คู่มือ

การเตรียมข้อมูลประเมินความปลอดภัย เพื่อยื่นขอรับรองอาหารใหม่ (NOVEL FOOD)

ศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย

(Thailand Risk Assessment Center; TRAC)

สถาบันโภชนาการ
มหาวิทยาลัยมหิดล

คู่มือการเตรียมข้อมูลประเมินความปลอดภัย เพื่อยื่นขอรับรองอาหารใหม่ (NOVEL FOOD)

ผู้เขียน

รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิพรรณ บุตรยี่

สุชาดา ไกรเพชร

กนกนาฏ แขงามขำ

คู่มือการเตรียมข้อมูลประเมินความปลอดภัยเพื่อยื่นขอรับรองอาหารใหม่ (NOVEL FOOD)

ผู้เขียน รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิพรรณ บุตรยี่ สุชาดา ไกรเพชร กนกนาฏ แขงามขำ

บรรณาธิการ	รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิพรรณ บุตรยี่
จัดทำโดย ที่ปรึกษา	ชนิพรรณ บุตรยี่ สุชาดา ไกรเพชร กนกนาฏ แขงามขำ รศ.ดร.ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต ดร.พิกุลทอง ขอเพิ่มทรัพย์
ออกแบบปกและรูปเล่ม	กนกนาฏ แขงามขำ
สนับสนุนโดย	TCELS ศูนย์ความเป็นเลิศด้านชีววิทยาศาสตร์ (องค์การมหาชน) Thailand Center of Excellence for Life Sciences (Public Organization)
	ข้อมูลบรรณานุกรม ชนิพรรณ บุตรยี่ สุชาดา ไกรเพชร กนกนาฏ แขงามขำ คู่มือการเตรียมข้อมูลประเมินความปลอดภัยเพื่อยื่นขอรับรองอาหารใหม่ (NOVEL FOOD). นครปฐม: ศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย (TRAC) มูลนิธิส่งเสริมโภชนาการในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2563. 77 หน้า.
จัดพิมพ์โดย	ศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย (TRAC) มูลนิธิส่งเสริมโภชนาการในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
พิมพ์ครั้งที่ 1 **ISBN** **จำนวนพิมพ์** **พิมพ์ที่**	มิถุนายน 2563 978-616-92646-1-3 300 เล่ม บริษัท เอ็ม พริ้นต์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด 23/25 ซ.นวมินทร์ เขตบึงกุ่ม กรุงเทพฯ 10230 โทร. 081-802-5331 email: mprint2554@gmail.com

บทนำ

ข้อมูลส่วนแบ่งการตลาดอาหารในประเทศพบว่ามูลค่าการตลาดของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเติบโตร้อยละ 11.3 ต่อปี ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้ประกอบการมาลงทุนในธุรกิจด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมากขึ้น ด้วยนวัตกรรมด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารในรูปแบบที่หลากหลายโดยเฉพาะการพัฒนาในรูปผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมีการเติบโตอย่างกว้างขวางทั้งผู้ประกอบธุรกิจการนำเข้าสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในอาหารที่ได้จากการสกัดพืชสมุนไพรต่าง ๆ ซึ่งมีทั้งผู้ประกอบการรายใหญ่ที่เป็นบริษัทข้ามชาติและผู้ประกอบการวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (SME) ในประเทศซึ่งมักมีปัญหาการเข้าถึงข้อมูลทางวิชาการเพื่อสนับสนุนด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น การผลิตเพื่อจำหน่ายในประเทศจำเป็นต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) โดยทั้งนี้ผู้ประกอบการต้องยื่นเอกสารหลักฐานด้านข้อมูลผลิตภัณฑ์ ข้อบ่งใช้และความปลอดภัยตามที่กำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376 พ.ศ. 2559) เรื่อง อาหารใหม่ (Novel Food)

อาหารใหม่ (Novel Food)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376) พ.ศ. 2559 เรื่อง อาหารใหม่ (novel food) นิยามว่า “อาหารใหม่ (novel food)” หมายถึง

(1) วัตถุที่ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ปรากฏหลักฐานทางวิชาการว่า*มีประวัติการบริโภคเป็นอาหารน้อยกว่า 15 ปี* หรือ

(2) วัตถุที่ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ได้จากกระบวนการผลิต*ที่มิใช่กระบวนการผลิตโดยทั่วไปของอาหารนั้น ๆ* ที่ทำให้ส่วนประกอบ โครงสร้างของอาหาร รูปแบบของอาหารนั้น*เปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการกระบวนการทางเคมีภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (metabolism) หรือระดับของสารที่ไม่พึงประสงค์ (level of undesirable substances)*

(3) ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีวัตถุ (1) หรือ (2) เป็นส่วนผสม

ทั้งนี้ ไม่รวมถึงวัตถุเจือปนอาหาร และอาหารที่ได้จากเทคนิคการดัดแปรพันธุกรรม

“อาหารที่มีประวัติการบริโภคเป็นอาหาร” หมายถึง อาหารที่มีการบริโภคตามปกติของอาหารนั้น ๆ โดยอ้างอิงประวัติจากข้อมูลทางวิชาการ

“กระบวนการผลิตที่มิใช่กระบวนการผลิตทั่วไป” หมายรวมถึง กระบวนการผลิตใด ๆ ที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบของอาหาร หรือโครงสร้างของอาหาร หรือรูปแบบของอาหารอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ (เช่น เพิ่มสารอาหาร เป็นต้น) หรือกระบวนการทางเคมีในร่างกายหลังจากบริโภค หรือระดับของสารที่ไม่พึงประสงค์ (เช่น สารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม สารพิษจากเชื้อรา สารก่อภูมิแพ้ สารพิษที่เกิดจากธรรมชาติ สารยับยั้งสารอาหาร จุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย เป็นต้น)

ยกตัวอย่าง กระบวนการผลิตใหม่ เช่น

- นาโนเทคโนโลยีที่ส่งผลให้ส่วนประกอบของอาหารมีอนุภาคเล็กกว่าการผลิตโดยวิธีดั้งเดิม
- กระบวนการพาสเจอร์ไรส์โดยไม่ใช้ความร้อน (non-thermal food pasteurization processes)
- กระบวนการผลิตโดยใช้แรงดัน (high hydrostatic pressure processing)

*สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้ใน**ภาคผนวก ก.**ของคู่มือฉบับนี้หรือจาก “ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376) พ.ศ. 2559 เรื่อง อาหารใหม่ (Novel food)”* URL: *http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P376.PDF*

ดังนั้นหากเข้าข่ายดังกล่าวจัดเป็นอาหารใหม่ ซึ่งผู้ประกอบการจะต้องยื่นข้อมูลต่าง ๆ ต่อหน่วยประเมินฯที่ อย.ให้การรับรอง เพื่อให้หน่วยประเมินจัดทำรายงานการประเมินความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารใหม่เพื่อให้ อย.พิจารณาอนุญาตต่อไป

วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือการเตรียมข้อมูลประเมินความปลอดภัยเพื่อยื่นขอรับรองอาหารใหม่ (NOVEL FOOD)

เพื่อให้ผู้ประกอบการที่มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เข้าข่ายนิยามอาหารใหม่ (novel food) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376) พ.ศ. 2559 เรื่อง อาหารใหม่ (novel food) และนักวิชาการที่เป็นที่ปรึกษาให้กับผู้ผลิตหรือนักวิชาการผู้ทำหน้าที่ประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่มีความรู้ความเข้าใจในการเตรียมข้อมูลเอกสารเพื่อยื่นประเมินความปลอดภัยและขอรับรองอาหารใหม่

วิธีใช้คู่มือ

คู่มือฉบับนี้ประกอบด้วยรายละเอียดเนื้อหาตามแบบคำขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่จากศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย (TRAC) แบบคำขอแสดงไว้ใน**ภาคผนวก ข.** ของคู่มือฉบับนี้ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการจัดทำรายงานการประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ (Novel food) ซึ่งผู้ประกอบการสามารถจัดเตรียมเอกสารในส่วนของผลิตภัณฑ์ของตนตามแนวทางที่อธิบายรายละเอียดไว้ในคู่มือในแต่ละหัวข้อ กรณีรายการเอกสารในหัวข้อที่เป็นการสืบค้นเอกสารอ้างอิงจากแหล่งอ้างอิงทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการมีการเผยแพร่ในฐานข้อมูล หน่วยประเมินฯจะเป็นผู้สืบค้นเพื่อนำมาประกอบการประเมินฯ การแบ่งหัวข้อแบ่งเป็น 2 หัวข้อ คือ 1) ข้อมูลทั่วไป และ 2) ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ สำหรับรายการเอกสารที่ต้องจัดเตรียมตามที่ระบุในคู่มือมีรายการดังต่อไปนี้

หัวข้อ	รายการเอกสาร
1. ข้อมูลทั่วไป	1.1 ข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบ ที่ต้องการประเมิน 1.2 สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ 1.3 ประวัติการบริโภคเป็นอาหาร 1.4 ผลวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบ หรือ Certificate of analysis (COA) 1.5 กระบวนการผลิตส่วนประกอบ (วัตถุดิบ) 1.6 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ หรือ Certificate of analysis (COA) 1.7 คำแนะนำในการบริโภค 1.8 สภาวะการเก็บรักษาและอายุการเก็บรักษา 1.9 ข้อความเตือน/คำแนะนำในการบริโภค (ถ้ามี) 1.10 ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี)
2. ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ	2.1 ลักษณะทางชีวเคมี 2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity testing) 2.3 ผลการศึกษาด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง 2.4 ผลการศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก หรือทางระบาด (กรณีที่แจ้งความคาดหวังทางสุขภาพในมนุษย์) 2.5 ผลการทดสอบอื่น ๆ เช่น ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการของตัวอ่อน (ถ้ามี)

หมายเหตุ กรณีระบุ (ถ้ามี) ในรายการเอกสารข้อใดหมายความว่าเป็นเอกสารเฉพาะกรณีที่ผู้ประกอบการสามารถยื่นรายละเอียดเพิ่มเติมได้แต่ไม่ใช่เอกสารจำเป็นที่ต้องยื่น

การใช้คำย่อและคำเฉพาะในเนื้อหาของคู่มือฉบับนี้ได้มีการระบุและอธิบายความหมายแสดงไว้ในคู่มือฉบับนี้แล้ว ในแต่ละหัวข้อที่ให้รายละเอียดไว้จะมีการแสดงตัวอย่างเอกสารเพื่อให้เข้าใจได้ง่ายขึ้น อย่างไรก็ตามคู่มือฉบับนี้เป็นเพียงเครื่องมือช่วยในการเตรียมข้อมูลอย่างถูกต้องเพื่อนำข้อมูลมาประกอบการประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่ซึ่งยังไม่ครอบคลุมขั้นตอนของการประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญเพื่อพิจารณากำหนดค่าความปลอดภัยในการบริโภคต่อวันหรือที่เรียกว่า Acceptable Daily Intake (ADI) ซึ่งการจะดำเนินการในขั้นตอนของผู้เชี่ยวชาญต่อไปได้หรือไม่ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์และคุณภาพของข้อมูลที่มีการจัดเตรียมเพื่อประกอบการประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่เพื่อเตรียมยื่นขอรับรองอาหารใหม่ต่อสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ในขั้นตอนต่อไป ดังนั้นการปฏิบัติตามข้อแนะนำในเอกสารคู่มือฉบับนี้จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สามารถทำให้ผู้ประกอบการประสบความสำเร็จในการขอรับรองอาหารใหม่บนพื้นฐานของความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

คำย่อ

อย.	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
ADME	Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion
ADI	Acceptable Daily Intake
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate amminotransferase
CFSAN	Center for Food Safety and Applied Nutrition
COA	Certificate of Analysis
CODEX	Codex Alimentarius Commission
EFSA	European Food Safety Authority
FSANZ	Food Standard Australia New Zealand
GCP	Good Clinical Practice
GLP	Good Laboratory Practice
GRAS	Generally Recognized as Safe
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
mg/kgBW	Milligram per kilogram body weight
LD_{50}	50% Lethal Dose
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
SGPT	Serum Glutamate-Pyruvate Transaminase
SGOT	Serum Glutamate-Oxaloacetate Transaminase
UFs	Uncertainty factors
WHO	World Health Organization

คำจำกัดความ

การดูดซึม (absorption)	เป็นกระบวนการที่สารเคมีถูกเคลื่อนย้ายผ่านผนังทางเดินอาหารเข้าไปสู่ระบบการไหลเวียนโลหิต
การกระจาย (distribution)	กระบวนการที่สารหรือเมแทบอไลท์ของสารปรากฏอยู่ในระบบไหลเวียนโลหิตที่เคลื่อนที่ไปทั่วร่างกาย และแยกออกเป็นส่วน ๆ หรือออกจากเนื้อเยื่อร่างกายที่ต่างกัน
การขับออก (excretion)	กระบวนการที่กำจัดสารหรือเมแทบอไลท์ของสารจากระบบไหลเวียนของร่างกายเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเสียขับออกจากร่างกาย เช่น ปัสสาวะ อุจจาระ และอากาศที่ถูกปล่อยออกจากร่างกาย
ควรบริโภคก่อน	วันที่ซึ่งแสดงการสิ้นสุดของช่วงเวลาที่อาหารนั้นยังคงคุณภาพดี ภายใต้เงื่อนไขการเก็บรักษาที่ระบุไว้ และหลังจากวันที่ระบุไว้นั้น อาหารนั้นจะถูกวางจำหน่ายไม่ได้
ชีวประสิทธิผล (bioavailability)	ร้อยละของปริมาณสารที่พบในระบบไหลเวียนโลหิตต่อสารประกอบตั้งต้น
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	ผลิตภัณฑ์ที่ใช้รับประทานนอกเหนือจากการรับประทานอาหารตามปกติ ซึ่งมีสารอาหารหรือสารอื่นเป็นองค์ประกอบ อยู่ในรูปแบบเม็ด แคปซูล ผงเกล็ด ของเหลวหรือลักษณะอื่น ซึ่งมิใช่รูปแบบอาหารตามปกติ (conventional foods) สำหรับผู้บริโภคที่คาดหวังประโยชน์ทางด้านส่งเสริมสุขภาพ
พิษจลนศาสตร์ (toxicokinetics)	อัตราการดูดซึมที่คงที่สามารถประเมินได้จากระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นในพลาสม่า หลังจากที่ได้รับสารเข้าไปในร่างกายขนาดเดียวเท่านั้นโดยช่องทางการให้ที่เหมาะสม ทั้งนี้การหาอัตราการดูดซึมจะเป็นสิ่งสำคัญในการประเมินความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxic effects) ของสารที่ต้องการทดสอบ
เมแทบอลึซึม (metabolism)	กระบวนการซึ่งสารที่ได้รับเข้าไปถูกเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นโมเลกุลที่ถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ หรืออาจเรียกว่ากระบวนการไบโอทรานซ์ฟอร์เมชัน (biotransformation)
สารก่อภูมิแพ้	สารที่เข้าสู่ร่างกายแล้วทำให้ร่างกายมีปฏิกิริยาผิดปกติ ทั้งที่ตามธรรมดาสารนั้นเมื่อเข้าสู่ร่างกายคนทั่วไปแล้วจะไม่มีอันตรายใด ๆ จะมีอันตรายก็เฉพาะในคนบางคนที่แพ้สารนั้นเท่านั้น และให้หมายความรวมถึงสารที่ก่อภาวะภูมิไวเกิน
สารช่วยในการผลิต (processing aid)	สารหรือวัตถุใด ๆ ซึ่งมิได้ใช้บริโภคในลักษณะเป็นส่วนประกอบของอาหาร แต่ใช้ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบหรือส่วนประกอบของอาหารเพื่อให้เป็นไปตามเทคโนโลยีระหว่างการปรับคุณภาพหรือการแปรรูป ซึ่งอาจมีสารหรืออนุพันธุ์ของสารนั้นเหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์โดยไม่ตั้งใจแต่หลีกเลี่ยงไม่ได้

คำจำกัดความ (ต่อ)

สารแปลกปน (impurities)	หมายถึง สารใด ๆ ที่ปนเปื้อน (contaminants) ในอาหารโดยไม่ได้ตั้งใจซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการผลิตอาหาร (รวมถึงการเพาะปลูกพืช การเลี้ยงสัตว์และการใช้ยาสัตว์) กรรมวิธีการผลิต โรงงานหรือสถานที่ผลิต การดูแลรักษา การบรรจุบรรจุภัณฑ์ การขนส่งหรือการเก็บรักษา หรือเกิดจากการปนเปื้อน หรืออื่น ๆ จากสิ่งแวดล้อม ซึ่งไม่รวมถึงชิ้นส่วนจากแมลง ขนสัตว์ จำพวกสัตว์ฟันแทะ (rodent) และสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ
สิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม (Genetically Modified Organism; GMO)	สิ่งมีชีวิตที่มีการปรับเปลี่ยนสารพันธุกรรมซึ่งได้จากการใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
หมดอายุ	วันที่ซึ่งแสดงการสิ้นสุดของคุณภาพของอาหารภายใต้เงื่อนไขการเก็บรักษาที่ระบุไว้ และหลังจากวันที่ระบุไว้นั้น อาหารนั้นวางจำหน่ายไม่ได้
ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองความสามารถการตรวจวิเคราะห์ (Laboratory Accreditation) ตามมาตรฐานสากล	เช่น ISO/IEC 17025 ในรายการทดสอบ (test) ที่เสนอให้ประเมิน สำหรับเอกสารหลักฐานที่เกี่ยวกับผลการตรวจวิเคราะห์ของอาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองข้อปฏิบัติที่ดีในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice) (ส่วนราชการหรือสถาบันที่อย.ให้การยอมรับผลการตรวจวิเคราะห์อาหาร http://www.fda.moph.go.th/sites/food/Regulation/file_1.pdf)
เอนไซม์ (enzyme)	โปรตีนกลุ่มหนึ่งที่ได้จากพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ซึ่งนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร เช่น การเตรียมวัตถุดิบ การแปรรูป การบ่ม การขนส่ง การเก็บรักษา เป็นต้น ทั้งนี้ ให้หมายความรวมถึงเอนไซม์ปรุงแต่งและเอนไซม์ตรึงรูป
เอนไซม์ตรึงรูป (immobilized enzyme)	เอนไซม์ที่ถูกทำให้ไม่ละลายด้วยกระบวนการทางเคมีหรือทางกายภาพ เช่น นำไปจับยึดไว้กับตัวพยุง หรืออาจทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วยการเชื่อมพันธะทางเคมีหรือไม่มีพันธะเคมีก็ได้ซึ่งมีผลให้เอนไซม์จับยึดกันเป็นของแข็งเพื่อให้สามารถแยกออกจากกระบวนการผลิตและสามารถนำกลับมาใช้งานได้ใหม่
เอนไซม์ปรุงแต่ง (enzyme preparation)	เอนไซม์ตั้งแต่หนึ่งชนิดขึ้นไปซึ่งอาจมีวัตถุอื่น เช่น วัตถุกันเสีย สารที่ทำให้คงตัวหรือสารเพิ่มปริมาณเป็นส่วนประกอบ เพื่อช่วยคงสภาพหรือยืดอายุการเก็บรักษาของเอนไซม์ ทั้งนี้ ให้ความหมายรวมถึงเอนไซม์ตรึงรูปด้วย
No Observed Adverse Effect Levels (NOAELs)	ปริมาณสารในขนาดที่ไม่พบความผิดปกติ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว
The Lowest Observed Adverse Effect Levels (LOAELs)	ค่าต่ำสุดที่ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์หรือพบความผิดปกติ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

สารบัญ

หน้า

บทนำ I

คำย่อ IV

คำจำกัดความ V

ข้อมูลประกอบการยื่นขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

1. ข้อมูลทั่วไป 1

1.1 ข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบ 1
1.2 สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ 2
1.3 ประวัติการบริโภคเป็นอาหาร 4
1.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบ หรือ Certificate of analysis: COA 6
1.5 กระบวนการผลิตส่วนประกอบ (วัตถุดิบ) 9
1.6 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ 12
1.7 คำแนะนำในการบริโภค 15
1.8 สภาวะการเก็บรักษา และอายุการเก็บรักษา 15
1.9 ข้อความเตือน/คำแนะนำในการบริโภค (ถ้ามี) 15
1.10 ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากล หรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี) 17

2. ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ 18

2.1 ลักษณะทางชีวเคมีของสาร 18
2.1.1 การดูดซึม การกระจาย และการขับออกจากร่างกาย 18
2.1.2 การเปลี่ยนแปลงของสาร (Biotransformation) 19
2.1.3 ผลต่อเอนไซม์และค่าอื่นทางชีวเคมี 21
2.1.4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถี (กรณีที่มีส่วนประกอบหลายตัวในผลิตภัณฑ์) 22
2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity testing) 22
2.3 ผลการศึกษาด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง 23
2.3.1 พิษเฉียบพลัน 24
2.3.2 พิษกึ่งเรื้อรัง 26
2.3.3 พิษเรื้อรัง 30
- การประเมินผลการทดสอบเพื่อกำหนดค่า NOAEL 32
- การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวัน (ADI) จากการศึกษาพิษเรื้อรัง 34

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 ผลการศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก หรือทางระบาด (กรณีที่แจ้งความคาดหวังทางสุขภาพในมนุษย์) 35
- วิธีการสืบค้นเอกสารหลักฐาน 36
- การศึกษาในมนุษย์เพื่อนำมากำหนดค่า NOAEL 38
- การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวัน (ADI) จากการศึกษาในมนุษย์ 39

2.5 ผลการทดสอบอื่น ๆ เช่น ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการของตัวอ่อน (ถ้ามี) 40
- พิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproductive toxicity) 40
- พิษต่อพัฒนาการของตัวอ่อน (Developmental toxicity) 42
- การกำหนดค่า NOAEL จากการศึกษาพิษต่อระบบสืบพันธุ์ 43

สรุปและการดำเนินงานขั้นต่อไป **44**

เอกสารอ้างอิง **45**

ภาคผนวก

- **ภาคผนวก ก** ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376) พ.ศ. 2559 เรื่อง อาหารใหม่ (Novel food) 47

- **ภาคผนวก ข** แบบคำขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่ โดยศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย 55

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การทดสอบพิษวิทยาโดยใช้สัตว์ทดลองตามมาตรฐานสากล OECD 24

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ตัวอย่างข้อมูลประวัติการบริโภคเป็นอาหารของ chamomile flowers extract 5

ภาพที่ 2 ตัวอย่างเอกสารรายงานหรือข้อคิดเห็นเชิงวิชาการ (scientific opinion) จากหน่วยงานที่เป็นสากล หรือหน่วยงานต่างประเทศ 17

ภาพที่ 3 กระบวนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย 19

ภาพที่ 4 Metabolism of ellagitannins to urolithins; tissue and biological fluids distribution 21

ภาพที่ 5 ตัวอย่างรายงานการศึกษา Ames *Salmonella* mutagenicity testing 23

ภาพที่ 6 การสังเกตอาการความผิดปกติก่อนสิ้นสุดการทดสอบและการผ่าซากเพื่อดูความเป็นพิษต่ออวัยวะภายใน 25

ภาพที่ 7 การเตรียมสารแขวนลอย (suspension) ของตัวอย่างผงแห้งพืชละลายใน 0.5% methylcellulose in water 25

ภาพที่ 8 กราฟแสดงผลน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงของหนูแต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.02%GSE, 0.2%GSE และ 2%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์ 27

ภาพที่ 9 แสดงพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา (haematology) ในหนูเพศผู้ (male) แต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.63%GSE, 1.25%GSE และ 2.5%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์ 28

ภาพที่ 10 แสดงพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ค่าทางเคมีคลินิก (clinical chemistry) ในหนูเพศผู้ (male) แต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.63%GSE, 1.25%GSE และ 2.5%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์ 28

ภาพที่ 11 ตัวอย่างแสดงผล Relative organ weight (g/100 g น้ำหนักตัว) และน้ำหนักตัวหนูที่ได้รับอาหารผสม EF ในการศึกษาพิษเรื้อรัง 29

ภาพที่ 12 แสดงจำนวนหนูที่พบความผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ จากผลทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ได้รับอาหารผสม EF ในการศึกษาพิษเรื้อรัง 29

ภาพที่ 13 วิธีให้สารทดสอบกับหนูโดยการป้อน และการเตรียมส่วนผสมตัวอย่างในอาหาร 31

ภาพที่ 14 การชันสูตรซากเพื่อตรวจอวัยวะภายใน 33

ภาพที่ 15 การแยกอวัยวะส่วนต่าง ๆ เพื่อชั่งน้ำหนัก 33

ภาพที่ 16 การเก็บอวัยวะแช่ในฟอร์มาลิน 34

ภาพที่ 17 ตัวอย่างบทความตีพิมพ์ระบุข้อความปฏิบัติตามระเบียบวิธีวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล 35

ภาพที่ 18 การสืบค้นในฐานข้อมูล Scopus 36

ภาพที่ 19 การสืบค้น Journal ranking จาก Scimago Institutes Ranking 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 20 การสืบค้นข้อมูลวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI 37

ภาพที่ 21 แสดงผลค่าพารามิเตอร์ทางพิษวิทยาจากผลค่าเคมีคลินิกในเลือดของการศึกษาทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดี 39

ภาพที่ 22 แผนภาพแสดงการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ (reproductive toxicity) แบบรุ่นเดียว (single generation) 42

ข้อมูลประกอบการยื่นขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบ ประกอบด้วย ชื่อทางวิทยาศาสตร์ ชื่อเคมี หรือชื่อสามัญ ส่วนที่นำมาบริโภค (เช่น ราก หัว ลำต้น เมล็ด ฯลฯ) และแหล่งกำเนิดทางภูมิศาสตร์หรือแหล่งที่มาของวัตถุดิบ

ตัวอย่างข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบที่นำมาพิจารณา

1) ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากกระชายดำ มีข้อมูลของวัตถุดิบดังนี้

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	*Kaempferia parviflora* wall.Ex Baker
ชื่อเคมี	–
ชื่อสามัญ	Black ginger
ชื่อภาษาไทย	กระชายดำ ว่านกำบัง ว่านจังงัง หัวละแอน (ภาคเหนือ)
ส่วนที่นำมาบริโภค	เหง้า
แหล่งที่มาของวัตถุดิบ	จังหวัดเชียงราย ประเทศไทย
ภาพประกอบ	

ภาพ *Kaempferia parviflora* rhizome
ที่มา: Dalin *et al.*, 2018

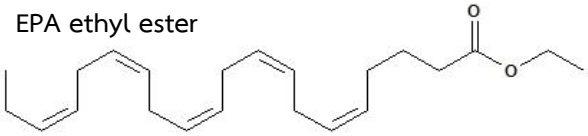
2) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันปลา มีข้อมูลของวัตถุดิบดังนี้

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	Omega-3 fatty acid
ชื่อเคมี	-
ชื่อสามัญ	Omega-3-acid ethyl esters, Omega-3 polyunsaturated fatty acid

แหล่งที่มา ผลิตจากน้ำมันปลา (crude fish oil) แต่ละแคปซูลประกอบด้วย omega-3-acid ethyl esters เป็นสารสำคัญ (active ingredient) ในปริมาณ 550 มิลลิกรัม ซึ่งมีส่วนประกอบเป็น eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) ปริมาณ 547 มิลลิกรัม ในรูปแบบ ethyl esters form (EE type) และวิตามินอี (tocopherol) ปริมาณ 3 มิลลิกรัม บรรจุใน soft gelatin capsule ใสไม่มีสี

สูตรโครงสร้าง

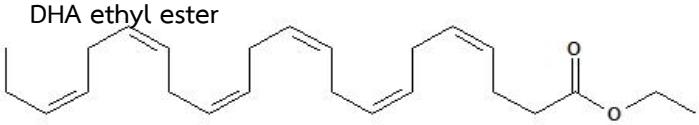
EPA ethyl ester



Eicosapentaenoic acid (EPA) ethyl ester

- The empirical formula: $C_{22}H_{34}O_2$
- Molecular weight: 330.51

DHA ethyl ester



Docosahexaenoic acid (DHA) ethyl ester

- The empirical formula: $C_{24}H_{36}O_2$
- Molecular weight: 356.55

ภาพ สูตรโครงสร้างของ EPA ethyl ester และ DHA ethyl ester
ที่มา: เอกสารแนบที่ X

1.2 สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์

เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาประเภทอาหารใหม่ เช่น สารประกอบเดี่ยว (ingredient) หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยแจ้งรายละเอียดสูตรส่วนประกอบตามจริงที่ผลิตทั้งหมด แจ้งรายละเอียดเป็นน้ำหนัก ต่อหน่วย (เช่น แคปซูล ซอง ช้อนโต๊ะ เป็นต้น) ให้แจ้งชื่อสามัญของสาร ไม่ใช่ชื่อทางการค้า เนื่องจากจะไม่สามารถตรวจสอบได้

กรณีเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวและสูตรส่วนประกอบให้แจ้งระบุหน่วยเป็นปริมาตร (มิลลิลิตร) ต้องระบุค่าความหนาแน่นของผลิตภัณฑ์ (density) เพิ่ม เพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณการบริโภคต่อวัน

รายละเอียดข้อมูลดังต่อไปนี้

- ปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค

ตัวอย่าง
- สารสกัดจากกระชายดำ 1 แคปซูล น้ำหนัก 1,000 มิลลิกรัม มีสารสกัดจากกระชายดำ 500 มิลลิกรัม - ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันปลา 1 แคปซูล น้ำหนัก 880 มิลลิกรัม มีปริมาณ EPA และ DHA 547 มิลลิกรัม - ผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพร 2 ซองต่อวัน (1 ซอง 20 มิลลิลิตร)

- องค์ประกอบหลัก (active ingredients) ระบุทั้งชนิดและปริมาณ
- ส่วนประกอบอื่น ๆ

เป็นส่วนประกอบที่ไม่สำคัญ (inactive ingredients) หรือ แจ้งกลุ่มหน้าที่ (function) ของวัตถุเจือปนอาหาร หรือ excipients เช่น สารละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวพา (solvent vehicle) สารปรุงแต่งอาหารหรือ

สารเจือปน ได้แก่ สารกันหืน สารที่พองตัวได้ สารเพิ่มปริมาณ สารที่ทำให้อาหารคงตัว สารที่ช่วยให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เป็นต้น ระบุทั้งชนิดและปริมาณ

ตัวอย่าง

1. องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันปลา

Composition	Content	Each Capsule Contains
Active Ingredients		
Refined fish-oil (EPA and DHA ... mg/g min.)	A%	X mg
D-α-Tocopherol (Vitamin E min. ...%)	B%	Y mg
	(A+B)=100%	**(X+Y) mg**
Capsule Ingredients		
Gelatin (from.....) (Protein ....%, Moisture ....%)	C%	F mg
Glycerin (Glycerin .....%)	D%	G mg
D-sorbitol (D-sorbitol .....%)	E%	H mg
Total	(C+D+E)=100%	(F+G+H) mg
		(X+Y+F+G+H) mg

2. องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสารสกัดจากสาหร่าย

Name of Components	Quantity/Capsule (mg)	Active component Capsule	Measurement method
Active ingredients			
Crude extract from Seaweed I	XX	Fucoidan $\geq$ .....%	HPLC
Crude extract from Seaweed II	YY	Fucoidan $\geq$ .....%	Method of .....
Crude extract from Mushroom A	ZZ	β-glucan $\geq$ .....%	Enzyme method
Inactive ingredient			
Vegetable capsule consists of	AA		Scale

- วัตถุประสงค์การใช้ของผลิตภัณฑ์* (ฤทธิ์/ผลต่อร่างกายและความคาดหวังจากการบริโภค) ซึ่งไม่ใช่การกล่าวอ้างเพื่อสุขภาพ แต่ต้องมีเอกสารทางวิชาการสนับสนุนว่าให้ผลดังกล่าวจริง

ตัวอย่าง

- เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ
- เป็นแหล่งของสารสำคัญ เช่น polyphenols, isoflavones, anthocyanins, phenolics, lutein, chorophyll, lycopene, resveratrol, ascorbic acid, beta carotene, tocopherols, polysaccharide เป็นต้น
- เป็นแหล่งของวิตามินหรือเกลือแร่ชนิดต่าง ๆ เช่น วิตามินเอ บี ซี ดี อี เค ไอโอดีน แคลเซียม เหล็ก สังกะสี เป็นต้น
- เสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

- เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร - ใช้เหมือนน้ำตาลและสารให้ความหวาน - ใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร - ใช้เป็นส่วนประกอบในนมดัดแปลงสำเร็จรูปสำหรับทารกและอาหารทารก (infant formula)

* ต้องมีรายงานการวิจัยยืนยัน

- ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย*

ตัวอย่าง
- บุคคลทั่วไป - ผู้ที่มีร่างกายอ่อนเพลีย - ผู้สูงอายุและผู้ใหญ่ทั่วไป - สตรีวัยทอง - เด็กทารก อายุ 0-12 เดือน เด็กเล็กอายุ 6-36 เดือน และเด็กอายุ 1 ปีขึ้นไป

* ต้องมีรายงานการวิจัยยืนยัน

- รายละเอียดผู้ผลิต/ผู้นำเข้า (กรณีนำเข้า) ระบุชื่อและที่อยู่ผู้ผลิต (supplier) /ผู้นำเข้า เช่น ผู้ผลิต โดยบริษัท เอ จำกัด ประเทศจีน ผู้นำเข้า โดยบริษัท บี จำกัด ประเทศไทย

1.3 ประวัติการบริโภคเป็นอาหาร (ระยะเวลา/ประเทศที่มีการบริโภค/รูปแบบการบริโภค/ข้อมูลการบริโภค)

ในที่นี้หมายถึงสิ่งที่ต้องการประเมินมีประวัติการบริโภคเป็นอาหารตั้งแต่เดิมในกลุ่มประชากรที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม หรือมีประวัติการบริโภคมายาวนานโดยกลุ่มคนในชุมชนอย่างกว้างขวางมาหลายรุ่นจนเป็นส่วนหนึ่งของอาหารปกติในท้องถิ่น หรือภูมิภาคจนเป็นส่วนหนึ่งของอาหารในกลุ่มชาติพันธุ์ ทั้งนี้ต้องมีวิธีการเตรียม วิธีการรับประทาน ปริมาณและความถี่ในการบริโภค และจุดประสงค์การบริโภคเหมือนกัน/ไม่แตกต่างไปจากเดิม โดยต้องไม่แสดงอาการอันไม่พึงประสงค์ (adverse effect) ใด ๆ ที่อาจเกิดขึ้นที่สัมพันธ์กับอาหารนั้น โดยระบุเป็นระยะเวลาและประเทศที่มีประวัติการใช้เป็นอาหาร ข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบการบริโภค (เช่น บริโภคสด สกัดจากน้ำ สกัดจากสารละลาย) และระยะเวลาของการบริโภคที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย

การสืบค้นประวัติการบริโภคอาหารให้อ้างอิงจากแหล่งข้อมูลที่มีความน่าเชื่อถือ ได้แก่

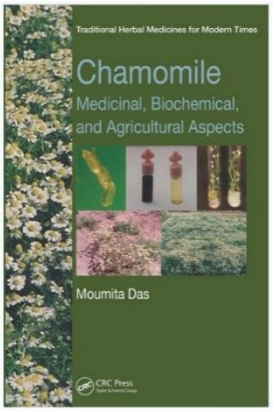
- ตำราหรือวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง และเป็นที่ยอมรับ
- ฐานข้อมูลของหน่วยราชการหรือองค์กรที่มีความน่าเชื่อถือระดับนานาชาติ เช่น FAO, WHO
- ฐานข้อมูลวารสารทางวิทยาศาสตร์ที่มีความน่าเชื่อถือ เช่น Elsevier, TOXLINE, Pubmed, BIOSIS, TOXNET, NAPRALERT
- หนังสือหรือเอกสารรับรองการวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของวัตถุดิบนั้น (certificate of free sale) จากหน่วยงานที่มีอำนาจในการรับรอง

ตัวอย่างการพิจารณาความปลอดภัยของอาหาร

<u>กรณีตัวอย่างที่ 1</u> อาหารที่มีรูปแบบการบริโภคใหม่ แต่มีข้อมูลการบริโภคมากกว่า 15 ปี

คาโมมายล์ (chamomile) หรือ *Matricaria recutitia* L. หรือ *Chamomilla recutita* L. หรือ *Matricaria chamomilla*) ดอกคาโมมายล์ใช้เป็นสมุนไพรมานานนับพันปี ตั้งแต่ยุคอียิปต์โบราณ กรีกและโรมัน เป็นสมุนไพรที่นิยมมากในทวีปยุโรปซึ่งมีประวัติการบริโภคเป็นชาหรือชาสมุนไพร (tisane)

ในกรณีที่ผู้ผลิต/ผู้นำเข้าต้องการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของดอกคาโมมายล์ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ (ethanol extract) เพื่อเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่ม polyphenol จากกระบวนการผลิตข้างต้นทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีรูปแบบการบริโภค (สกัดด้วยแอลกอฮอล์) ต่างไปจากรูปแบบเดิม (แช่ในน้ำร้อน) ดังนั้น ผลิตภัณฑ์มีส่วนประกอบของดอกคาโมมายล์ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์จึงเข้าข่ายเป็นอาหารใหม่ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 376) พ.ศ. 2559 เรื่อง อาหารใหม่ (novel food) แต่เนื่องจากผู้ผลิต/ผู้นำเข้าแสดงข้อมูลประวัติการบริโภคในรูปแบบการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ที่มีการบริโภคมานานกว่า 15 ปี โดยอ้างอิงจากตำรา (text book) ซึ่งเป็นที่ยอมรับจึงทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่เข้าข่ายเป็นอาหารใหม่ (novel food) **ดังนั้น ผู้ผลิต/ผู้จำหน่ายสามารถยื่นข้อมูลประวัติการบริโภคเป็นอาหารต่อสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเพื่อพิจารณาการอนุญาตจำหน่ายโดยไม่ต้องผ่านการประเมินความปลอดภัย**



Moumita Das, 2014

1.2 CHAMOMILE AS FOOD

The chamomile flowers are taken as tea, tisane, and herb beer (Chamomile 2006; McKay and Blumberg 2006). In fact, chamomile tea is one of the most popular herbal teas of the world and almost a million cups are consumed every day (Srivastava et al. 2010). In addition to tea, the fresh flowers of chamomile can be taken as salads and drinks. The dried flowers can be used as an ingredient in soups and salads to improve the flavor and enhance the nutritional value. Drinks made from chamomile flowers such as chamomile lemonade could be a refreshing drink in summer (Lissandrello 2008).

Not only the whole flowers, but also the essential oil and the extract of the flowers are used in food. The aqueous ethanol extract of chamomile flowers can contain up to 20% of the original dry matter, including 20%–25% of the mineral components and 5% of the free amino acids. It can be added to all kinds of foodstuffs and drinks. Chamomile flower extracts and oil are used to render the characteristic flavor (Furia and Bellanca 1975; Gasič et al. 1989) to the items of food, confectionery, alcoholic and nonalcoholic beverages, and tobacco. Chamomile oil is used for coloring foods as well (Mann and Staba 1986; Emongor et al. 1990).

Because the essential oil of chamomile is antimicrobial, it can used as a coating on various food products (Aliheidari et al. 2013).

ภาพที่ 1 ตัวอย่างข้อมูลประวัติการบริโภคเป็นอาหารของ chamomile flowers extract

<u>กรณีตัวอย่างที่ 2</u> อาหารที่มีข้อมูลการบริโภคแตกต่างกันในแต่ละประเทศ เช่น การพิจารณาอนุญาตการจำหน่ายแมลงที่กินได้ (edible insects)

1) ประเทศไทย มีประวัติการบริโภคเป็นอาหารในรูปแบบของแมลงทั้งตัวมายาวนานเพื่อเป็นแหล่งของโปรตีน มีหลักฐานทางวิชาการที่เชื่อถือได้สนับสนุน พิจารณาอนุญาตจำหน่ายเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปพร้อมบริโภค เช่น ดักแด้ไหมบรรจุกระป๋อง หรือหนอนไม้ไผ่ทอด

2) EU พิจารณาให้แมลงทั้งตัวและส่วนที่มาจากแมลง (whole insects and their preparations) เป็นอาหารใหม่ (novel food) โดยต้องมีการประเมินความปลอดภัยภายใต้ Regulation (EU) 2015/2283 ก่อนยื่นเอกสาร novel food application ต่อ European Commission ทั้งนี้เนื่องจาก EU กำหนดว่าประวัติการบริโภคต้องเป็นการบริโภคในกลุ่มสหภาพยุโรป

TECHNICAL REPORT

efsa

Administrative guidance on the submission of applications for authorisation of a novel food pursuant to Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283

European Food Safety Authority

Abstract

This document provides guidance on the submission of applications for authorisation of a novel food in the European Union within the scope of Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283 and according to Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2469. The guidance is currently composed of a completeness checklist which reflects the data requirements for applications on novel foods, as outlined in the EFSA 'Guidance on the preparation and presentation of an authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283' and four tables on the scientific studies provided in the technical dossier. EFSA recommends applicants to use the completeness checklist and the summary tables during the preparation of a technical dossier on novel foods to ensure that the criteria for the completeness of the data for risk assessment are met. The information contained in this document only applies to applications submitted under Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283.

© European Food Safety Authority, 2018

Key words: Application, submission, completeness check, novel foods, Regulation (EU) 2015/2283, Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2469

Requestor: European Food Safety Authority

Question number: EFSA-Q-2017-00291

Correspondence: NDA@efsa.europa.eu

สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้จาก "(Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2015 on novel foods)" URL: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1381

1.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบ หรือ Certificate of analysis: COA

ข้อมูลคุณภาพมาตรฐานวัตถุดิบต้องมีผลการตรวจสอบข้อมูลคุณภาพ และมาตรฐาน (specification) ด้านต่าง ๆ ของปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบหรือสารออกฤทธิ์หรือสารบ่งชี้ (marker) ของวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ (active Ingredients) รายละเอียดที่เกี่ยวกับคุณลักษณะ คุณสมบัติทางกายภาพ (เช่น เนื้อสัมผัส สี กลิ่น รส) ทางเคมี (เช่น ความแข็ง ค่ากรด-ด่าง น้ำหนักโมเลกุล ความชื้น) ซึ่งในหนึ่งผลิตภัณฑ์อาจมีวัตถุดิบมากกว่า 1 ชนิด จำเป็นต้องใส่ข้อมูลรายละเอียดข้อกำหนดคุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบทุกชนิดเพื่อพิจารณา

- แจ้งวัตถุประสงค์ของการใช้วัตถุดิบนั้น หรือขอให้แจ้งว่าวัตถุดิบนั้นสามารถใช้ในอาหารได้ เช่น food grade เป็นต้น

- อาจต้องระบุลักษณะของวัตถุดิบและวิธีการควบคุมความสม่ำเสมอของวัตถุดิบ กรณีวัตถุดิบเป็นพืช ให้แจ้งรายละเอียดการคัดเลือกวัตถุดิบที่ใช้ เพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ เช่น อายุพืชที่ใช้ ช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยว การขจัดสิ่งปนปลอม (เศษหิน ดิน ทราย พืชชนิดอื่นที่ปนมากับส่วนของพืชที่ไม่ต้องการใช้) การปนเปื้อนสารพิษตกค้าง โลหะหนัก ความชื้น เชื้อรา เป็นต้น

ตัวอย่าง

1. สารสกัดจากกระชายดำ วัตถุดิบคือ เหง้าของกระชายดำ (food grade) มีคุณภาพและมาตรฐานดังนี้

Test	Specification*	Method	Result**
Appearance	ลักษณะเป็นผง สีน้ำตาลเข้ม	Visual	ลักษณะเป็นผง สีน้ำตาลเข้ม
Loss on Drying	≤ 5%	Gravimetric	≤ 5%

Total active X (สารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดกระชายดำ)	≥ 0.200% or ≥ 2000 ppm	HPLC	2125 ppm
pH	6.5-7.5	pH meter	7.0

***** กำหนดคุณภาพมาตรฐานเพื่อควบคุมผลผลิต ** ผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

รส : ฝาด

กลิ่น : ไม่มีกลิ่น

อายุของวัตถุดิบก่อนเก็บเกี่ยว : 9-11 เดือน

วิธีการควบคุมคุณภาพ : เมื่อรับวัตถุดิบแล้ว ขจัดสิ่งสกปรกโดยการล้าง อบแห้ง และบดให้เป็นผงก่อนนำไปใช้ และเก็บวัตถุดิบที่ผ่านกรรมวิธีอบแห้ง บดผงแล้วไว้ในที่แห้ง

อายุการเก็บรักษาของวัตถุดิบ : 2 ปี

2. สารสกัดจากสาหร่ายทะเล วัตถุดิบคือ สาหร่ายทะเล มีคุณภาพและมาตรฐานดังนี้

Part of use	Whole plant
Characteristic	ผงสีน้ำตาลอ่อน (Light brown powder)
Taste	สาหร่าย (Seaweed)
Odor	สาหร่าย (Seaweed)
Shelf life	2 ปี
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	Fucoidan สารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล 2 สายพันธุ์ เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เชื่อมต่อกันอย่างน้อย 10 โมโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharides) มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ L-fucose และกลุ่ม sulfate ester

- ด้านจุลินทรีย์ ระบุชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ หรือระบุวิธีวิเคราะห์ ทั้งนี้ควรแสดงผลตรวจวิเคราะห์อย่างน้อย 3 รุ่นการผลิต ซึ่งเป็นการแสดงวิธีการที่ใช้ว่าสามารถทำการทดสอบซ้ำแล้วให้ผลเหมือนกัน และเพื่อใช้พิจารณาการควบคุมคุณภาพการผลิต

ตัวอย่าง

ผลการตรวจ Microbial Tests:

Parameter	Value			มาตรฐานอ้างอิง*	Method
	LOT1	LOT2	LOT3		
Staphylococcus aureus	.....	.....	.....	ตรวจไม่พบต่ออาหาร 0.1 กรัม	*Staphylococcus aureus* (reference.....)
Clostridium spp.	.....	.....	.....	ตรวจไม่พบต่ออาหาร 0.1 กรัม	*Clostridium spp.* (reference.....)
Salmonella spp.	.....	.....	.....	ตรวจไม่พบต่ออาหาร 25 กรัม	*Salmonella spp.* (reference.....)
Escherichia coli	.....	.....	.....	น้อยกว่า 3 ต่ออาหาร 1 กรัม โดยวิธี เอ็มพีเอ็น	*Escherichia coli* (reference.....)

* เป็นไปตามที่กำหนดไว้ในประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักฐานและเอกสารประกอบยื่นขออนุญาตใช้ฉลากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและคุณภาพหรือมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

- ด้านสารแปลกปน (impurities) หรือสารใด ๆ ที่ปนเปื้อน (contaminants) ในอาหารโดยไม่ได้ตั้งใจ ระบุสารสำคัญทั้งชนิดและปริมาณ รวมทั้งโลหะหนัก และสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร (pesticide residues) หรือระบุวิธีวิเคราะห์

ตัวอย่าง

กรณีผู้ผลิตใช้วัตถุดิบเป็นส่วนประกอบใน**ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร** ผลการตรวจโลหะหนัก (Heavy Metals):

ผลวิเคราะห์วัตถุดิบ		**มาตรฐานอ้างอิง***
Arsenic, As [mg/kg/OS] คิดเป็น total arsenic	< 0.1	< 2 ppm
Lead, Pb [mg/kg/OS]	< 0.05	< 1 ppm
Cadmium, Cd [mg/kg/OS]	< 0.01	< 0.3 ppm
Mercury, Hg [mg/kg/OS]	< 0.005	< 0.5 ppm

Method: DIN EN 15763:2010 (2010-04), mod., CON-PV 01274 (2017-12), ICP-MS

* ข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 414 (พ.ศ.2563) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ระบุปริมาณสูงสุดของโลหะหนักแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารกำหนดไว้ในบัญชีหมายเลข 1 แนบท้ายประกาศฯ เช่น แคดเมียมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและชาสมุนไพรกำหนดปริมาณสูงสุดคือ 0.3 ppm ในขณะที่ตะกั่วในชาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารกำหนดค่าสูงสุดคือ 0.5 ppm และ 1 ppm ตามลำดับ ส่วนสารหนูในชาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารกำหนดปริมาณสูงสุดคือ 0.2 ppm และ 2 ppm ตามลำดับโดยคิดเป็น total arsenic

- ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง ในที่นี้หมายถึงสารที่นำมาใช้ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ เพื่อให้เป็นไปตามเทคโนโลยีระหว่างการปรับคุณภาพหรือการแปรรูป เช่น นำมาใช้กระบวนการสกัดสาร (water, ethanol, citric acid เป็นต้น) การเติมแต่งสี สารที่ช่วยทำให้ความเสถียร และการคงทนของผลิตภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บ เป็นต้น เลือกนำมