัมผัสของประชากรกลุ่มที่สนใจศึกษาค่อนข้างมีความหลากหลายโดยผู้ประเมินมักเป็นผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessors) หรือ ผู้จัดการความเสี่ยง (risk managers) ข้อมูลที่จะนำมาใช้ประเมินต้องมีรายละเอียดของข้อมูลการบริโภค เช่น สมมุติฐานที่ค่อนข้างที่ไม่เป็นการปกป้องผู้บริโภคมากเกินไป (less conservative) เกี่ยวกับปริมาณการบริโภค ปริมาณความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ในอาหาร ผลกระทบจากกระบวนการผลิตและการประกอบอาหาร เป็นต้น หรือรูปแบบการประเมินการได้รับสัมผัสที่ซับซ้อนที่เป็นการเลียนแบบที่ค่อนข้างเป็นไปได้ของการปฏิบัติของผู้บริโภค

โดยหลักการแล้วการได้รับสัมผัสของประชากรจะเป็นค่าที่เป็นช่วง (range) มากกว่าเป็นค่าตัวเลขเดียว (single value) เพราะในบุคคลแต่ละคนของประชากรทั้งหมดโดยส่วนตัวแล้วจะมีการบริโภคที่ระดับการได้รับสัมผัสที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่มีผลต่อความแตกต่างกันนี้จะรวมถึงอายุ (เนื่องมาจากความแตกต่างของน้ำหนักตัว ชนิดและปริมาณอาหารที่บริโภค) เพศ เชื้อชาติ

สัญชาติ ภูมิภาคที่อาศัยอยู่ และความชอบส่วนบุคคล ความแตกต่างของการได้รับสัมผัสจะแสดงเป็นกราฟความถี่ (**รูปที่ 3**) บางครั้งการกระจายความถี่จะถูกประมาณเป็น การกระจายข้อมูลความน่าจะเป็นแบบ continuous probability ดังแสดงใน**รูปที่ 4**



รูปที่ 3. การกระจายความถี่ของการได้รับสัมผัส



รูปที่ 4. การกระจายข้อมูลความน่าจะเป็นแบบ continuous probability

ทั้ง**รูปที่ 3** และ **รูปที่ 4** จะเห็นได้ว่าแกน X ในแนวนอนแสดงระดับของการได้รับสัมผัสและแกน Y ในแนวตั้งแสดงสัดส่วนของประชากร ค่าการกระจายของข้อมูลจะเป็นตัวแทนของจำนวนประชากร ตัวอย่าง เช่น ค่า medianของแต่ละบุคคล จะเป็นค่าการได้รับสัมผัสที่ค่ากลางของการกระจายของข้อมูล (จำนวนประชากรครึ่งหนึ่งได้รับสัมผัสน้อยกว่าค่า median ของแต่ละบุคคลใน

ขณะที่อีกครึ่งหนึ่งมีระดับการได้รับสัมผัสมากกว่าค่าmedian ของแต่ละบุคคล) ที่ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 95 ของแต่ละบุคคลจะมีการสัมผัสในระดับที่มากกว่าร้อยละ 95ของจำนวนประชากร ค่าเฉลี่ยของการได้รับสัมผัสไม่จำเป็นที่จะเป็นค่าที่แสดงของแต่ละบุคคลแต่มันจะเป็นค่าที่ได้จากสมการของผลรวมของการได้รับสัมผัสของประชากรทั้งหมดหารด้วยขนาดของประชากร

วิธีนี้จำเป็นต้องมีชุดของข้อมูลที่เป็นตัวแทนการกระจายของปริมาณความเข้มข้นของสารเคมีที่นำมาใช้ในอาหารแต่ละหมวดหรือกลุ่มและมีการกระจายของข้อมูลการบริโภคสำหรับอาหารในหมวดหรือกลุ่มเดียวกันของประชากรที่เราสนใจศึกษาและวิธีนี้ยังได้มีการคิดชดเชยหรือเผื่อค่าความผันแปรของข้อมูลที่จะถูกนำมาคำนวณไว้แล้วจึงทำให้ข้อมูลมีค่าใกล้เคียงความเป็นจริงมากกว่าวิธีอื่นที่กล่าวมาแล้ว วิธีนี้มีแนวปฏิบัติเป็น 2 แนวทางในการคิดการกระจายของข้อมูลคือ

แนวทางที่ 1: การใช้ non-parametric สามารถนำมาใช้เมื่อข้อมูลที่มีอยู่เป็นชุดข้อมูล ณ ปัจจุบันและสามารถเป็นพารามิเตอร์หนึ่งได้ ในกรณีนี้ชุดข้อมูลจะถูกสมมุติให้แทนการกระจาย (distribution) ที่เราสนใจศึกษา การประเมินแบบ Probabilistic จะถูกนำมาใช้โดยการสุ่มเลือกค่าตัวเลขค่าใดค่าหนึ่งจากชุดข้อมูลที่มีอยู่สำหรับแต่ละครั้งของการทำซ้ำ ตัวอย่างเช่น หาก 1 ชุดข้อมูลประกอบด้วยการวัดค่าความเข้นข้นที่ 100 ความเข้มข้น ประกอบด้วยการสังเกตจากการศึกษา 2 การศึกษาหรือ 2 ครั้งที่ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแล้ว ค่าการประเมิน Probabilistic จะถูกสมมุติให้มีค่าความถี่ของความเข้มข้นที่ 2%

แนวทางที่ 2: การใช้ parametric เป็นการสอดแทรกระหว่างค่าค่าหนึ่งของข้อมูลและประมาณค่าจากข้อมูลที่มีนั้น โดยสมมุติรูปแบบการกระจายแบบจำเพาะ ตัวอย่างเช่นเทคนิคมาตรฐานสามารถถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดค่าปกติค่าหนึ่ง กำหนดค่า lognormal หรือรูปแบบอื่นใดของค่าการกระจายต่อชุดข้อมูล ถึงแม้ว่าการประมาณค่าจะสามารถเติมเต็มช่องว่างที่เฉพาะต่อชุดข้อมูลที่เฉพาะเจาะจงแล้วนั้น การกำจัดช่องว่างเหล่านี้ออกไปก็จะยังกลายมาเป็นค่าที่เวลาตั้งสมมุติฐานก็ยังต้องคำนึงถึงอยู่ดี ดังนั้นผู้ประเมิน (assessor) สามารถประเมินผลกระทบของสมมุติฐานที่ตั้งขึ้นโดยการทำการวิเคราะห์สมมุติฐานที่เป็นทางเลือกที่มีความเป็นไปได้ซ้ำอีก

การประยุกต์ใช้วิธี Probabilistic ในระดับนานาชาติ

รูปแบบของ Probabilistic ถูกนำมาใช้เพิ่มมากขึ้นทั้งในระดับชาติและนานาชาติ เช่น the United States Environmental Protection Agency (USEPA) ใช้แนวคิดนี้สำหรับการประเมินการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลัน (acute dietary exposure) ของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในอาหารที่บริโภค ส่วนในยุโรปมีโครงการที่ใช้รูปแบบนี้เรียกชื่อโครงการ EU Monte Carlo project สามารถดูรายละเอียดได้ใน http://montecarlo.tchpc.tcd.ie/ และนำชุดข้อมูลที่เรียกว่า SAFE FOODS มาใช้กับโครงการนี้สามารถดูรายละเอียดของ SAFE FOODS ได้ใน http://www.safefoods.nl/default.aspx

5.6 ข้อพิจารณาการเลือกใช้วิธีประเมินการได้รับสัมผัสกรณีการสัมผัสแบบเฉียบพลันหรือสัมผัสต่อเนื่องเป็นเวลานาน

วิธีประเมินการได้รับสัมผัสที่เหมาะสมอาจต้องพิจารณาจากรูปแบบของการได้รับสัมผัสที่ขึ้นกับระยะเวลาการได้รับสัมผัสซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบคือ 1) Chronic exposure เป็นการสัมผัสต่อเนื่องเป็นเวลานาน 2) Acute exposure เป็นการสัมผัสเฉียบพลันในระยะเวลาสั้นจากอาหาร 1 มื้อหรือตลอดในเวลา 1 วัน

รายละเอียดของแต่ละแบบมีดังนี้

1) Chronic dietary exposure มักใช้ในการศึกษาทางพิษวิทยาเพื่อตรวจหาอาการไม่พึงประสงค์จากการบริโภคสารเคมีที่มีในอาหารโดยการได้รับในเวลานาน เช่น หลายเดือน หรือตลอดช่วงอายุขัยของสัตว์ทดลองโดยขนาดของสารที่ทดสอบมักเป็นปริมาณไม่สูงมากแต่ให้ต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ในการศึกษาให้ใช้ค่าการได้รับสัมผัสที่ค่าเฉลี่ย (mean) หรือใช้ค่ากลาง (median) ร่วมกับค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงหรือร่วมกับการกระจายของข้อมูลการบริโภค

กรณีประเมินอาหารที่ไม่ใช่อาหารที่บริโภคเป็นประจำทุกวันโดยผู้บริโภคส่วนใหญ่ การใช้ค่าเปอร์เซ็นไทล์ที่สูงที่มาจากประชากรทั้งหมดอาจมีผลให้ค่าที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริงเนื่องจากมีกลุ่มที่ไม่ได้บริโภคถูกรวมอยู่ด้วย ดังนั้นกรณีดังกล่าวให้ใช้ข้อมูลจากกลุ่มที่บริโภคอาหารกลุ่มนั้นโดยเฉพาะ (consumer only) ไม่ใช่ข้อมูลการบริโภคจากประชากรทั้งหมด เมื่อใช้วิธี point estimate ประเมินในเบื้องต้นแล้วผลลัพธ์ที่ได้ปรากฏว่าค่าการได้รับสัมผัสจากสารเคมีนั้นต่ำกว่าค่าที่แนะนำให้บริโภคในแต่ละวัน (Health-based guidance value) การใช้ refinement method ในขั้นตอนต่อไปก็ไม่มีความจำเป็นนั่นแสดงว่าการบริโภคสารเคมีนั้นยังคงอยู่ในระดับที่ปลอดภัย แต่ในทางตรงข้ามหากผลลัพธ์ที่ได้ปรากฏว่าค่าการได้รับสัมผัสจากสารเคมีนั้นใกล้เคียงหรือสูงกว่าค่าที่แนะนำให้บริโภคในแต่ละวัน (Health-based guidance value) จะต้องใช้วิธีการประเมินที่ละเอียดและถูกต้องมากขึ้นในลำดับต่อไป

2) Acute dietary exposure เริ่มในปี ค.ศ. 1990 วิธีนี้นำมาใช้กับสารเคมีตกค้างที่อาจเกิดความเสี่ยงจากการสัมผัสภายในเวลา 1 หรือ 2-3 วันเท่านั้น มักใช้กรณีสารพิษตกค้างในผัก ผลไม้ เช่น สารกำจัดศัตรูพืชที่ให้พิษเฉียบพลัน (กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต) ในกลุ่มที่บริโภคผัก ผลไม้ในปริมาณสูงมาก วิธีที่ใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสกรณีเฉียบพลันนี้คือ deterministic (point value) หรือ วิธี distributional (probabilistic หรือ stochastic) นอกจากนี้มักใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสจากยาสัตว์ตกค้าง และสารปนเปื้อนในอาหาร ส่วนวัตถุเจือปนอาหาร (food additives) และสารแต่งกลิ่นรส (flavouring agents) มักไม่เกิดพิษเฉียบพลันในระดับปริมาณความเข้มข้นที่ใช้ในอาหารเพื่ออยู่ในค่าที่แนะนำให้บริโภคตาม heath-based dietary guidance จึงไม่จำเป็นต้องประเมินพิษเฉียบพลันจากการได้รับสัมผัส แต่อาจมีข้อยกเว้นในกรณีการประเมินปฏิกิริยาแบบที่ทนไม่ได้อย่างเฉียบพลัน (acute intolerant) ของอาการถ่ายท้อง (laxation) จากสารทดแทนความหวาน polyol และอีกกรณีคือสารเคมีที่ทำให้

เกิดอาการแพ้ (allergic reaction) ซึ่งจำเป็นที่ต้องคำนึงถึงแต่ทำได้ยากเนื่องจากไม่มีความชัดเจนของค่า heath-based dietary guidance ของ allergic reactionที่จะนำมาใช้ประเมินการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลันซึ่งในปัจจุบันกำลังมีงานวิจัยเพื่อหาค่า threshold ของอาการก่อภูมิแพ้ในอาหารที่ก่อให้เกิดอาการแพ้เพื่อจะได้มีข้อมูลสนับสนุนต่อไป

บทที่ 6 การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization)

การอธิบายลักษณะความเสี่ยงเป็นขั้นตอนที่ 4 ของกระบวนการประเมินความเสี่ยงเป็นการรวบรวมข้อมูลจากการอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) และการประเมินการได้รับสัมผัส (exposure assessment) เพื่อกำหนดข้อแนะนำทางวิชาการสำหรับผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) ทั้งนี้ The Codex Alimentarius Commission (CAC) ได้นิยามการอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization) ว่าเป็นการประมาณในเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) รวมทั้งให้ค่าความไม่แน่นอนของข้อมูล (Uncertainty) ของความน่าจะเป็นที่เกิดขึ้นและความรุนแรงของอาการอันไม่พึงประสงค์ในประชากรบนพื้นฐานของการแสดงถึงความเป็นอันตราย (hazard identification) การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization) และการประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment)

ค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภค (Health-based guidance values) จะถูกกำหนดโดย JECFA และ JMPR สำหรับสารที่แสดงค่าที่ได้รับสัมผัสได้สูงสุดโดยไม่ทำให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ (threshold) ในการอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization) ของสารเหล่านี้จะมีการนำค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภค (Health-based guidance values) มาเปรียบเทียบกับค่าการได้รับสัมผัสที่ประมาณได้จากมนุษย์ (estimated human exposure) หากค่าการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของสารใดต่ำกว่าค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภค (Health-based guidance values) ก็ไม่จำเป็นต้องอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization) ในกรณีที่ค่าการได้รับสัมผัสสูงกว่าค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภคในขั้นต้นนั้นยังไม่ต้องอาศัยคำแนะนำจากผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) ถึงความเสี่ยงที่ได้รับอันตราย ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภคนั้นได้คิดค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty factors) หรือองค์ประกอบความปลอดภัย (Safety factor) ไว้ด้วยแล้ว ค่าการได้รับสัมผัสสูงกว่าค่าที่กำหนดแนะนำให้บริโภคเพียงเล็กน้อยที่ได้จากการศึกษาแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic) หรือการศึกษาแบบเรื้อรัง (chronic) ไม่ได้หมายความว่าจะส่งผลให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ในมนุษย์ได้ กรณีที่ข้อมูลมีไม่เพียงพอในการกำหนดค่าที่แนะนำให้บริโภคสำหรับสารใดสารหนึ่งหรือ mode of action ไม่สามารถแสดงค่าที่ได้รับสัมผัสได้สูงสุดโดยไม่ทำให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ (threshold) แล้วนั้น JECFA และ JMPR อาจกำหนดให้ใช้ค่า ระหว่างขนาด (dose) ที่แสดงผลกระทบต่อสุขภาพที่ปรากฏในสัตว์ทดลองและอนุมานการได้รับสัมผัสไปยังมนุษย์ได้ ตัวอย่างการนำค่า MOE มาใช้ในการการอธิบายลักษณะความเสี่ยงได้แก่ อะคริลาไมด์ (acrylamide) และ คาราจีแนน (carrageenan) ในนมผงสำหรับทารก

6.1 การวิเคราะห์ค่าความไม่แน่นอน ค่าความแปรปรวน และความไว (Uncertainty, variability and sensitivity analysis)

การอธิบายลักษณะความเสี่ยงควรจะรวมการพิจารณาและอธิบายค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) และค่าความแปรปรวน (Variability) ไว้ด้วย ทั้งนี้ค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) จะเป็นการอ้างถึงข้อจำกัดด้านความรู้ของผู้ประเมินความเสี่ยง (Risk assessor) เกี่ยวกับข้อมูลและรูปแบบที่นำมาใช้ ค่าความแปรปรวน (Variability) จะเป็นการสะท้อนความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ส่งผลทั้งการสัมผัสและการตอบสนองที่แตกต่างกัน ดังนั้นถึงแม้ว่าทั้งค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) และค่าความแปรปรวน (Variability) สามารถถูกอธิบายโดยใช้หลักการความน่าจะเป็นของกระจายของข้อมูลแต่ทั้งสองค่าก็ยังมีความแตกต่างด้านหลักการที่ไม่เหมือนกัน

ค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) สามารถลดลงได้โดยการปรับปรุงคุณภาพและปริมาณของข้อมูลที่ได้มาให้ดีขึ้น เช่น ควรลดข้อผิดพลาดจากการสุ่มตัวอย่าง หากกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษามีความแตกต่างกันมากควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่จะนำมาศึกษาให้มากขึ้น และต้องใช้หลักการทางสถิติในการสุ่มตัวอย่างที่ทำให้ได้ข้อมูลที่สามารถเป็นตัวแทนที่ดีของกลุ่มประชากรนั้นด้วย การกระจายของข้อมูลควรเป็น normal distribution มีการกำหนดค่า confidence intervals สำหรับพารามิเตอร์ที่เราทำการศึกษาที่แสดงค่าความผิดพลาดของการสุ่มตัวอย่าง (sampling error) การอธิบายลักษณะของค่าความแปรปรวน (Variability) สำหรับการได้รับสัมผัสจากการบริโภค (dietary exposure)ในกลุ่มประชากรสามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นได้โดยมีแหล่งหรือจำนวนข้อมูลที่ดีขึ้นแต่ไม่ควรจะตัดค่าความแปรปรวน (Variability) ทิ้งไปโดยไม่นำมาพิจารณาร่วมด้วย

การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity analysis) เป็นการกล่าวอ้างถึงเทคนิคที่นำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของข้อมูลปริมาณการบริโภคที่นำมาใช้ในการประเมิน ซึ่งข้อมูลที่นำมาใช้นี้มีผลทำให้เกิดความไม่แน่นอน (Uncertainty) เกิดขึ้นอย่างมาก ดังนั้นหากสามารถวิเคราะห์หาจุดที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอนของข้อมูลทั้งชุดได้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก บางครั้งการวิเคราะห์ความไวจะถูกนำมาใช้ในการประเมินความถี่ของการกระจายของข้อมูล (frequency of distribution) หากเป็นกรณีดังกล่าวนี้ความสัมพันธ์ของ inputs ที่ใช้อธิบายค่าความแปรปรวน (Variability) ของกลุ่มประชากรและการกระจายข้อมูลของ outputs ของกลุ่มประชากรที่เป็นผลลัพธ์จะถูกตรวจสอบ รูปแบบการวิเคราะห์แบบนี้อาจเป็นประโยชน์ในการกำหนดกลยุทธ์ในการควบคุมสารเคมีที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

6.2 การได้รับสัมผัสร่วมจากวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสม (Combined exposure to mixed substances)

ควรให้ความตระหนักกับการประเมินความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการได้รับสัมผัสร่วม (Combined exposure) ของวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมที่มีส่วนประกอบของสารหลายชนิด ทั้งนี้ผลที่กระทบต่อกันของปฏิกิริยาของวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมมี 4 แบบ คือ

1) ***การเพิ่มขนาดหรือปริมาณสาร (Dose addition)***: เป็นผลมาจากสารหลายชนิดที่รวมกันอยู่แสดงความเป็นพิษโดยผ่านกลไกเดียวกัน สำหรับสารที่มีค่า threshold ที่ได้จาก dose–response relationships ค่าฤทธิ์โดยรวม (total activity) ของวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมนั้นจะเท่ากับค่าผลรวมจากการได้รับสัมผัสของสารแต่ละชนิดที่อยู่ในสารผสมนั้นที่ถูกทำให้เพิ่มขึ้นหลายเท่าโดยสัมพันธ์กับฤทธิ์ของมัน ตัวอย่างที่นิยมใช้หลักการของ dose addition คือสารกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่มที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่เหมือนกัน
2) ***ผลการตอบสนองที่เพิ่มขึ้น (Response addition):*** เป็นผลที่เกิดจากสารมากกว่า 2 ชนิดที่ผสมอยู่ด้วยกันให้ผลการตอบสนองที่เหมือนกันหรือโดยผ่านกลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างกัน
3) ***การเสริมฤทธิ์ (Synergism):*** ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นเป็นผลรวมที่ทำให้ผลลัพธ์นั้นมีค่าที่สูงกว่าที่คาดการณ์ไว้โดยศักยภาพการออกฤทธิ์ของสารแต่ละชนิดในสารผสมถูกรวมเข้าด้วยกันที่ระดับการได้รับสัมผัสระดับเดียวกัน ทั้งนี้การเสริมฤทธิ์กันอาจเป็นผลจากปฏิกิริยาทางพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetic) ที่เป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกายหรือพิษพลศาสตร์ (toxicodynamic)
4) ***การขัดขวางต่อกัน (Antagonism):*** อาจเกิดจากปฏิกิริยาต่อกันทางด้านพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetic) หรือพิษพลศาสตร์ (toxicodynamic) แต่ปกติแล้วสารแต่ละชนิดที่อยู่ร่วมกันในวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมจะมีอยู่ที่ระดับขนาดหรือความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ (active dose) เท่านั้น ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาต่อกันแบบนี้จะไปลดความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์และมีความเป็นไปได้ที่จะทำให้ลดผลเสียต่อสุขภาพหรือไม่กระทบต่อสุขภาพก็เป็นได้ สารขัดขวางบางชนิดอาจเป็นสารที่มีศักยภาพการออกฤทธิ์ต่ำแต่มีผลยับยั้งสารอีกชนิดหนึ่งโดยการที่มันเข้าไปแย่งจับในตำแหน่งที่สารคู่แข่งจะเข้าทำปฏิกิริยา

การประเมินวัตถุเจือปนอาหาร สารกำจัดศัตรูพืช และยาสัตว์ที่เป็นลักษณะผสมปกติจะอยู่ภายใต้การกำหนดของ JECFA และ JMPR ทั้งนี้ JECFA ใช้ค่า “ADI กลุ่ม (group ADI)” สำหรับวัตถุเจือปนอาหารที่ถูกเมแทบอไลต์เปลี่ยนไปเป็นสารที่เป็นพิษและจะใช้ค่า “TDI กลุ่ม (group TDI)” กับสารปนเปื้อนที่เกิดขึ้นในวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสม มีการนำหลักการหนึ่งที่สามารถชดเชยหรือเผื่อค่าที่เป็นผลจากการเสริมขนาดของวัตถุเจือปนอาหารลักษณะผสมที่มีสารหลายชนิดรวมกันอยู่คือการนำค่า “the Toxic equivalency factor (TEF)” มาพิจารณาซึ่งสเกลของการได้รับสัมผัสต่อสารแต่ละชนิดที่อยู่ในสารลักษณะผสมจะสัมพันธ์กับศักยภาพของค่าดัชนีทางเคมี (the potency of an index chemical) เช่น กรณีไดออกซิน (dioxins) และสารเคมีที่มีโครงสร้างคล้ายไดออกซิน (dioxin-like chemicals)

6.3 สารพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและสารก่อมะเร็ง (Genotoxic and carcinogenic substances)

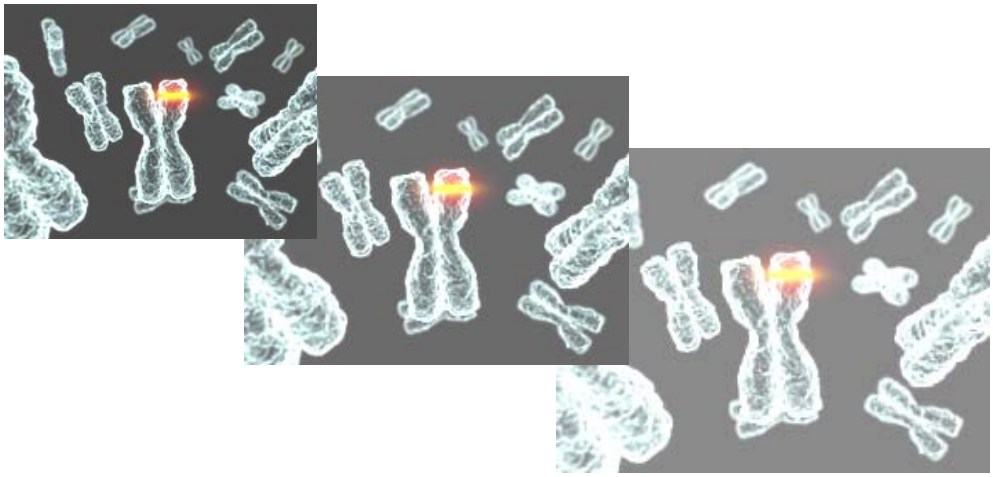
สารที่เป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและเป็นสารก่อมะเร็งนั้นในอดีตที่ผ่านมาที่มีการใช้เป็นอาหารนั้นไม่มีขนาด (dose) ที่ทำให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์และไม่พบระดับที่เกิดความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัส

ดังนั้น JECFA จึงไม่มีการกำหนดค่าแนะนำให้บริโภคต่อวัน (health-based guidance values) ส่วนสารบางชนิดถึงแม้ว่าจะสามารถชักนำการเกิดมะเร็งเมื่อทำการศึกษาในสัตว์ทดลองแต่ไม่ได้มีกลไกการชักนำการเกิดมะเร็งโดยผ่านหน่วยพันธุกรรม (non-genotixic) ซึ่งทำให้สารชนิดนี้ไม่มีค่าที่แสดงอาการอันไม่พึงประสงค์ (threshold) ดังนั้นหากเป็นกรณีนี้จะสามารถกำหนดค่าแนะนำให้บริโภคต่อวัน (health-based guidance values) ได้ แต่โดยทั่วไปแล้วสารที่เป็นทั้งสารพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและเป็นสารก่อมะเร็งจะไม่ยอมรับให้นำมาใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร แต่หากมีการปนเปื้อนมาการประเมินการได้รับสัมผัสจากการบริโภคจะคิดคำนวณโดยใช้หลักการเดียวกับสารปนเปื้อนที่ตกค้าง (contaminants)

การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk characterization) ของสารพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและสารก่อมะเร็ง สามารถทำได้เป็น 3 แบบที่ต่างกันคือ

1) คำนวณค่า MOE ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างขนาด (dose) ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเป็นมะเร็งซึ่งส่วนใหญ่เป็นค่าที่ได้จากการทดสอบในสัตว์กับค่าการได้รับสัมผัสของสารนั้นในมนุษย์
2) การวิเคราะห์แบบ dose–response ที่ขนาด (dose) อยู่เกินไปจากช่วงที่ทำการศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อนำมาคำนวณอัตราการเกิดมะเร็งที่ตามทฤษฎีแล้วจะสัมพันธ์กับการประมาณปริมาณการได้รับสัมผัสในมนุษย์หรือการได้รับสัมผัสสัมพันธ์กับการกำหนดล่วงหน้าถึงอัตราการเกิดมะเร็ง เช่นความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเพิ่มขึ้น 1 ใน 1,000,000 ตลอดช่วงชีวิต
3) การประมาณค่าแบบ linear low-dose extrapolation จากค่า point of departure (POD) เช่น ใช้ค่า BMDL

จากการอธิบายลักษณะความเสี่ยงทั้ง 3 แบบ การใช้ค่า MOE และการอนุมานค่า (extrapolation) จาก linear low-dose จาก POD เป็นวิธีการที่นิยมและมักจะนำมาใช้ในปัจจุบันมากที่สุด ดังนั้น JECFA จึงได้แนะนำให้ใช้การประมาณจากค่า MOE ในกรณีการอธิบายลักษณะความเสี่ยงของสารที่เป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและเป็นสารก่อมะเร็งด้วย ทั้งนี้การนำหลักการนี้มาใช้ประเมินจะเป็นข้อมูลสำหรับผู้จัดการความเสี่ยง (Risk managers) ในการติดตามผลกระทบจากการได้รับสัมผัสสารก่อมะเร็งและก่อพิษต่อหน่วยพันธุกรรมและเพื่อเป็นข้อมูลในการช่วยจัดลำดับความสำคัญในการบริหารจัดการความเสี่ยง (Risk management)

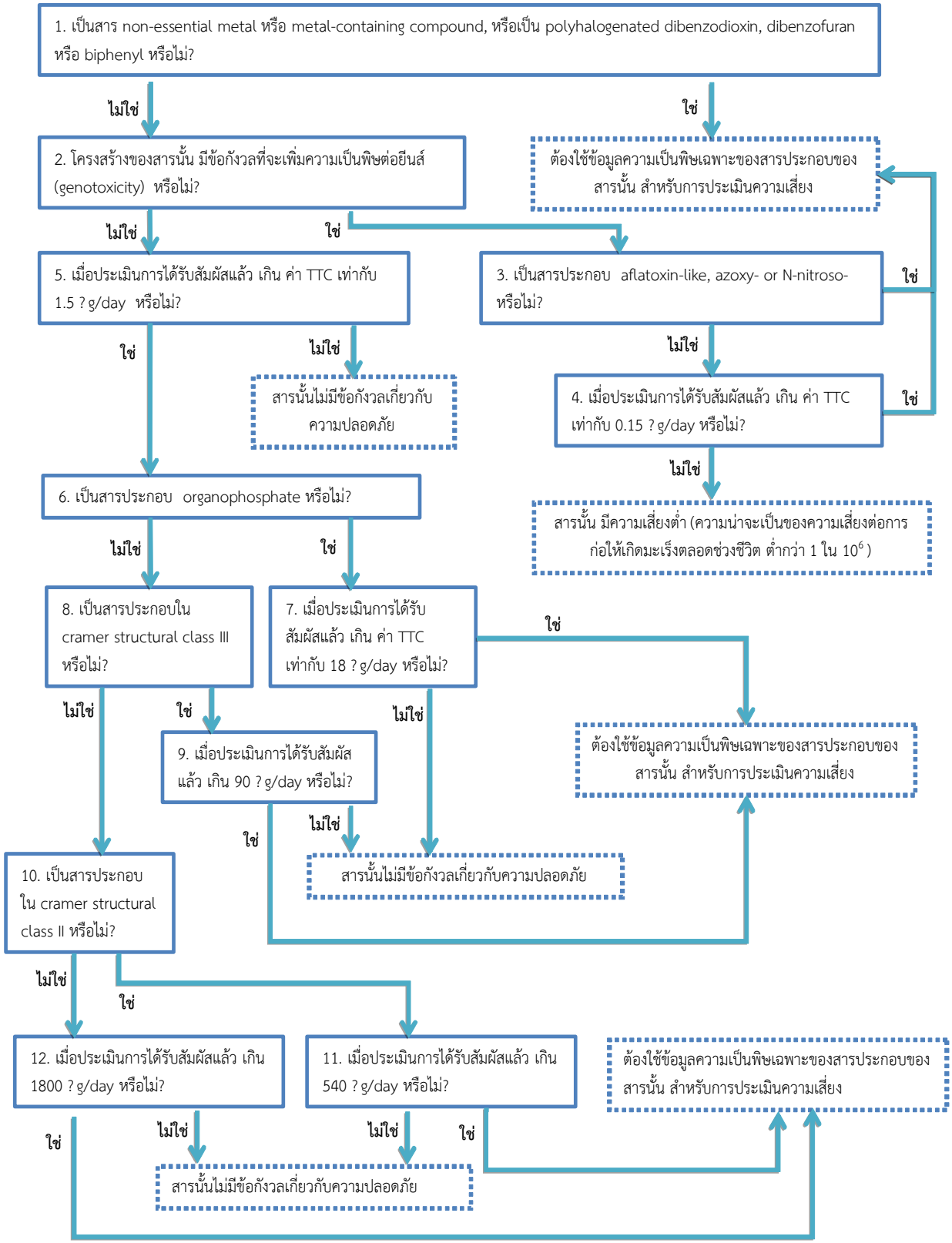


บทที่ 7 ข้อพิจารณาพิเศษสำหรับกลุ่มสารเฉพาะ (Special consideration for specific groups of substances)

มีสารหลายชนิดที่ JECFA ประเมินว่ามีอยู่ในอาหารในปริมาณที่ต่ำ ได้แก่ วัตถุแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents) สารช่วยในกระบวนการผลิต (Processing aids) สารสกัด (Extraction solvent) และเอนไซม์ (Enzymes) ซึ่งถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร รวมทั้งสารที่ตกค้างในอาหารจากภาชนะบรรจุ สารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม สำหรับการประเมินสารกลุ่มต่างๆดังกล่าวนี้อาจต้องใช้วิธีที่เหมาะสมดังจะได้กล่าวต่อไปในบทนี้

หลักการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้คือหลักการ The Threshold of Toxicological Concern (TTC) โดยมีหลักการพื้นฐานที่ว่าความเป็นพิษจะมีบทบาทหน้าที่เป็น 2 แบบคือทั้งโครงสร้างสารเคมีและปริมาณการได้รับสัมผัส ทั้งนี้หลักการ TTC จะช่วยผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessor) ใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์มาเป็นแนวทางประเมินในกรณีที่มีความเป็นไปได้สูงที่ขาดข้อมูลความเป็นพิษหรืออันตรายอันเนื่องมาจากการได้รับสัมผัสในปริมาณต่ำจากการบริโภคและมีเพียงข้อมูลโครงสร้างทางเคมีของสารนั้นเพียงอย่างเดียว

หลักการ TTC ถูกประยุกต์ใช้โดย JECFA เพื่อกำหนดค่าที่ได้รับสัมผัสได้สูงสุดโดยไม่ทำให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ที่เรียกว่าระดับกั้น (threshold) ของการได้รับสัมผัสโดยมนุษย์ (TTC values) สำหรับกลุ่มสารเคมีที่มีโครงสร้างต่างกัน 3 ประเภทซึ่งมีความเป็นไปได้น้อยมากที่จะส่งผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ค่า TTC เหล่านี้ได้มาจากข้อมูลความเป็นพิษของสารเคมีที่มีอยู่แล้วซึ่งถูกจำแนกเป็น 1 ใน 3 ของโครงสร้างสารเคมี 3 ประเภท ค่า TTC ของสารเคมีในแต่ละประเภทมีค่าดังนี้ ประเภทที่ 1 เท่ากับ 1,800 ประเภทที่ 2 เท่ากับ 540 ประเภทที่ 3 เท่ากับ 90 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน ซึ่งค่าเหล่านี้ถูกนำมาใช้เพื่อประมาณค่าการได้รับสัมผัสของมนุษย์ การใช้ decision tree เป็นแนวทางในการปฏิบัติสำหรับประเมินความปลอดภัยของวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavouring agents) ถูกพัฒนาขึ้นโดย JECFA สำหรับประยุกต์หลักการ TTC กับวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavouring agents) ดังแสดงใน**รูปที่ 5**



รูปที่ 5. Decision tree ของ Kroes et al. (2004) เพื่อประยุกต์การนำค่า TTC ไปใช้

ค่า TTC ของสารเคมีที่มีค่าเท่ากับ 0.15 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน จะพบในสารประกอบที่มีสารที่เป็นพิษต่อยีนส์ (genotoxicity) ทั้งนี้ไม่รวมสารที่มีโครงสร้างคล้ายอะฟลาทอกซิน และสารกลุ่ม azoxy- และไนโตรซามีน ทั้งนี้เพราะสารดังกล่าวเหล่านั้นมีความเป็นไปได้สูงที่ช่วงชีวิตของความเสี่ยงต่อมะเร็งมากกว่า 1 ใน 1,000,000 ของปริมาณการบริโภคในขณะที่สารอื่นที่มีโครงสร้างที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อยีนส์นั้น 95% ของความน่าจะเป็นจะมีความเสี่ยงต่ำกว่า1 ใน 1,000,000 เมื่อยอมรับขั้นตอนในเบื้องต้นแล้ว JECFA ได้ตัดสินใจนำไปปฏิบัติให้เป็นรูปธรรมเพื่อประเมินค่าการได้รับสัมผัสวัตถุแต่งกลิ่นรสจากอาหารที่บริโภค เพื่อใช้เป็นข้อมูลกำหนดปริมาณการผลิตเป็นประจำในภูมิภาคที่แตกต่างกัน การประมาณการบริโภคสูงสุดจากการสำรวจนี้เรียกว่า Maximum Survey-Derived Intake (MSDI) ซึ่งค่าที่ได้พัฒนามาจากตัวเลขที่เป็นปริมาณการผลิตที่เป็นประจำทั้งหมดของวัตถุแต่งกลิ่นรส โดยมีการปรับตัวเลขตามความเป็นจริงที่ว่าไม่ใช่สารเคมีทั้งหมดที่ผลิตขึ้นจะถูกนำมารายงานและสมมุติให้บริโภควัตถุแต่งกลิ่นรสเป็นเพียง 10%ของประชากรทั้งหมดเท่านั้น ทั้งนี้ JECFA ได้ให้ข้อสังเกตว่าการใช้ค่า MSDI อาจให้ผลลัพธ์ที่ต่ำกว่าความเป็นจริง (สำหรับการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของผู้ที่บริโภคอาหารที่มีวัตถุแต่งกลิ่นรสเป็นประจำ) จึงได้เพิ่มเติมวิธีใหม่ที่เรียกว่า Single Portion Exposure Technique (SPET) ซึ่งวิธี SPET นี้จะเป็นการประมาณค่าที่สมมุติให้การบริโภคในแต่ละวันของอาหารชนิดเดี่ยวๆที่มีการเติมวัตถุแต่งกลิ่นรสบนพื้นฐานของการเติมในระดับอุตสาหกรรมอาหาร วิธี SPET จะหากลุ่มอาหารทั้งหมดที่มีการใช้วัตถุแต่งกลิ่นรสชนิดเดียวกันโดยกำหนดว่าปริมาณที่เติมลงในอาหารเป็นปริมาณมาตรฐานที่เท่ากันในอาหารแต่ละกลุ่มแล้วทำการหาประเภทของอาหารเพียงประเภทเดียวที่มีการได้รับสัมผัสโดยการบริโภคในปริมาณสูงสุด ทั้งนี้ขนาดการบริโภคมาตรฐาน (standard portion) ถูกนำมาเป็นตัวแทนของค่าเฉลี่ยปริมาณการบริโภคของผู้บริโภคอาหารกลุ่มนั้นๆโดยสมมุติให้เป็นค่าการบริโภคประจำวันที่ติดต่อกันเป็นเวลานาน

7.1 สารกลุ่มที่บริโภคปริมาณน้อย (Substances consumed in small amounts):

สารกลุ่มที่บริโภคปริมาณน้อยที่จะกล่าวในที่นี้ได้แก่ วัตถุแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents) และสารช่วยในกระบวนการผลิต (Processing aids) ซึ่งแบ่งออกเป็น สารสกัด (Extraction solvent) เอนไซม์ (Enzymes) และ สารที่ทำให้หยุดการเคลื่อนที่ (Immobilizing agents)

7.1.1 วัตถุแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents)

JECFA ได้ระบุว่าโอกาสการได้รับสัมผัสวัตถุแต่งกลิ่นรส (Flavouring agents) ค่อนข้างต่ำหรือจำกัดเนื่องจากสารกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะถูกเมแทบอไลต์ได้อย่างรวดเร็วแล้วถูกขับออกซึ่งความเป็นจริงนี้ส่งผลให้มีข้อจำกัดของการทดสอบทางพิษวิทยาและข้อมูลทางเมแทบอลิกของวัตถุแต่งกลิ่นรส เช่น กระบวนการไฮโดรลิซิสของเอสเทอร์ ดังนั้นการนำโครงสร้างทางเคมีมาพิจารณาจึงเป็นแนวทางปฏิบัติที่เป็นหลักที่นำมาใช้ในการประเมินความปลอดภัยของวัตถุแต่งกลิ่นรส

สารที่จะนำมาเป็นวัตถุแต่งกลิ่นรสนั้น ประกอบด้วย กลุ่มของสารที่หลากหลายซึ่งรวมทั้ง

- สารสังเคราะห์ที่ไม่เหมือนกับสารที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในอาหาร

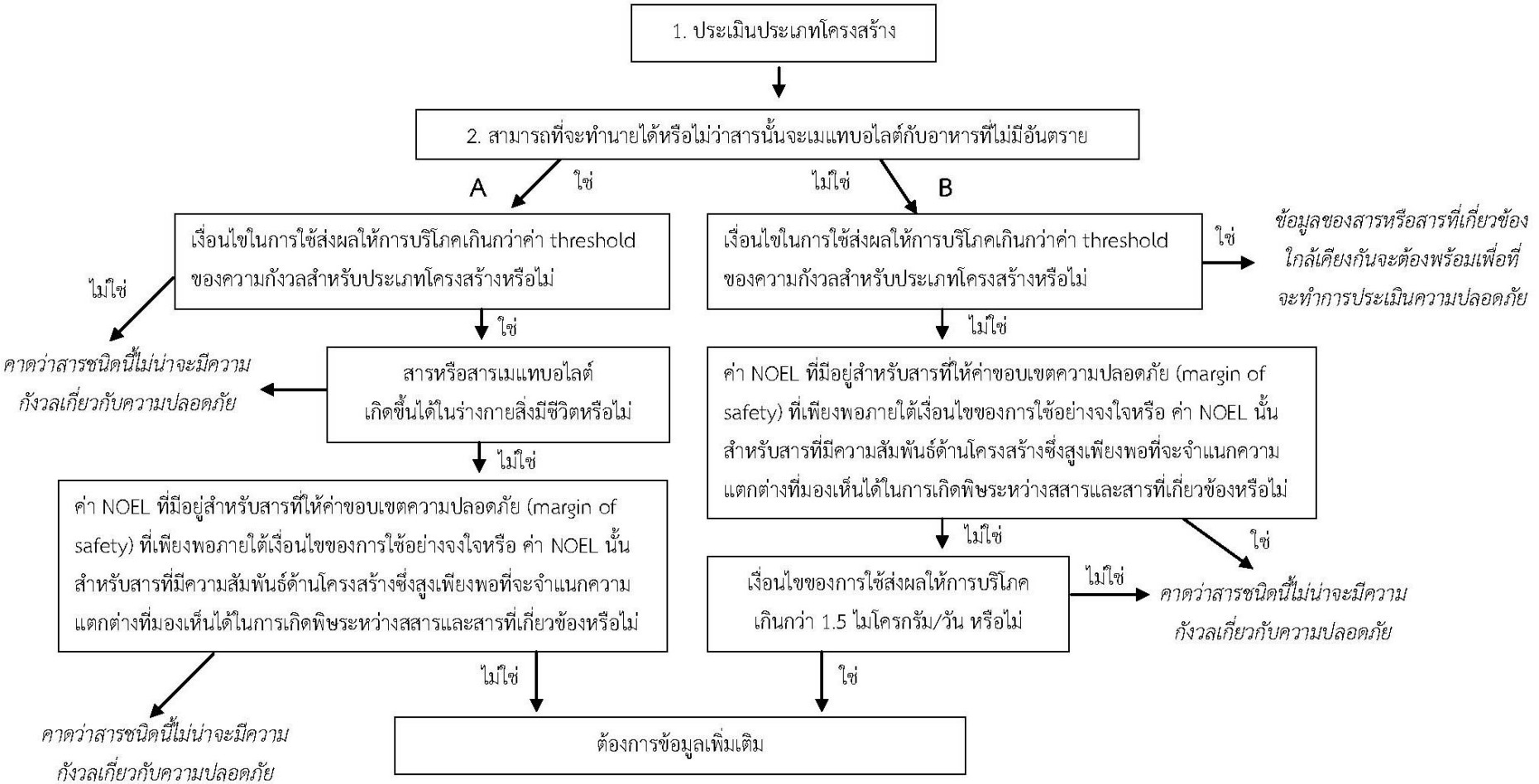
- วัสดุหรือส่วนประกอบตามธรรมชาติซึ่งปกติไม่ได้บริโภคเป็นอาหารหรือผลผลิตที่แปรรูปมาและเทียบเท่ากับวัตถุแต่งกลิ่นรสตามธรรมชาติ ได้แก่ สมุนไพร เครื่องเทศ
- วัตถุแต่งกลิ่นรสตามธรรมชาติที่ได้จากพืชผักและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ซึ่งปกติบริโภคเป็นอาหาร รวมทั้งสารที่สังเคราะห์ที่ไม่ว่าจะผ่านกระบวนการแปรรูปหรือไม่

ในปัจจุบันวัตถุแต่งกลิ่นรสสามารถแบ่งได้เป็น 40 กลุ่มตามโครงสร้างทางเคมีที่ใช้เป็นการทำนายการเลี่ยนแปลงเมแทบอลิก การประเมินความปลอดภัยของวัตถุแต่งกลิ่นรสต้องอาศัยข้อมูลร่วมกันของข้อมูลการบริโภค (intake) การเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิก (metabolic fate) และข้อมูลทางพิษวิทยา (toxicity) รวมทั้งการประยุกต์ใช้หลักการ TTC concept ดังกล่าวรายละเอียดแล้วในตอนต้นของบทนี้ และได้สรุปขั้นตอนดังแสดงใน**รูปที่ 6**

หากค่าการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของวัตถุแต่งกลิ่นรสชนิดหนึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าระดับกั้น (threshold) ของกลุ่มที่มีโครงสร้างเหมือนกันก็แสดงว่าวัตถุแต่งกลิ่นรสชนิดนั้นมีความปลอดภัยต่อการบริโภคแต่หากการประเมินบนพื้นฐานทางพิษวิทยาแล้วพบว่าการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของวัตถุแต่งกลิ่นรสชนิดหนึ่งมีค่าสูงกว่าระดับกั้น (threshold) ของกลุ่มที่มีโครงสร้างเหมือนกันแสดงว่ามีความเสี่ยงต่ออันตรายจากการบริโภค

สำหรับวัตถุแต่งกลิ่นรสที่ไม่ทราบหรือไม่สามารถทำนายเมแทบอไลต์ของสารนี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะเป็นอะไร การประเมินความปลอดภัยก็ต้องคำนึงถึงข้อมูลทางพิษวิทยาถึงแม้ว่าการประเมินค่าการได้รับสัมผัสต่ำก็ตาม ในกรณีนี้ต้องมีการกำหนดขอบเขตของความปลอดภัย (margin of safety) อย่างเพียงพอระหว่างการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารที่มีวัตถุแต่งกลิ่นรสเป็นองค์ประกอบอยู่และสามารถใช้ค่า NOEL/NOAELของสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ปัจจุบันค่าการได้รับสัมผัสที่ปริมาณ 1.5 ไมโครกรัมต่อวันจะพบว่าวัตถุแต่งกลิ่นรสนั้นไม่มีความเป็นพิษ

JECFA ได้ให้ข้อสังเกตว่าค่า ADI ถูกกำหนดสำหรับวัตถุแต่งกลิ่นรสบางชนิดหรือบางกลุ่มและแนะนำว่าค่าต่างๆเหล่านี้ควรจะถูกยึดถือไว้ ซึ่งค่าที่กำหนดจะสามารถนำมาใช้ในการประเมินความปลอดภัยของมันและค่า ADI ต่างๆเหล่านี้น่าจะถูกนำมาใช้ได้ในกลุ่มอื่นนอกเหนือจากกลุ่มวัตถุแต่งกลิ่นรส เช่น กลุ่มวัตถุเจือปนอาหาร (food additives) ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการหารือในที่ประชุมของ FAO/WHO ในการหาวิธีประเมินความปลอดภัยของสารกลุ่มแต่งกลิ่นรส และที่ประชุมได้แสดงถึงข้อจำกัดของการใช้วิธี The Maximum Survey-Derived Intake (MSDI) และ The Generally Recognized As Safe (GRAS) กับการประเมินความปลอดภัยของวัตถุแต่งกลิ่นรสว่าเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสม ในที่สุด JECFA ได้ยอมรับวิธี The Single Portion Exposure Technique (SPET) ในปี ค.ศ. 2008 รายละเอียดของการประเมินการได้รับสัมผัสจากการบริโภคด้วยวิธี SPET ดังได้กล่าวมาแล้วในตอนต้นของบทนี้ ทั้งนี้ JECFA ได้ให้ข้อสังเกตว่าหากค่าการประเมินการได้รับสัมผัสจากการบริโภคด้วยวิธี SPET มีค่าที่สูงกว่าเมื่อใช้การประเมินโดยวิธี MSDI โดยเพิ่มเติมในขั้นตอน A3 และ B3 ของขั้นตอนตามรูปที่แสดง**รูปที่ 6**



รูปที่ 6. ขั้นตอนประเมินความปลอดภัยของวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavouring agents) ที่ได้รับการรับรองโดย JECFA

7.1.2 สารช่วยในกระบวนการผลิต (Processing aids)

สารที่จัดว่าช่วยในกระบวนการผลิตมีมากมายซึ่งรวมถึง สารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารสกัดสารละลายต่างๆ และเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปหรือประกอบอาหาร

สารละลาย (Solvents):

สารละลายเพื่อใช้ในการสกัด (extraction solvents) ถูกนำมาใช้ในหลายกรณี ตัวอย่างเช่น ในการสกัดไขมันหรือน้ำมัน เพื่อกำจัดไขมันออกจากปลา กำจัดคาเฟอีนออกจากกาแฟและชา ส่วนใหญ่การใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดขึ้นอยู่กับความสามารถของสารทำละลายนั้นที่จะละลายองค์ประกอบในอาหารตามที่ต้องการและมีความเฉพาะ ซึ่งทำให้สารที่ต้องการแยกออกมาจากวัสดุที่เป็นองค์ประกอบอยู่โดยมีการสูญเสียหรือหายไปน้อยที่สุด การเลือกใช้ชนิดของตัวทำละลายเพื่อใช้ในการสกัดจะขึ้นอยู่กับสิ่งต่างๆดังต่อไปนี้

- ความเป็นพิษของสารตกค้าง (residue)
- ความเป็นพิษของสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในสารละลายเพื่อใช้ในการสกัด
- ความเป็นพิษของสาร เช่น สารละลายที่ทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้คงตัว (stabilizers) และวัตถุเจือปนอาหาร (additives) ที่อาจหลงเหลือหลังจากกำจัดสารละลายออกไปแล้ว
- ความเป็นพิษของสารใดๆก็ตามที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นผลของปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย (solvent) และองค์ประกอบในอาหาร (food ingredients)

ก่อนที่สารละลายเพื่อใช้ในการสกัดจะถูกประเมินจำเป็นต้องมีข้อมูลต่างๆประกอบดังต่อไปนี้

- พิสูจน์เอกลักษณ์ว่าสิ่งแปลกปลอมในสารละลายนั้นคือสารใด มีปริมาณเท่าไร (รวมสารที่ถูกสร้างขึ้นมาจากการนำสารละลายนั้นกลับมาใช้ซ้ำด้วย)
- พิสูจน์เอกลักษณ์และปริมาณของสารที่ทำให้คงตัว (stabilizers) และวัตถุเจือปน (additives) อื่นๆ
- ความเป็นพิษของสารละลายที่ตกค้าง วัตถุเจือปน และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่ตกค้างอยู่

สิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่ตกค้างอยู่ต้องให้ความสำคัญโดยเฉพาะหากสารละลายที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นเป็นสารละลายเกรดอุตสาหกรรม (industrial grade) ไม่ใช่เกรดที่ใช้กับอาหาร (food grade) ดังนั้นต้องทำการประเมินข้อมูลทางพิษวิทยาของสารละลายเกรดอุตสาหกรรม (industrial grade) ที่นำมาใช้เพราะอาจมีโอกาสที่สารไม่บริสุทธิ์ต่างๆ ตกค้างอยู่สูงได้ ตัวอย่างกรณีสารเคมี 1,1,1-trichloroethane, trichloroethene และ tetrachloroethene ซึ่งมีข้อมูลทางพิษวิทยาระบุว่ามีความเป็นพิษและสารก่อมะเร็งอยู่

สารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier solvents) จะมีประเด็นที่แตกต่าง หน้าที่ของสารละลายถูกนำมาใช้เพื่อละลายและทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารอาหาร (nutrients) วัตถุแต่งกลิ่นรส (flavours) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สารที่ทำให้เกิดอิมัลชัน (emulsifiers) และ

องค์ประกอบอื่นๆ ของอาหารและวัตถุเจือปนอาหาร มีข้อยกเว้นกรณีสารละลายตัวพาสำหรับวัตถุแต่งกลิ่นรส (carrier solvents for flavours) ที่มีแนวโน้มพบในอาหารในปริมาณที่สูงกว่าสารละลายเพื่อใช้ในการสกัดโดยรวมแล้วเป็นเพราะคุณสมบัติของมันไม่สามารถระเหยได้ (non-volatile)

สารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพาที่ตั้งใจเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additives) และไม่ถูกกำจัดออกจากกระบวนการผลิตจำเป็นต้องประเมินความปลอดภัยของสารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพาเองและต้องประเมินสารเจือปนต่างๆ (any additives) และสารที่ทำให้คงตัว (stabilizer) ที่อยู่ในสารละลายตัวพานั้นด้วย

เอนไซม์ (Enzymes):

การเตรียมเอนไซม์ (Enzyme preparations) จะประกอบด้วย สิ่งมีชีวิตและสารประกอบที่ได้มาจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรม ตัวอย่าง สารตกค้างจากซุปที่ได้จากกระบวนการหมัก (fermentation broth) และ enzyme preparations JECFA ประเมินการเตรียมเอนไซม์เป็นระยะๆซึ่งจะเป็นไปในทางเดียวกับ The General Specifications and Consideration for Enzyme Preparations Used in Food Processing ที่จัดทำโดย FAO ข้อกำหนดล่าสุดได้ระบุในประเด็นการประเมินความปลอดภัยของ enzyme preparations ทั้งหมดซึ่งรวมประเด็นต่างๆ ได้แก่ สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการผลิต (production organism) องค์ประกอบของเอนไซม์ ปฏิกิริยาข้างเคียงกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม และข้อพิจารณาด้านการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหาร นอกจากนี้ให้ประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบของเอนไซม์ว่าสามารถก่อให้เกิดอาการภูมิแพ้ (allergic) ได้หรือไม่ รวมทั้ง enzyme preparations ที่เตรียมจากสิ่งมีชีวิตที่มีการดัดแปรพันธุกรรม (genetically modified microorganisms) มีการให้คำแนะนำสำหรับการประเมินความปลอดภัยของวัสดุทางพันธุกรรมที่ถูกสอดใส่เข้าไปในจีโนมของจุลชีพ และผู้ประกอบการต้องยื่นหลักฐานว่า enzyme preparations มีหรือไม่มีส่วนประกอบของยาปฏิชีวนะหลงเหลือในปริมาณที่ส่งผลให้เกิดการดื้อยา

การพิจารณาเกี่ยวกับคุณภาพหรือมาตรฐานของเอนไซม์ที่นำมาใช้ในอาหารนั้น ต้องมีคุณลักษณะเฉพาะและคุณภาพหรือมาตรฐานที่ผ่านการประเมินความปลอดภัยจากผู้เชี่ยวชาญของ JECFA ซึ่งจะพิจารณาเป็นรายกรณี (case-by-case basis) โดยการได้รับสัมผัสจากอาหารของ enzyme preparations จะประเมินบนพื้นฐานของปริมาณของแข็งอินทรีย์ทั้งหมด (Total Organic Solids, TOS) ในขั้นสุดท้ายของกระบวนการผลิต enzyme preparations โดยแสดงค่าเป็นมิลลิกรัมหรือไมโครกรัม TOS ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ค่า TOS จะรวมทุกส่วนของส่วนประกอบของเอนไซม์ อินทรีย์วัสดุอื่นๆที่เกิดจากเอนไซม์และกระบวนการทางอุตสาหกรรมในขณะที่ไม่รวมส่วนประกอบที่ใช้เป็นวัตถุดิบ (ingredients) ที่ตั้งใจเติมลงในสูตรอาหารนั้นๆ การศึกษาทางพิษวิทยาจะศึกษาโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ที่เข้มข้นสูงก่อนเติมลงในสูตรส่วนประกอบ

ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ การกำหนดพัฒนาให้ได้ค่า NOAEL จะแสดงเป็น µg TOS หรือ mg TOS ต่อน้ำหนักตัว 1 กก.ต่อวัน ซึ่ง JECFA จะกำหนดการได้รับสัมผัสจากการบริโภคของเอนไซม์จากการเตรียมให้สัมพันธ์กับค่า ADI

การประเมินทางพิษวิทยาของเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียม (enzyme preparations ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจะถูกแบ่งเป็น 5 กลุ่มหลักๆดังนี้

1) เอนไซม์ที่เตรียมจากเนื้อเยื่อสัตว์ที่ปกติใช้เป็นอาหารจะพิจารณาว่าเป็นอาหารและพิจารณาว่ายอมรับได้ ทั้งนี้ให้ผู้ผลิตระบุข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสารเคมีและ จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ (chemical and microbiological specifications)

2) เอนไซม์ที่เตรียมจากส่วนที่กินได้ของพืชจะพิจารณาว่าเป็นอาหารและพิจารณาว่ายอมรับได้ ทั้งนี้ให้ผู้ผลิตระบุข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสารเคมีและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้

3) เอนไซม์ที่เตรียมจากจุลินทรีย์ที่ยอมรับให้เป็นส่วนประกอบอาหารมาตั้งแต่ดั้งเดิม (traditional) จะพิจารณาว่าเป็นอาหารและยอมรับได้ ทั้งนี้ให้ผู้ผลิตแสดงข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสารเคมีและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้

4) เอนไซม์ที่เตรียมจากจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non pathogenic microorganisms) ซึ่งปกติถูกพบเป็นสารปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งสารเหล่านี้ไม่พิจารณาเป็นอาหารซึ่งจำเป็นต้องพิสูจน์หรือแสดงคุณภาพมาตรฐานของสารเคมีและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ และจะต้องส่งผลการศึกษาทางพิษวิทยาโดยการทดสอบความเป็นพิษระยะสั้น (short term toxicity) เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าปราศจากพิษ ซึ่งแต่ละสูตรหรือตำรับจะต้องประเมินเป็นกรณีๆไปและค่า ADI จะต้องถูกกำหนดขึ้น

5) เอนไซม์ที่เตรียมจากจุลินทรีย์ที่เป็นที่รู้จักน้อยมาก จำเป็นต้องแสดงข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสารเคมีและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้และมีข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษที่ครอบคลุมมากกว่าซึ่งรวมการศึกษาพิษระยะยาว (long term toxicity) ในสัตว์กัดแทะ (rodents)

การประเมินความปลอดภัยของเอนไซม์ที่จัดอยู่ในข้อที่ 1-3 จะเหมือนกันไม่ว่าเอนไซม์จะใช้เติมโดยตรงในอาหารหรือถูกใช้ในรูปที่ทำให้ไม่สามารถเคลื่อนที่ไปได้ (immobilize) ส่วนเอนไซม์ที่จัดอยู่ในข้อที่ 4 และข้อ 5 ให้พิจารณาแตกต่างจากกลุ่มที่อยู่ในข้ออื่นๆที่กล่าวมาโดยขึ้นกับสิ่งต่างๆดังต่อไปนี้

a) เอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมเติมในอาหารโดยตรงและไม่ได้ถูกกำจัดออกไป: ให้กำหนดค่า ADI เพื่อให้แน่ใจว่าเอนไซม์ที่อยู่ในอาหารมีความปลอดภัย
b) เอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมเติมในอาหารโดยตรงและกำจัดออกไปจากผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามหลักปฏิบัติที่ดีและเหมาะสมทางด้านการผลิต (GMP): อาจกำหนดค่า ADI เป็น “ADI not

specified” ซึ่งจะมีค่า margin of safety ที่กว้างระหว่างสารตกค้างที่อาจหลงเหลือและการบริโภคในปริมาณที่ยอมรับได้ หรือ

c) Immobilized enzyme preparations ที่สัมผัสกับอาหารระหว่างกระบวนการแปรรูป: กรณีนี้อาจไม่จำเป็นในการกำหนดค่า ADI สำหรับสารตกค้างที่สามารถหลงเหลือในอาหารซึ่งเป็นผลมาจากการใช้เอนไซม์ในรูปแบบ immobilize ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าจะต้องทำการศึกษาทางพิษวิทยาของความปลอดภัยของเอนไซม์ในรูปแบบ immobilize preparations ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลปริมาณเอนไซม์ที่มีอยู่ใน enzyme preparation นั้น

สาร Immobilizer (Immobilizing agents)

ในกระบวนการผลิต immobilized enzyme จะใช้ micro-encapsulation (เพื่อให้ถูกหุ้มด้วยเจลาตินเพื่อจับตัวเป็นสารเชิงซ้อน) หรือทำให้หยุดการเคลื่อนย้ายโดยเติม glutaraldehyde โดยตรง หรือห่อหุ้มด้วยตัวพาที่เป็นเซรามิคที่มีรูพรุน (porous ceramic carrier) และสารที่นำมาประกอบรวมกัน เช่น diethylaminoethyl cellulose หรือ polyethylenimine ดังนั้นสารต่างๆดังกล่าวอาจหลงเหลือในผลิตภัณฑ์สุดท้ายเนื่องจากการแตกตัวทางกายภาพในระบบ immobilization หรือ สารไม่บริสุทธิ์ที่อยู่ในระบบ

จำนวนข้อมูลที่จำเป็นที่จะนำมาใช้ในการกำหนดค่าความปลอดภัยของสาร immobilize ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีตามธรรมชาติของสารนั้น ส่วนปริมาณสารตกค้างในผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะต้องทำให้หลงเหลือน้อยที่สุด หากสารบางชนิดที่ถูกนำมาใช้ในระบบ immobilize เป็นสารที่ค่อนข้างเป็นพิษสูงต้องใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีที่เหมะสมในการทำให้ระดับของสารนั้นหรือการปนเปื้อนของสารอยู่ในระดับต่ำสุดในผลิตภัณฑ์สุดท้ายโดยต่ำกว่าค่าความเป็นพิษที่รับได้ กรณีนี้ไม่ต้องกำหนด ADI แต่ต้องปลอดภัยเพียงพอที่จะรับรองให้ใช้ได้

7.2 สารอาหารและสารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมาก (Substances consumed in large amounts)

สารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมากที่จะกล่าวในที่นี้ได้แก่สารทดแทนความหวานที่รวมกันในปริมาณมาก (Bulk sweeteners) เช่น sorbitol และ xylitol และส่วนผสมในอาหารดัดแปร (Modified food ingredients) เช่น แป้งดัดแปร (modified starch) สารอาหารและสารที่เกี่ยวข้องกับสารอาหาร (nutrients and related substances) และอาหารทั้งหมดที่ไม่ใช่อาหารดั้งเดิมในอดีต มีความจำเป็นต้องประเมินความปลอดภัยที่แตกต่างจากวัตถุเจือปนอาหารอื่นๆ เช่น สีผสมอาหาร วัตถุแต่งกลิ่นรส และสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องมาจากเหตุผลดังต่อไปนี้

- สารอาหารและสารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมากส่วนใหญ่มีการบริโภคต่อวันในปริมาณมาก ดังนั้นวัตถุดิบที่นำมาเป็นส่วนผสมรองๆรวมทั้งสารไม่บริสุทธิ์ที่เกิดจากกระบวนการผลิตคาดว่าจะมีปริมาณสูงกว่าปกติ

- ถึงแม้ว่าโครงสร้างของสารเหล่านี้จะคล้ายหรือเหมือนกันกับผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติซึ่งเป็นอาหารอยู่แล้วและมีความเป็นพิษต่ำ แต่ก็ยังจำเป็นต้องทำการทดสอบทางพิษวิทยาให้ครอบคลุม เพราะว่ามีการบริโภคต่อวันในปริมาณสูง
- สารกลุ่มนี้บางชนิดอาจจะถูกเมแทบอไลต์ในสารที่เป็นส่วนประกอบของร่างกาย
- สารบางชนิดโดยเฉพาะอาหารจากแหล่งที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel food) อาจเข้ามาแทนที่อาหารพื้นบ้านดั้งเดิมที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญในอาหาร
- สารหลายชนิดเป็นส่วนผสมที่ซับซ้อนจำนวนมากกว่าสารเคมีที่ได้แจ้งไว้
- ข้อแตกต่างระหว่างปริมาณสูงสุดที่สามารถให้กับสัตว์ทดลองในการทดสอบโดยปราศจากการพร่องด้านคุณค่าโภชนาการกับปริมาณการบริโภคในมนุษย์ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว

ควรมีการวิเคราะห์สารปนเปื้อน เช่น โลหะหนัก และประเมินคุณค่าทางโภชนาการว่าเพียงพอหรือไม่ ต้องมีข้อมูลข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specifications) ที่ระบุกระบวนการในการผลิตซึ่งรวมถึงสารที่นำมาผลิตและขั้นตอนในการผลิต ระบุวิธีวิเคราะห์เพื่อใช้ในการตรวจสอบตามที่ระบุในข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specifications) และคู่มือระบุรายละเอียดวิธีการสุ่มตัวอย่าง (sampling) เพื่อที่ผู้ประเมินจะสามารถบ่งบอกถึงชนิดและลักษณะการปนเปื้อนนั้นๆได้ โดยปริมาณการปนเปื้อนที่ยอมรับได้ไม่เกินค่ามาตรฐานการปนเปื้อนที่ยอมให้มีได้ (limits)

ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specifications) ของวัตถุเจือปนอาหารที่จะต้องนำมาประกอบการขออนุญาตจะต้องประกอบด้วยข้อมูลดังต่อไปนี้

- รายละเอียดของความผันแปรของผลิตภัณฑ์ในการผลิตแต่ละครั้ง
- วิธีการวิเคราะห์ที่จะใช้ในการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะ
- รายละเอียดของแบบแผนในการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์

กรณีที่มีวัตถุเจือปนอาหารหลายชนิดอยู่ในผลิตภัณฑ์เดียวกัน การกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์อย่างครอบคลุมของส่วนประกอบของสารเคมีทั้งหมดเป็นสิ่งที่ปฏิบัติได้ยาก อย่างไรก็ตามผู้ผลิตจะต้องแจ้งข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของสารที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิต ถ้าข้อมูลจากกระบวนการผลิตมาจากการผลิตในระดับต้นแบบ (pilot scale) ผู้ผลิตต้องแสดงข้อมูลว่าเมื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรมจะยังคงรักษาคุณลักษณะเฉพาะของวัตถุเจือปนที่อยู่ในผลิตภัณฑ์นั้นๆ ไว้ได้เช่นเดียวกันกับการผลิตในระดับต้นแบบ

- <u>วัตถุเจือปนอาหารที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ</u> ในกรณีของการนำวัตถุเจือปนอาหารที่เป็นสารธรรมชาติมาใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์โดยที่มีคุณสมบัติและโครงสร้างที่เหมือนกัน ทำให้อาจจะมีการปนเปื้อนสารพิษจากธรรมชาติ เช่น สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) ถ้าหากคุณสมบัติของสารนั้นหรือสารที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิต

บ่งชี้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะเกิดสารต้านโภชนาการ (anti-nutrient) เช่น ไฟเตท, ตัวยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors) และอื่นๆ หรือสารพิษ เช่น haemagglutinins, สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin), นิโคติน เป็นต้น การตรวจวิเคราะห์สิ่งปนเปื้อนเหล่านี้ต้องมีการทดสอบทางชีวภาพ (biological tests) ไม่ว่าจะเป็นการประเมินคุณค่าทางโภชนาการหากสารที่เกิดขึ้นนั้นไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หรือต้องวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่เกิดขึ้น เพื่อเตรียมไว้เป็นหลักฐานหรือข้ออ้างอิงย้อนหลังของการปนเปื้อนดังกล่าวที่อาจมีหรือไม่มีในผลิตภัณฑ์

ในสภาวะที่มีการใช้วัตถุเจือปนอาหารในกระบวนการผลิตอาจมีผลให้เกิดความไม่คงตัวหรืออาจมีปฏิกิริยาต่อกันระหว่างของสารเคมีในวัตถุเจือปนอาหารกับองค์ประกอบของอาหารมีผลให้เกิดการสลายตัวหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง เช่น ในระหว่างกระบวนการผลิตที่ผ่านความร้อน ดังนั้นต้องยื่นข้อมูลหรือผลการทดสอบประกอบการพิจารณา ได้แก่ การศึกษาความคงตัว (stability) และปฏิกิริยาต่อสารอื่น (reactivity) ในสภาวะที่เกิดขึ้นจริงในกระบวนการผลิต เช่น สภาวะความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์อุณหภูมิระหว่างการผลิตและจะต้องมีสารที่มีผลในการทำปฏิกิริยาต่อกันกับสารที่เราประเมินอยู่ด้วย

การศึกษาทางโภชนาการ(Nutritional studies) ของสารกลุ่มที่บริโภคปริมาณมาก

สารบางอย่างมีความจำเป็นในการศึกษาทางโภชนาการ เช่น กรณี อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel food) ว่ามีผลกระทบต่อภาวะโภชนาการของผู้บริโภคหรือไม่อย่างไรเมื่อถูกนำมาใช้เป็นอาหาร ควรศึกษาผลกระทบต่อการดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ในร่างกาย (availability) ด้วย การบริโภคในปริมาณสูงควรจะถูกประมาณการบริโภคโดยเฉพาะในกลุ่มผู้บริโภคบางกลุ่ม ควรมีการตรวจติดตามปริมาณการบริโภคหลังจากผลิตภัณฑ์วางจำหน่ายในท้องตลาด (post-marketing) เพื่อเป็นการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลจากการคาดคะเนล่วงหน้าก่อนวางจำหน่ายในท้องตลาด (pre-marketing)

การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicity studies)

เมื่อต้องการทดสอบความเป็นพิษของวัตถุเจือปนอาหารที่บริโภคปริมาณมาก สัตว์ทดลองจะต้องได้รับสารที่ระดับสูงสุดที่สามารถรับได้ (palatability) และยังมีภาวะโภชนาการคงที่ (consistent) ดังนั้นก่อนเริ่มการศึกษาจำเป็นต้องทดสอบความสามารถรับได้ (palatability) ในอาหารก่อนว่าสัตว์ทดลองกินได้ หากปริมาณที่ให้กินก่อให้เกิดการไม่ยอมรับจะต้องลดปริมาณน้อยลงแล้วค่อยๆเพิ่มระดับการให้เป็นขั้นตอนไป หากวิธีดังกล่าวใช้ไม่ได้จะต้องใช้เทคนิค paired-feeding นั่นคือมีกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบโดยได้รับอาหารในปริมาณเท่ากันกับกลุ่มที่เรากำลังศึกษา

เพื่อให้เกิดความแน่ใจว่าภาวะโภชนาการของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารที่ต้องการทดสอบไม่บิดเบือนหรือเกิดความเข้าใจผิด (distort) จะต้องให้อาหารที่ทดสอบ (test diets) กับอาหาร

ควบคุม (control diets) มีคุณค่าทางโภชนาการทั้งมหภาค (macronutrients) (เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และพลังงาน) และจุลภาค (micronutrients) (เช่น วิตามิน และแร่ธาตุ) เหมือนกัน บางครั้งก่อนทำการศึกษาทางพิษวิทยาอาจต้องศึกษาภาวะโภชนาการก่อนเพื่อให้แน่ใจว่าอาหารที่ทดสอบมีสารอาหารที่สมดุลเพียงพอต่อภาวะโภชนาการของสัตว์ทดลอง หากไม่คำนึงถึงสมดุลทางโภชนาการแล้วการศึกษาที่สัตว์ทดลองต้องได้รับอาหารที่ทดสอบ (test diets) เป็นเวลานานจะมีผลต่ออาการอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นมากกว่าเป็นผลจากความเป็นพิษของสารที่ต้องการทดสอบได้

การศึกษาทางเมแทบอลิกเป็นสิ่งที่เป็นประโยชน์และจำเป็นเพื่อประเมินความปลอดภัยของการบริโภควัตถุเจือปนอาหารปริมาณสูง แต่การศึกษาทางเมแทบอลิกของสารที่เป็นส่วนผสมที่ซับซ้อน (complex mixtures) การจะพิจารณาการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิกของส่วนประกอบแต่ละชนิดจะเป็นไปได้ยากในทางปฏิบัติ แต่อย่างไรก็ตามหากประเมินว่าสารปนเปื้อนหรือส่วนประกอบรองเป็นสาเหตุของการเกิดพิษก็ควรที่จะศึกษาเมแทบอลิซึมของสารนั้นๆด้วย หากวัสดุหรือส่วนประกอบหลักของมันประกอบด้วยสารประกอบเคมีใหม่ชนิดหนึ่งที่ปกติไม่ได้เกิดขึ้นในอาหาร เช่น กรณี คาร์โบไฮเดรตที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel carbohydrate) ควรต้องทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิก (metabolic fate) ของสารชนิดใหม่นั้นด้วย

หากการศึกษาทางชีวเคมีและเมแทบอลิกแสดงว่าสารที่ทดสอบนั้นสามารถสลายตัวได้อย่างสมบูรณ์ในอาหารหรือภายในระบบทางเดินอาหารโดยเปลี่ยนเป็นสารที่อยู่ในสภาพอาหารปกติหรือเป็นส่วนประกอบปกติของร่างกายแล้วก็ไม่จำเป็นที่จะต้องศึกษาทางพิษวิทยาก็ได้

การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุจจาระอาจเป็นข้อมูลสำคัญที่จะบอกได้ว่าสารที่ทดสอบนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบขับถ่ายปกติหรือไม่ ตัวอย่าง จุลชีพในระบบทางเดินอาหาร (gut flora) อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดการสูญเสียเกลือแร่หรือวิตามินซึ่งไปมีผลทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของสัตว์ที่นำมาทดสอบ หากสารนั้นไม่ถูกทำลายหรือสลายไปอย่างสมบูรณ์โดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กจะสามารถตรวจพบปริมาณที่หลงเหลืออยู่ได้ในอุจจาระหรือในลำไส้ส่วนปลาย (distal gut compartment) ซึ่งสารนั้นอาจมีผลกระตุ้นให้เกิดการระบายท้อง (laxative) เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการดูดซึมขององค์ประกอบในอาหารหรือเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบหรือเมแทบอลิกของจุลชีพในระบบลำไส้ (intestinal microflora) ซึ่งสามารถตรวจพบความเปลี่ยนแปลงนี้จากจุลชีพในระบบลำไส้ก็ได้ สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการออกแบบการศึกษาก็คือความแตกต่างทางกายวิภาคศาสตร์ (anatomy) ของระบบย่อยอาหารระหว่างสัตว์กัดแทะและมนุษย์ดังนั้นผลลัพธ์ที่ได้ในสัตว์กัดแทะอาจไม่ได้ให้ผลในทางเดียวกันกับมนุษย์ ดังนั้นการทดสอบระยะสั้น (short-term studies) ควรทำทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ ควรศึกษาด้วยว่ามีตัวแปรใดที่ถูกกระทบโดยสารที่เราต้องการทดสอบ ทั้งนี้เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องรู้ข้อมูลเหล่านี้เพื่อจะได้ทราบว่าผลที่เกิดขึ้นจะเป็นแบบชั่วคราวหรือระยะ

ยาวและเกิดกับผู้ได้รับสัมผัสสารนั้นเป็นครั้งแรกหรือพัฒนาอาการมาจากการบริโภคเป็นประจำต่อเนื่องทุกวัน

ให้แยกการศึกษาทางพิษวิทยาของสารที่เป็นสารไม่บริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนอยู่และสารที่เป็นส่วนประกอบรอง (minor component) ของสารที่เรานำมาใช้ หากทดสอบแล้วพบความเป็นพิษของส่วนประกอบใดส่วนประกอบหนึ่ง ให้กำหนดค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specification)

วัตถุเจือปนอาหารที่บริโภคปริมาณสูงแล้วไม่พบความเป็นพิษเมื่อทดสอบในสัตว์ทดลองตลอดจนไม่พบอาการอันไม่พึงประสงค์ใดๆ สามารถกำหนดขอบเขตความปลอดภัย (margin of safety) ที่กว้างระหว่างค่าขนาดหรือปริมาณสูงสุดของสารกับปริมาณการบริโภคของมนุษย์ที่คาดคะเนสำหรับสารนั้น หรืออาจกำหนดค่า ADI โดยใช้ค่าปัจจัยความปลอดภัย (safety factor) ที่ค่าต่ำได้ เมื่อเรามีความเห็นว่าวัตถุเจือปนอาหารนั้นใกล้เคียงหรือคล้ายกับอาหารดั้งเดิมที่มีการใช้บริโภคมานานแล้ว (traditional foods) สำหรับสารเพิ่มปริมาณ (bulking agent) ที่อาจส่งผลกระทบต่อสมดุลทางโภชนาการ (nutritional balance) หรือสรีรวิทยาของระบบย่อยอาหาร (digestive physiology) โดยการดูดซึมภายในทางเดินอาหาร (gut) อาจไม่สมบูรณ์หรือถูกดูดซึมไม่หมด ดังนั้นจะเป็นการเหมาะสมมากกว่าที่จะพิจารณาขนาดของสารนั้นในรูปของเปอร์เซ็นต์ที่มีอยู่ในอาหารทั้งหมด หากมีสารประกอบหลายชนิดที่มีรูปแบบการบริโภคคล้ายกันสามารถใช้ค่า ADI กลุ่ม (group ADI) ได้

ผลจากการศึกษาที่ทำในมนุษย์ (human studies) อาจอนุญาตให้ใช้ค่าความไม่แน่นอนของข้อมูล (safety factor) ที่ค่าต่ำมากกว่าผลที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง

7.3 สารจากภาชนะบรรจุอาหาร (Substances from food contact materials)

วัสดุที่สัมผัสกับอาหารซึ่งมาจากภาชนะบรรจุมักเป็นโพลิเมอร์ (polymers) ซึ่งปกติจะมีลักษณะทางชีวภาพที่มีความเฉื่อย (inert) ซึ่งเป็นผลจากค่าน้ำหนักโมเลกุลที่สูง แต่อย่างไรก็ดีองค์ประกอบของมันมักเป็นโมโนเมอร์ (monomers) สารเจือปน (additives) สารเร่งปฏิกิริยา (catalysts) และสารอื่นที่ใช้ทางอุตสาหกรรมซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ค่อนข้างต่ำซึ่งตามทฤษฎีแล้วสามารถมีการแพร่กระจายของสารหรือมีการเคลื่อนย้าย (migrate) ของสารจากภาชนะบรรจุภัณฑ์ลงสู่อาหาร ทั้งนี้รวมทั้งหมึกที่ใช้ในการเขียนฉลาก การแพร่กระจายหรือการเคลื่อนย้ายของสารจะเกิดในระหว่างการเก็บรักษาอาหารและเพิ่มมากขึ้นเมื่อนำอาหารมาผ่านกระบวนการประกอบอาหารหรือการปรุงประกอบอาหาร เช่น ให้ความร้อน ประกอบอาหารโดยใช้เตาไมโครเวฟ และรังสีไอออนไนซ์ (ionizing ray) นอกจากนี้ food matrix อาจจะมีผลกระทบต่อระดับของการเคลื่อนย้ายของสาร เช่น กรณีสารที่ละลายได้ดีในไขมันจะสามารถแพร่กระจายเข้าไปยังอาหารที่มีไขมันได้มากในขณะที่สารที่ละลายได้ดีในน้ำจะแพร่กระจายเข้าไปยัง

อาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำได้มากกว่า ดังนั้น JECFA จึงได้กำหนดข้อพิจารณาสำหรับประเมินสารเหล่านี้ว่าจำเป็นต้องพิจารณาประเด็นต่างๆดังต่อไปนี้

- ให้ตรวจพิสูจน์สารเคมีและสถานะทางพิษวิทยาของสารนั้นที่มีการเคลื่อนย้ายเข้าไปปนเปื้อนในอาหาร
- ความเป็นไปได้ในการได้รับสัมผัส รายละเอียดของสารจากการศึกษาเพื่อดูการเคลื่อนย้ายของสารไปสู่อาหารโดยใช้ขั้นตอนการสกัดที่เหมาะสมและทำการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร
- ลักษณะเฉพาะและปริมาณของอาหารที่สัมผัสกับภาชนะบรรจุและการบริโภคอาหารดังกล่าวนั้น

จากข้อกำหนดดังกล่าวทั้งหมดทำให้สามารถประเมินหรือทราบว่าสารที่เคลื่อนย้ายไปในอาหารเป็นสารชนิดใด ปริมาณที่ปนเปื้อนในอาหารเป็นเท่าใด และส่งผลต่อการได้รับสัมผัสในปริมาณเท่าไร ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 USFDA ยอมรับหลักการ “threshold of regulation” สำหรับการเคลื่อนย้ายวัสดุจากบรรจุภัณฑ์อาหาร (food packaging migrant) เข้าไปปนเปื้อนในอาหาร เช่น สารนั้นสามารถได้รับการยกเว้น (exempt) จากกฎหมายของ USFDA ได้หากการได้รับสัมผัสในปริมาณที่ต่ำกว่า 1.5 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน ทั้งนี้สารที่เคลื่อนย้ายเข้าไปนั้นไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็งหรือไม่ได้มีโครงสร้างที่คล้ายกับสารก่อมะเร็ง

รูปแบบ (model) สำหรับการประมาณค่าการได้รับสัมผัสจากสารที่สัมผัสกับอาหารเนื่องมาจากภาชนะบรรจุ

รูปแบบที่มีการใช้เพื่อประเมินสารหรือวัสดุที่ปนเปื้อนกับอาหารจากภาชนะบรรจุที่ใช้ระหว่างประเทศมี 2 รูปแบบคือ

<u>รูปแบบที่ 1</u>: EU model diet เป็นแนวทางที่สหภาพยุโรปใช้เพื่อกำหนดค่าสูงสุดที่ยอมรับให้มีได้ของสารที่ปนเปื้อนมาจากภาชนะบรรจุหรือบรรจุภัณฑ์มาสู่อาหารเรียกค่านี้ว่า “Specific Migration Limit (SML)” โดยค่า SML หาได้จากการประมาณว่าคนน้ำหนัก 60 กิโลกรัมสามารถบริโภคอาหารได้สูงสุด 1 กิโลกรัมต่อวันโดยอาหารนั้นสัมผัสกับพลาสติกที่ขนาดพื้นผิวสัมผัส 600 ตารางเซนติเมตร เป็นค่าที่ได้รับและยอมรับเป็น SML ซึ่งไม่เกินค่า health based guidance value เช่น ค่า TDI (Tolerable Daily Intake) สมมุติฐานที่ว่าการได้รับในแต่ละวันแบบซ้ำๆด้วยวัสดุจากภาชนะบรรจุชนิดเดิมๆเป็นแนวคิดแบบให้ความคุ้มครองหรือปกป้องผู้บริโภคแบบเข้มงวดสูงสุด แต่บางกรณีสมมุติฐานอื่นๆอาจไม่มีความจำเป็น ตัวอย่างกรณีคนคนหนึ่งอาจมีการบริโภคในปริมาณที่มากเกิน 1 กิโลกรัมต่อวันของอาหารที่บรรจุในภาชนะบรรจุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งคนที่ดื่มเครื่องดื่มปริมาณมาก อย่างไรก็ดีมีการกำหนดค่าอัตราส่วน default ของพื้นผิวสัมผัสต่ออาหารที่ 600 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 กิโลกรัม ซึ่งเทียบเท่ากับสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดกว้าง 10 เซนติเมตร (พื้นที่บรรจุทั้งหมดเท่ากับ 6 x100 ตารางเซนติเมตร) สามารถบรรจุอาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งอัตราส่วนนี้ค่อนข้างต่ำกว่าหากเทียบกับอาหารในภาชนะบรรจุขนาดเล็ก เช่น อาหารชนิดเดี่ยว (single portion) อาหารแผ่น (food slices) และอาหารทารก (baby foods)

<u>รูปแบบที่ 2</u>: United States model diet ใช้ประเมินอาหารที่ได้รับการปนเปื้อนจากการสัมผัสวัสดุจากภาชนะบรรจุโดยสมมุติให้การบริโภคอาหารที่บรรจุในภาชนะหรือบรรจุภัณฑ์รวมเครื่องดื่มปริมาณ

3 กิโลกรัมและคิดค่าปัจจัยการบริโภค (consumption factors) ซึ่งเป็นค่าที่นำมาใช้เพื่ออธิบายส่วนปลีกย่อยของอาหารประจำวันที่คาดคะเนว่าจะมีการสัมผัสโดยตรงกับภาชนะบรรจุ เช่น แก้ว พลาสติก กระดาษ เป็นต้น สามารถดูรายละเอียดได้จาก http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/ foodadd.html ระดับของการเคลื่อนย้ายหรือแพร่กระจายสารจะถูกกำหนดตามธรรมชาติของอาหารที่มีแนวโน้มในการได้รับสัมผัสกับสารที่เป็นส่วนประกอบของภาชนะบรรจุ เช่น อาหารที่มีสภาพเป็นน้ำ กรด แอลกอฮอล์ และไขมัน เป็นต้น

7.4 อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (Novel foods) และอาหารมีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses)

มีการพัฒนาการผลิตอาหารจากแหล่งที่ปกติไม่ได้นำมาเป็นอาหารเพื่อการบริโภค (unconventional sources) เช่นผลิตมาจาก mycelia ของราและเซลล์ยีสต์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลไม้นำเข้าและผักที่นำเข้ามาจำหน่ายจากภูมิภาคหนึ่งมายังอีกภูมิภาคหนึ่ง หรืออาหารที่รู้จักกันดีและเป็นอาหารท้องถิ่นของประเทศหรือภูมิภาคหนึ่งที่อาจไม่รู้จักในประเทศหรือภูมิภาคอื่น กลุ่มอาหารดังกล่าวนี้อาจมีการบริโภคโดยตรงหรือมีการดัดแปรทางกายภาพเล็กน้อยเพื่อให้ดูน่าพึงพอใจต่อผู้บริโภค ซึ่งมีผลให้มีการบริโภคในปริมาณสูงได้แม้แต่การบริโภคในทารกและเด็กโดยเฉพาะเมื่อถูกนำมาใช้เป็นโปรตีนเสริมในอาหารที่ขาดโปรตีน คำจำกัดความที่ถูกเสนอใน EHC240 นี้ได้พัฒนามาจาก IPCS 1987 และ Knudsen และคณะในปี ค.ศ. 2005 ดังต่อไปนี้

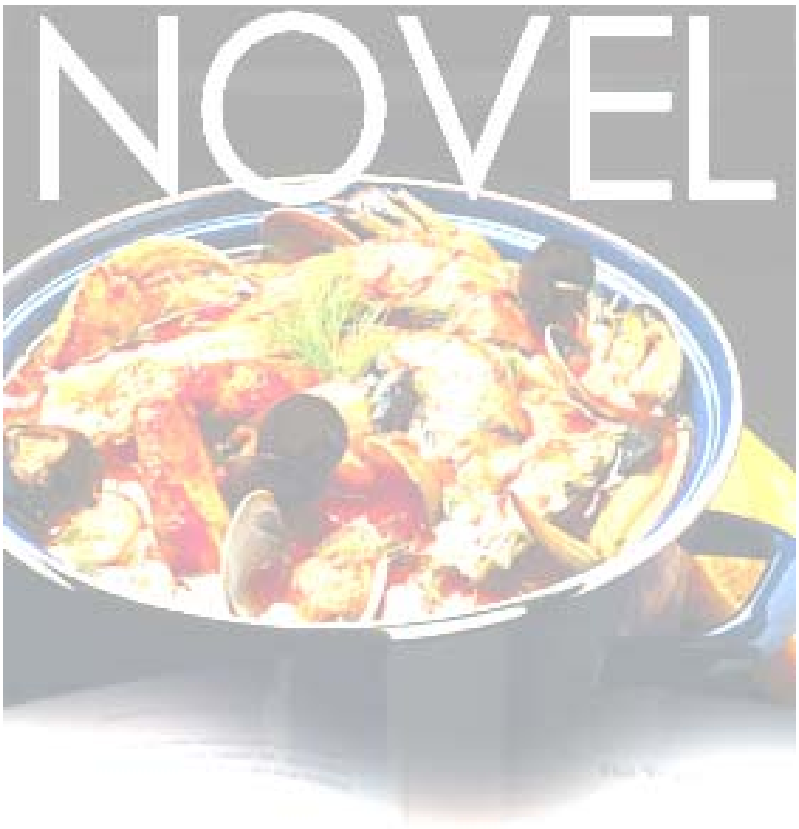
- ***มีประวัติการใช้เป็นอาหารอย่างปลอดภัย (History of safe use for a food):*** มีหลักฐานความปลอดภัยจากประวัติการใช้วัตถุดิบนั้นเป็นอาหารมาแต่ดั้งเดิมในกลุ่มประชากรที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และเชื่อได้ว่าเป็นข้อมูลการใช้หรือบริโภคจริง เช่น เงื่อนไขการใช้ การบอกถึงส่วนของพืชที่นำมาใช้เป็นอาหาร และกระบวนการเตรียมเป็นอาหาร เป็นต้น และมีการอนุญาตให้มีการใช้หรือบริโภคในกลุ่มคนที่มีความไวต่อการเกิดอาการไม่พึงประสงค์หรือภูมิแพ้ หรือไม่
- ***อาหารพื้นบ้าน (Traditional foods):*** อาหารที่มีประวัติการบริโภคมายาวนานโดยกลุ่มคนในชุมชนอย่างกว้างขวางมาหลายรุ่นจนเป็นส่วนหนึ่งของอาหารปกติในท้องถิ่น ในภูมิภาคจนเป็นส่วนหนึ่งของอาหารของชาติพันธุ์
- ***อาหารที่ไม่ใช่อาหารพื้นบ้าน (Non-traditional foods):*** อาหารที่ไม่ได้มีประวัติการบริโภคมาในอดีตโดยกลุ่มคนในชุมชนอย่างกว้างขวางมาหลายรุ่นจนเป็นส่วนหนึ่งของอาหารปกติ
- ***อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (Novel foods):*** อาหารที่ไม่ใช่อาหารพื้นบ้านและไม่มีข้อมูลความรู้ในชุมชนว่ามีความปลอดภัยในการใช้หรือมีการยอมรับด้านความปลอดภัยอันเนื่องมาจากส่วนประกอบ ปริมาณสาร ศักยภาพในการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ การเตรียมหรือประกอบอาหารตามแบบดั้งเดิมและรูปแบบการบริโภค ซึ่งรวมทั้งอาหารและส่วนประกอบในอาหารที่ผลิต

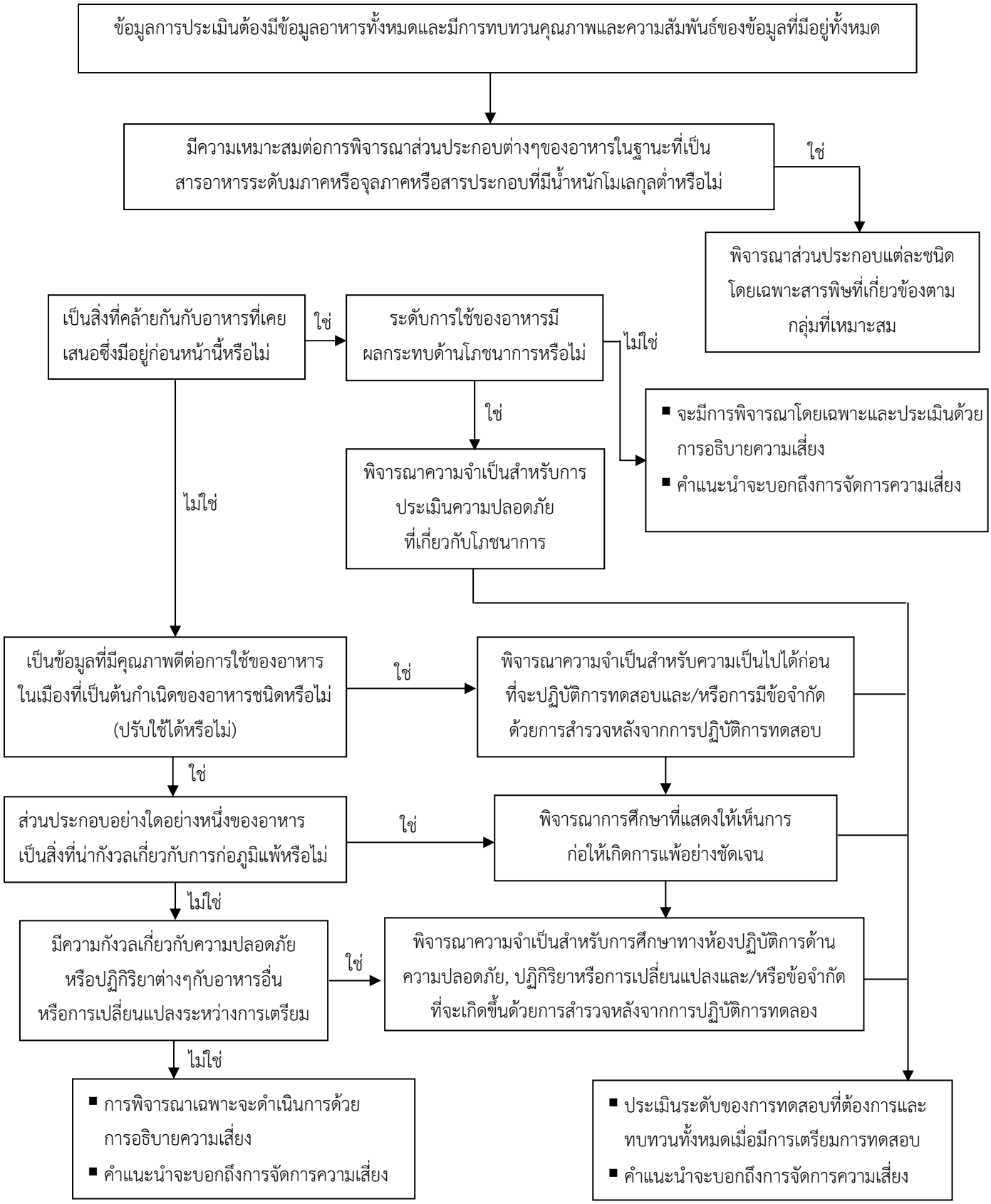
จากวัตถุดิบที่ปกติแล้วไม่ได้เป็นอาหารที่บริโภคในมนุษย์ หรือเป็นอาหารที่ถูกดัดแปรโดยมีการเติมหรือเพิ่มกระบวนการใหม่ๆที่ปกติไม่ได้ใช้ในทางอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร

- ***อาหารมีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses):*** อาหารที่ผ่านกระบวนการพิเศษหรือเตรียมตามสูตรเพื่อสนองความต้องการทางอาหารที่เฉพาะตามสภาวะทางกายภาพและสรีระหรือเฉพาะกับโรคและความผิดปกติของผู้ป่วย ทั้งนี้รวมทารกและเด็กโดยส่วนประกอบของอาหารนี้จะแตกต่างอย่างสิ้นเชิงจากอาหารปกติ

แนวทางการตัดสินเพื่อประเมินอาหารโดยรวมถูกเสนอโดย Renwick และคณะในปี ค.ศ.2003 ดังแสดงใน**รูปที่ 7**

ประเด็นต่างๆที่จะต้องพิจารณาสำหรับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) และอาหารมีวัตถุประสงค์พิเศษ (food for special dietary uses) จะประกอบด้วย ส่วนประกอบที่เป็นสารเคมี (chemical composition) ข้อพิจารณาด้านโภชนาการ (nutritional considerations) การประเมินทางพิษวิทยา (toxicological evaluations) ข้อมูลการใช้ในมนุษย์ (human data) ประวัติการใช้ (history of use) การประเมินการได้รับสัมผัส (exposure assessment) การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) ทั้งนี้ประเด็นดังกล่าวจะได้อธิบายรายละเอียดต่อไป





รูปที่ 7. แผนภูมิการพิจารณาอาหารมีวัตถุประสงค์พิเศษ (Food for special dietary uses) เพื่ออธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) ของอาหารโดยรวม (ปรับปรุงจาก Renwick et al., 2003)

7.4.1 ส่วนประกอบของสารเคมี (chemical composition)

การอธิบายส่วนประกอบของสารเคมีทั้งหมดในอาหารอาจทำได้ยาก ดังนั้นสิ่งที่จำเป็นต้องแสดงคือข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะ (specifications) โดยกำหนดให้ระดับสารปนเปื้อนหรือสารที่ก่อให้เกิดอันตราย เช่น สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins) และ โลหะหนัก (heavy metals) มีปริมาณต่ำสุด ให้ทำการประเมินทางพิษวิทยาที่ต้องสัมพันธ์กับสารที่ต้องการตรวจสอบหากสารชนิดเดียวกันนำมาผ่านกระบวนการต่างกันการประเมินทางพิษวิทยาให้ทำในรูปของผลิตภัณฑ์ที่มีการผ่านกระบวนการที่ต่างกันนั้นด้วย

7.4.2 ข้อพิจารณาด้านโภชนาการ (nutritional considerations)

เมื่ออาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) ถูกนำมาแทนที่อาหารพื้นบ้าน (traditional foods) ในปริมาณที่มากจนกระทบต่อภาวะโภชนาการของผู้บริโภคจำเป็นต้องมีการพิจารณาเป็นพิเศษว่ากระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับอาหารปกติหรือไม่ และจะต้องคำนึงถึงเป็นพิเศษเมื่อมีการบริโภคในกลุ่มเด็ก นักเรียน ผู้สูงอายุ และผู้ป่วยในโรงพยาบาล หากเป็นไปได้ เพื่อไม่ให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์จากการได้รับสารอาหารไม่เพียงพออาจจำเป็นต้องเติม วิตามิน เกลือแร่ และสารอาหารอื่นๆ ให้เพียงพอลงไปด้วย การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) ให้ประเมินองค์ประกอบทางเคมี (chemical composition) ของทั้ง macronutrients และ micronutrients โดยให้ชดเชยการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการจากการปรุงประกอบและการเก็บรักษาด้วย ปัจจัยอื่นที่กระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการที่ควรคำนึงถึงด้วยคือสารต้านโภชนาการ (antinutritional factors) เช่น สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หรือยับยั้งเมแทบอลิซึมของเกลือแร่ต่างๆ

7.4.3 การประเมินทางพิษวิทยา (toxicological evaluations)

การทดสอบในสัตว์ทดลองจะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมจากการศึกษาทางองค์ประกอบทางเคมีของสารนั้น หากอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) นั้น ตั้งใจนำมาใช้เพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนจำเป็นต้องทดสอบคุณภาพของโปรตีน จะต้องทำการศึกษาในร่างกายสิ่งมีชีวิตหรือทดสอบในสัตว์ (*in vivo*) เพื่อประเมินสิ่งต่างๆคือ 1) ความสามารถในการนำวิตามินและแร่ธาตุต่างๆไปใช้ในร่างกายเมื่อได้รับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) เปรียบเทียบกับอาหารแบบเดิมที่มันถูกนำไปใช้ทดแทน 2) ปฏิกิริยาใดๆก็ตามของอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) ที่มีต่อองค์ประกอบอื่นในอาหารที่อาจส่งผลในการลดคุณค่าทางโภชนาการของอาหารโดยรวม หากอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) นี้ถูกคาดหวังว่าเป็นองค์ประกอบหรือมีบทบาทสำคัญในอาหารที่พัฒนาขึ้นมานั้นอาจจำเป็นต้องทบทวนผลการศึกษาในสัตว์ทดลองว่าสามารถนำไปใช้ผลอธิบายในมนุษย์ได้หรือไม่โดยทำการประเมินความสามารถในการนำสารอาหารไปใช้ในร่างกายมนุษย์โดยทำการศึกษาในมนุษย์ด้วย ทั้งนี้ให้นำหลักปฏิบัติตามที่กล่าวแล้วใน *“การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicity studies)”* ในหัวข้อ 7.2 มาพิจารณาร่วมด้วย

7.4.4 ข้อมูลการใช้ในมนุษย์ (human data)

หลักการทั่วไปของการศึกษาในมนุษย์ได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 3 หัวข้อ 3.11 เรื่องหลักการทั่วไปของการศึกษาในมนุษย์ (General principles of studies in humans) สำหรับการศึกษาในมนุษย์สำหรับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) จะต้องมีรูปแบบการวิจัยที่แล้วแต่กรณี (case by case basis) ก่อนทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์จะต้องมีข้อมูลความปลอดภัยของอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) นั้นๆมาก่อนโดยอาศัยข้อมูลที่มีอยู่เช่น มีประวัติการใช้เป็นอาหารมาแต่ดั้งเดิม ข้อมูลสารไม่บริสุทธิ์ได้แก่สารเคมีและจุลชีพ ส่วนประกอบและพิษวิทยา เป็นต้น และเมื่ออาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) นั้นวางจำหน่ายสู่ท้องตลาดแล้วจะต้องทำการศึกษาเพื่อเฝ้าระวังสินค้าหลังจำหน่ายสู่ผู้บริโภค (post-marketing surveillance studies) เพื่อความมั่นใจในรูปแบบการใช้และระดับการได้รับสัมผัส อาจมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาการก่อภูมิแพ้ (allergenicity studies) ของอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่นั้นด้วย ซึ่งเป็นผลจากองค์ประกอบของมัน (ที่มีโปรตีนสูง) หรือเป็นเพราะว่าผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองหรือมนุษย์ที่ได้รับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ที่ทดสอบนั้นมีผลชักนำให้เกิดภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ในบางคนได้ ข้อมูลสำคัญที่สามารถนำมาประกอบเพิ่มเติมได้คือ การเฝ้าระวังสุขภาพของคนงาน เช่นพนักงานในห้องปฏิบัติการและลูกจ้างในโรงงานที่มีการสัมผัสกับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) เป็นประจำ การประเมินความปลอดภัยไม่จำเป็นต้องได้ผลว่าปราศจากความเสี่ยงต่อภาวะภูมิแพ้โดยสิ้นเชิงเพียงแต่วัตถุประสงค์ของการศึกษาในมนุษย์ควรจะศึกษาเพื่อให้แน่ใจว่าอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) มีความปลอดภัยเทียบเท่ากับอาหารดั้งเดิมที่มันถูกนำมาทดแทน

7.4.5 ประวัติการใช้ (history of use)

ประสบการณ์ของมนุษย์อาจไม่ใช่ข้อมูลการศึกษาเชิงวิทยาศาสตร์ แต่เป็นส่วนหนึ่งของการรวบรวมข้อมูลการใช้ในอดีต ซึ่งการบริโภคอาหารเหล่านั้นในภูมิภาคหนึ่งอาจแตกต่างจากการบริโภคอาหารของอีกภูมิภาคหนึ่ง การบริโภคในท้องถิ่นกลายเป็นอาหารที่ปกติธรรมดาและบริโภคกันต่อๆ มาในรุ่นลูกรุ่นหลานในท้องถิ่นของตนเองสืบทอดมา เราสามารถใช้ข้อมูลประวัติการใช้ในอดีตมาเพื่อรู้วิธีการเตรียม วิธีการและปริมาณในการรับประทาน และมีการกล่าวอ้างสรรพคุณใดๆ หรือไม่ ข้อมูลต่างๆ เหล่านี้บางครั้งก็ทำให้เกิดเป็นประวัติการใช้และบ่อยครั้งที่ไม่มีหลักฐานทางวิชาการระบุไว้ อย่างไรก็ตามหากไม่มีการตรวจวัดภาวะสุขภาพเมื่อมีการบริโภคอาหารดังกล่าวมาในอดีตจะไม่ถือว่าอาหารนั้นมีประวัติการใช้ที่ปลอดภัย (history of safe use)

ข้อมูลดังต่อไปนี้สามารถนำมาใช้ในการพิจารณาเพื่อประเมินประวัติการใช้ (history of use) ซึ่งปรับปรุงมาจาก Health Canada 2006

- ประวัติการใช้อย่างต่อเนื่อง ความถี่ในการบริโภคโดยการสุ่มตัวอย่างบางส่วนที่เป็นตัวแทนของประชากรตัวอย่างทั้งหมดของประชากรที่มีการใช้สืบทอดมานานหลายรุ่นหลักฐานต่างๆเหล่านี้อาจมาจากหลายแหล่ง เช่น สิ่งพิมพ์ทางวิชาการและสิทธิบัตร สิ่งพิมพ์หรือหนังสือที่ไม่เป็นเชิงวิชาการ ตำราอาหาร หนังสือเกี่ยวกับเรื่องราวประวัติวัฒนธรรมทางอาหารหรือเอกสาร (affidavits) จากหน่วยงานที่ไม่ขึ้นต่อกันมากกว่าสองหน่วยโดยระบุความเห็นของผู้เชี่ยวชาญที่

น่าเชื่อถือหรือเจ้าหน้าที่ผู้มีอำนาจที่ว่าอาหารนั้นได้นำมาใช้หรือแสดงให้เห็นว่ามีประวัติการใช้ข้อมูล การจำกัดการใช้หรือการใช้ในระยะสั้นไม่เพียงพอที่แสดงว่ามีประวัติการใช้ที่ปลอดภัย

- การแสดง (declaration) ของอาการอันไม่พึงประสงค์ (adverse effects) ใดๆที่อาจเกิดขึ้นได้ที่สัมพันธ์กับอาหารนั้นที่มีการบันทึกไว้ในประเทศที่เป็นแหล่งหรือจุดตั้งต้นของการบริโภคอาหารนั้นในปริมาณสูง
- คำอธิบายของวิธีการเตรียมที่เป็นมาตรฐานในเชิงพาณิชย์หรือกระบวนการเตรียมสำหรับบริโภคในท้องถิ่นการบริโภค
- คำอธิบายถึงวิธีการเพาะปลูก หรือการเก็บเกี่ยวหากพืชนั้นมาจากแหล่งธรรมชาติที่มันเจริญขึ้นเอง
- ปริมาณอาหารที่ประชากรบริโภค รวมทั้งขนาดการบริโภคปกติ (typical serving sizes) และความถี่ของการบริโภคตามที่คาดคะเนไว้ทั้งระดับเฉลี่ยของการบริโภค (average consumption level) และปริมาณระดับการบริโภคที่สูง (high consumption level)
- วิธีเลือกตัวอย่างสำหรับนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบควรเป็นการสุ่มตัวอย่างตามหลักการทางสถิติในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ทั้งนี้ให้รวมวิธีวิเคราะห์แบบ proximate วิเคราะห์ชนิดและรูปแบบของกรดอะมิโน (amino acid profile) รูปแบบของกรดไขมัน (fatty acid profile) องค์ประกอบของแร่ธาตุและวิตามิน สารอาหาร (nutrients) สารต้านโภชนาการ (antinutrients) หรือสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ (bioactive phytochemicals) ในผลิตภัณฑ์ที่เราสนใจ ทั้งนี้ควรให้ความสนใจเป็นพิเศษกับผลที่อาจกระทบต่อสุขภาพของคนบางกลุ่ม เช่น สารพิษที่อาจเกิดขึ้นหรือสารก่อภูมิแพ้ หรือสารอาหารที่มีปริมาณสูงเกินปกติในอาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการแล้วและอยู่ในรูปแบบที่พร้อมบริโภค
- เมแทบอลิซึมหรือผลต่อระบบกระเพาะอาหารและลำไส้ของมนุษย์

7.4.6 การประเมินการได้รับสัมผัส (exposure assessment)

สำหรับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) การได้รับสัมผัสจะถูกประมาณจากวัตถุประสงค์การนำมาใช้ การทำนายในเชิงพาณิชย์ให้ได้ปริมาณการบริโภคที่ถูกต้องทำได้ยาก อย่างไรก็ดีสามารถทำการติดตามเฝ้าระวังหลังการวางตลาดเพื่อหาปริมาณการบริโภคเป็นสิ่งจำเป็นเพื่ออธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) ให้เหมาะสมกับการได้รับสัมผัส ข้อมูลการนำอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) มาบริโภคหรือเติมลงในอาหารเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อประเมินการใช้ว่าปลอดภัยหรือเสี่ยง สำหรับผลไม้และผักนำเข้าจากต่างประเทศนั้น ข้อมูลประสบการณ์ในท้องถิ่นที่นำมาใช้จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ นอกจากนี้รูปแบบการบริโภค (consumption patterns) เป็นข้อมูลที่ใช้พิจารณาวัตถุประสงค์ของการใช้ในท้องถิ่นนั้นๆด้วย เช่นเป็นวัฒนธรรมการบริโภคเฉพาะเทศกาลหรือข้อห้ามที่เฉพาะเจาะจงในการบริโภคร่วมกับสารอีกชนิดหนึ่งที่อาจก่อให้เกิดปัญหาหากบริโภคในปริมาณที่มากกว่ากำหนดหรือในส่วนผสมที่แตกต่างไปจากที่กำหนด

การประเมินการได้รับสัมผัสควรพิจารณาถึงวิธีการเตรียมและการปรุงประกอบอาหารที่มาจากพืชที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) ด้วยว่าบางครั้งพืชชนิดนั้น แต่ดั้งเดิมบริโภคดิบ บางชนิดนำมาบด

เป็นผงคล้ายแป้งแล้วนำไปผ่านกระบวนการอบ (baking processes) บางชนิดนำมาปอกเปลือกแล้วจึงนำมาประกอบอาหาร บางชนิดนำมาสกัด (extract) แล้วให้ทำปฏิกิริยากับกรดหรือด่าง บางชนิดนำมาทำให้แห้งและนำมาผัดหรือทอด ทั้งนี้กระบวนการดังกล่าวมาทั้งหมดมีผลกระทบต่อปริมาณและความสามารถในการย่อยของสารพิษที่มีอยู่เป็นปกติ มีผลต่อสารอาหารทั้ง macronutrients และ micronutrients ของอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) แต่ละชนิด ซึ่งมีผลต่อการอธิบายลักษณะความเป็นอันตราย (hazard characterization) ที่ให้ผลแตกต่างกันไป

7.4.7 การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization)

สำหรับอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel foods) การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) จะใช้การกำหนดขอบเขตของการได้รับสัมผัส (the margin of exposure) หรือ MOE ซึ่งคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{MOE} = \frac{\text{ปริมาณการบริโภคในระดับที่ปลอดภัย (estimated daily safe intake)}}{\text{การได้รับสัมผัสประจำวันของมนุษย์ (human daily exposure)}}$$

ค่า MOE ที่ได้สามารถนำมาใช้โดยผู้จัดการความเสี่ยง (risk manager) เพื่อเป็นแนวทางในการตัดสินใจในการนำพืชอาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ (novel plant food) มาใช้เป็นแหล่งอาหารทั่วไป และถ้าหากมีความเหมาะสมในการนำมาใช้กับอาหารได้ผู้จัดการความเสี่ยงจะได้นำข้อมูลมาใช้แนะนำผู้บริโภคในการใช้เป็นทางเลือกของการบริโภคอาหารที่เหมาะสมตามความคาดหวังหรือความต้องการเฉพาะรายบุคคล

ภาคผนวก

คำแปลและความหมาย

A

Active metabolites	สารเมแทบอไลต์ที่ว่องไว/สารที่เปลี่ยนแปลงสภาพ
Active transporter	ตัวขนส่งที่ว่องไว
Active chemical entity	เอกลักษณ์สารเคมีที่มีความไว
Adverse effect	อาการไม่พึงประสงค์
Affinity	สัมพรรคภาพ คือ ภาวะที่จับตัวกันอย่างเหมาะสม
Allergen	สารก่อภูมิแพ้
Alternative test	การทดสอบทางเลือก
Anaphylaxis	เป็นปฏิกิริยาทางภูมิแพ้ที่รุนแรงที่เกิดขึ้นเฉียบพลันและอาจทำให้เสียชีวิตได้
Aneuploidy	การเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซม ไม่เท่าจำนวนของโครโมโซมเดิม
Antibiotics	ยาปฏิชีวนะ
Autoimmune disease	โรคภูมิแพ้ตนเอง
Autolysis	การทำลายเซลล์

B

Bacterial microflora	แบคทีเรียประจำถิ่น
Bioavailability	ชีวปริมาณการออกฤทธิ์
Biodisposition	กระบวนการจัดการกับสารพิษทางชีวภาพ
Biological activity	การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
Blood–brain barrier	สิ่งขัดขว้างหรือทำนบกั้นไม่ให้สารเคมีหรือเชื้อโรคบางชนิดเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง
Bulking agent	สารเพิ่มปริมาณ

C

Caecum	ลำไส้ส่วนต้น
Caecal contents	สิ่งที่อยู่ในลำไส้ส่วนต้น
Carrier protein	โปรตีนตัวพา
Case-series	การรายงานผู้ป่วยมากกว่าหนึ่งราย

C

Chemical mixture	สารเคมีผสม
Chemical-specific analyses	การวิเคราะห์สารเคมีที่จำเพาะ
Circulation	ระบบไหลเวียนโลหิต
Clastogenicity	การแตกหักของโครโมโซม
Clinical chemistry	การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือดหรือปัสสาวะในร่างกาย
Conjugation	กระบวนการสังยุค
Consistency	ความสอดคล้องหรือไม่เปลี่ยนแปลง
Coprophagy	พฤติกรรมการกินอุจจาระตัวเอง
Corrosivity	สารกัดกร่อน
Corpuscular haemoglobin	ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง
Cytogenetic assays	การทดสอบที่ใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูผล

D

Dietary exposure	การได้รับสัมผัสจากการบริโภค
Disposition	กระบวนการจัดการกับสารพิษของร่างกาย
Drug-metabolizing	เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยา

E

Emulsifiers	สารที่ทำให้เกิดอิมัลชัน
Enterohepatic circulation	วงจรหมุนเวียนน้ำดีระหว่างลำไส้เล็กกับตับ
Epithelium	เนื้อเยื่อบุผิว
Excretion	การขับออก หมายถึง กระบวนการที่กำจัดสารหรือเมแทบอไลต์ของสารนั้นจากระบบไหลเวียนโลหิต (general circulation) ของร่างกายไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเสียจากร่างกาย เช่น ปัสสาวะ อุจจาระ และอากาศที่ออกจากร่างกาย
Exposure assessment	การประเมินการได้รับสัมผัส เป็นการประเมินในเชิงคุณภาพหรือในเชิงปริมาณถึงความเป็นไปได้ที่ผู้บริโภคหนึ่งคน หรือประชากรหนึ่งกลุ่มจะได้รับสารพิษ หรือจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคผ่านทางอาหารเข้าสู่ร่างกาย รวมทั้งปริมาณที่ได้รับ
Extraction solvents	ตัวทำละลายเพื่อใช้ในการสกัด
Evidence of mode of action	หลักฐานของกลไกการออกฤทธิ์
Extent of distribution	ปริมาณของการกระจายตัว

F

Fate	เส้นทาง
Fertility	การปฏิสนธิ
Flavouring substances	วัตถุ(สาร)แต่งกลิ่นรส
Flow cytometry	วิธีวัดคุณสมบัติของเซลล์ซึ่งอยู่ในสารละลายที่ไหลอยู่โดยใช้เลเซอร์
Food allergy	การแพ้อาหาร
Food hypersensitivities	ภาวะภูมิไวเกินต่ออาหาร
Food packaging	บรรจุภัณฑ์อาหารหรือภาชนะบรรจุอาหาร
Foreign organic molecules	โมเลกุลอินทรีย์แปลกปลอม

G

Genetically modified	ดัดแปลงพันธุกรรม
Genotoxicity testing	การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม
Gastric emptying	ภาวะกระเพาะอาหารว่าง คือ การที่กระเพาะอาหารจะส่งอาหารและน้ำย่อยที่คลุกเคล้ากันเป็น chyme ออกจากกระเพาะอาหารไปสู่ duodenum ได้หมด จนกระเพาะอาหารอยู่ในสภาวะว่าง (empty)
Gastrointestinal wall	ผนังระบบทางเดินอาหาร
Gavage	ป้อน
Genotoxicity testing	การทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม
Germ cell	เซลล์สืบพันธุ์
Good Laboratory Practice	ข้อปฏิบัติที่ดีในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ
Good Manufacturer Practice	ข้อปฏิบัติที่ดีในการผลิต/หลักปฏิบัติที่ดี/หลักปฏิบัติที่ดีและเหมาะสมทางด้านการผลิต

G

Gut	ทางเดินอาหาร
Gut flora	จุลชีพในระบบทางเดินอาหาร

H

Hazard characterization	การอธิบายลักษณะของอันตราย เป็นการบอกหรือแสดงข้อมูลว่าอันตรายจากสารพิษ หรือจุลินทรีย์ก่อโรคนั้นๆ ร่างกายเราต้องได้รับในปริมาณใดและได้รับในความถี่เท่าไหร่ จึงก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ และมีผลเสียอย่างไร

H

Histological examination	การตรวจสอบทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ
Histopathology	จุลพยาธิวิทยา คือการศึกษาเนื้อเยื่อที่เกิดโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์
Host animal	สัตว์ทดลองที่จุลินทรีย์อาศัยอยู่/ สัตว์ที่เป็นพาหะ
Host microflora	จุลินทรีย์ประจำถิ่น
Hyperplasia	การเจริญเกิน หมายถึง การเพิ่มจำนวนของเซลล์ภายในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อ
Hypersensitivity	ภาวะภูมิไวเกิน

I

Infant formula	นมผงสำหรับทารก
Intermediary metabolism	การเปลี่ยนแปลงตัวกลาง
Initiator	สารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง
In vitro	การศึกษานอกสัตว์ทดลอง/ การทดสอบนอกกาย
In vivo	การศึกษาในร่างกายสิ่งมีชีวิต/ การทดสอบในสัตว์
Intragastric	การให้ผ่านกระเพาะอาหารโดยตรง
Intolerance	อาการไม่พึงประสงค์

L

Life span	อายุขัย
Lower bowel	ระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง
Lymphoid tissues	เนื้อเยื้อน้ำเหลือง

M

Margin of safety	ขอบเขตความปลอดภัย
Metabolism	เมแทบอลิซึม คือ ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่รวมการสลายตัวของสารอาหาร และการสังเคราะห์สารประกอบต่างๆในร่างกาย หรือเป็นกระบวนการซึ่งสารที่ได้รับเข้าไปถูกเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นโมเลกุลที่ถูกกำจัดออกจากร่างกาย
Micellar	หยดไขมันขนาดเล็ก
Microbial	จุลินทรีย์
Mode or mechanism of action	รูปแบบหรือกลไกการออกฤทธิ์

M

Morphological	การศึกษาเกี่ยวกับ รูปร่าง ลักษณะและโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต ทั้งภายในและภายนอก
Morphology	สัณฐานวิทยา
Mortality	อัตราการตาย
Motor	ระบบประสาทสั่งการ
Mating	การจับคู่เพื่อผสมพันธุ์

N

Neurobehavioral development	การเกิดความผิดปกติของพัฒนาการพฤติกรรมทางระบบประสาท
Neurotoxicity	ความเป็นพิษต่อระบบประสาท
Neuroanatomy	ประสาทกายวิภาคศาสตร์
Non-linear kinetic	จลนศาสตร์ที่ไม่เป็นเส้นตรง
Normal intermediary metabolism	การเปลี่ยนแปลงตัวกลางปกติ
Novel food	อาหารที่ใช้เทคโนโลยีแบบใหม่ อาหารนวัตกรรม อาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่ผลิตจากวัตถุดิบที่ปกติไม่ใช้ในการบริโภคในมนุษย์ หรือคืออาหารที่มีการถูกดัดแปรโดยกระบวนการผลิตแบบใหม่ที่ไม่เคยถูกใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมาก่อน

P

Parent substance	สารตั้งต้น
Parturition	การคลอดลูก
Passive diffusion	การซึมผ่านแบบไม่ใช่พลังงาน
Perfusion rate	อัตราการเข้าไป
Pesticide	สารกำจัดศัตรูพืช
Pharmacokinetic	เภสัชจลนศาสตร์
Phototoxicity	ความเป็นพิษที่เกิดจากแสงแดด
Physical agent	สารที่มีคุณสมบัติเกี่ยวกับทางกายภาพ
Pilot scale	ระดับต้นแบบ
Platelet count	การนับจำนวนเกร็ดเลือด
Processing aids	สารช่วยในกระบวนการผลิต
Promotion	การส่งเสริมกระบวนการเกิดมะเร็ง
Purity	ความบริสุทธิ์

R

Radiolabel	สารกัมมันตรังสีที่ติดฉลากกัมมันตรังสี
Rate of distribution	อัตราของกระบวนการของการกระจายตัว
Reactivity	ปฏิกิริยาต่อสารอื่น
Renal tube	ท่อไต
Reproducibility	ทำซ้ำ/ ทำใหม่/ สืบพันธุ์
Reticulocyte	เม็ดเลือดแดงตัวอ่อน
Risk assessment	การประเมินความเสี่ยง
Risk analysis	การวิเคราะห์ความเสี่ยง
Risk characterization	การอธิบายลักษณะความเสี่ยง เป็นการรวมเอาข้อมูล และผลการวิเคราะห์จากทั้ง 3 ขั้นตอน มาใช้คำนวณความเสี่ยง เพื่อสรุปถึงความน่าจะเป็นที่จะเกิดอันตรายและความรุนแรงของอันตรายที่เกิดจากการได้รับสารพิษ และเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มประชากรที่ศึกษา
Risk communication	การสื่อสารความเสี่ยง
Risk management	การจัดการความเสี่ยง
Risk manager	ผู้จัดการความเสี่ยง

S

Safety factor หรือ uncertainty factor	ความไม่แน่นอนของข้อมูล
Single-cell	เซลล์เดียว
Somatic cell	เซลล์ร่างกาย
Specification	ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะหรือคุณภาพมาตรฐาน
Stabilizer	สารที่ทำให้คงตัว
Strict anaerobes	แบคทีเรียที่เจริญได้ในภาวะที่ไม่มีอากาศหรือไม่มีออกซิเจนเท่านั้น

T

Toxicokinetic	พิษจลนศาสตร์เป็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารเข้าสู่ร่างกาย
Toxicodynamic	พิษพลศาสตร์
Tumor	เนื้องอก

U

Uptake	การดูดซึมและนำเข้าเนื้อเยื่อ

V

Veterinary drugs	ยาสัตว์

คำย่อ

ADIs	Acceptable Daily Intake
ADME	Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
CAC	the Codex Alimentarius Commission
CHO	Chinese Hamster Ovary
CSAF	Chemical-Specific Adjustment Factor
ECETOC	the European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
EHC	Environmental Health Criteria
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GM	Genetically Modified
IPCS	International Programme on Chemical Safety
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NOEL	No Observed Effect Level
NTP	the National Toxicology Program
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
SCE	Sister Chromatid Exchange
SGPT	Serum Glutamate–Pyruvate Transaminase
SGOT	Serum Glutamate–Oxaloacetate Transaminase
SML	Specific Migration Limit
TDIs	tolerable daily intake
TEF	the toxic equivalency factor
USEPA	the United States of environmental protection agency
USNCI	the United States National Cancer Institute
WHO	World Health Organization

บรรณานุกรม

Ames BN, Durston WE, Yamasaki E & Lee FD (1973). Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc Natl Acad Sci USA, 70: 2281–2285.

Cooper JA, Saracci R & Cole P (1979). Describing the validity of carcinogen screening tests. Br J Cancer, 39: 87–89.

Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R & Van Der Kraak G eds (2002). Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, 180 pp (WHO/IPCS/EDC/02.2; http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_ disruptors/en/).

EC (1996). Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation EC/1488/94 on risk assessment for existing substances. Luxembourg, European Commission.

EC (1999). Report of the Working Group on Endocrine Disrupters of the Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, Directorate-General for Consumer Policy and Consumer Health Protection. Brussels, European Commission.

ECETOC (1992). Evaluation of the neurotoxic potential of chemicals. Brussels, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (Monograph No. 18).

FAO (1978). Guide to specifications: general notices, general methods, identification tests, test solutions, and other reference materials. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (FAO Food and Nutrition Paper, No. 5).

FAO (1983). Guide to specifications: general notices, general methods, identification tests, test solutions, and other reference materials. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (FAO Food and Nutrition Paper, No. 5, Rev. 1).

FAO (1991). Guide to specifications: general notices, general methods, identification tests, test solutions, and other reference materials. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (FAO Food and Nutrition Paper, No. 5, Rev. 2).

FAO/WHO (1971). Evaluation of food additives: specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some extraction solvents and certain other substances; and a review of the technological efficacy of some antimicrobial agents. Fourteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations; Geneva, World Health Organization (FAO NutritionMeetings Report Series, No. 48; WHO Technical Report Series, No. 462; http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_ TRS_462.pdf).

FAO (2005/2006). Combined compendium of food additive specifications. Vols. 1–4. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOJECFA Monographs, No. 1).

FAO/WHO (2008). Codex Alimentarius Commission procedural manual, 18th ed. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Codex Alimentarius Commission (ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_18e.pdf).

Health Canada (2006). Guidelines for the safety assessment of novel foods. Ottawa,Ontario, Health Canada, Health Protection Branch, Food Directorate (http://www.hcsc.gc.ca/fn-an/legislation/guide-ld/nf-an/guidelines-lignesdirectrices _e.html).

Holden HE (1982). Comparison of somatic and germ cell models for cytogenetic screening. J Appl Toxicol, 2: 196–200.

ICME (1994). A guide to neurotoxicity: international regulation and testing strategies. Ottawa, Ontario, International Council on Metals and the Environment.

IPCS (1986a). Principles of toxicokinetic studies. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria, No. 57; http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc57.htm).

IPCS (1986b). Principles and methods for the assessment of neurotoxicity associated with exposure to chemicals. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria, No. 60; http://www.inchem. org/documents/ehc/ehc/ehc060.htm).

IPCS (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria, No. 70; http://www.inchem.org/ documents/ehc/ ehc/ehc70.htm).

IPCS (2001a). Neurotoxicity risk assessment for human health: principles and approaches. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria, No. 223; http://www.inchem.org/ documents/ehc/ ehc/ehc223.htm).

Knudsen I, Søborg I, Eriksen F, Pilegaard K & Pedersen P (2005). Risk assessment and risk management of novel plant foods. Concepts and principles. Copenhagen, Nordic Council of Ministers (Report TemaNord 2005:588; http://www.norden.org/en/ publications/publications/2005-588/at_download/publicationfile).

Kitchin KT (1999). Carcinogenicity: testing, predicting, and interpreting chemical effects. New York, NY, Marcel Dekker.

Ladefoged O, Lam HR, Ostergaard G & Nielsen E (1995). Neurotoxicology: review of definitions, methodology and criteria. Copenhagen, National Food Agency of Denmark and Danish Environmental Protection Agency (Miljoproject nr. 282).

OECD (1981a). Carcinogenicity studies. OECD Guidelines for Testing of Chemicals: Test Guideline No. 451. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development (http://masetto.sourceoecd.org/vl=1992568/cl=12/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n4/s36/p1).

OECD (1995b). Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances following acute exposure. OECD Guidelines for Testing of Chemicals: Test Guideline No. 418. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development (http://masetto. sourceoecd.org/vl=1992568/cl=12/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n4/s19/p1).

OECD (1997). Neurotoxicity study in rodents. OECD Guidelines for Testing of Chemicals: Test Guideline No. 424. Paris, Organisation for Economic Cooperation and Development (http://masetto.sourceoecd.org/vl=1992568/cl=12/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n4/s25/p1).

OECD (2007). Developmental neurotoxicity study. OECD Guidelines for Testing of Chemicals: Test Guideline No. 426. Paris, Organisation for Economic Cooperation and Development(http://masetto.sourceoecd.org/vl=1992568/cl=12/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n4/s27/p1).

Thompson ED (1986). Comparison of in vivo and in vitro cytogenetic assay results. Environ Mutagen, 8: 753–768.

Tilson HA (1990b). Neurotoxicology in the 1990s. Neurotoxicol Teratol, 12: 293–300.

United States Congress, Office of Technology Assessment (1990) Neurotoxicity: identifying and controlling poisons of the nervous system. Washington, DC, United States Government Printing Office (OTA-BA-436).

USEPA (1991a). Pesticide assessment guidelines, subdivision F, hazard evaluation: human and domestic animals. Addendum 10: Neurotoxicity, series 81, 82, and 83. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (EPA No. 540/09-91-123).

USEPA (1991b). Guidelines for developmental toxicity risk assessment. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency. Fed Regist, 56: 63798–63826 (EPA/600/FR-91/001; http://www.epa.gov/NCEA/raf/pdfs/devtox.pdf).

USEPA (1991c). Neurotoxicity testing guidelines. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency.

USEPA (1998a). Guidelines for neurotoxicity risk assessment. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency. Fed Regist, 63: 26926–26951.

USEPA (1998b). Health effects test guidelines. OPPTS 870.3800. Reproduction and fertility effects. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency (Document No. EPA 712-C-98-208; http://www.epa.gov/opptsfrs/OPPTS_ Harmonized/870_ Health_Effects_Test_Guidelines/Series/870-3800.pdf).

USFDA (2000). Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives and color additives used in food (Redbook 2000). Washington, DC, United States Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition (http://www.cfsan.fda.gov/~redbook/red-toca.html).

USNRC (1992). Environmental neurotoxicology. Prepared by the Committee on Neurotoxicology and Models for Assessing Risk, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington, DC, National Academy Press (http://books.nap.edu/openbook.php? record_id=1801&page=9).

USNRC (1993). Pesticides in the diets of infants and children. Prepared by the Committee on Pesticides in the Diets of Infants and Children, Board on Agriculture and Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington, DC, National Academy Press (http://www.nap. edu/openbook.php?isbn=0309048753).

USNRC (1999). Hormonally active agents in the environment. Prepared by the Committee on Hormonally Active Agents in the Environment, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington, DC, National Academy Press (http://www.nap.edu/openbook.php? isbn=0309064198).

VICH (2002). Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: carcinogenicity testing. Brussels, International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH GL28; http://www.vichsec.org/pdf/11_2002/Gl28_st7.pdf).

Williams GM & Iatropoulos MJ (2001). Principles of testing for carcinogenic activity. In: Hayes W ed. Principles & methods of toxicology. Philadelphia, PA, Taylor & Francis, pp 959–1000.

สำนักอาหาร
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา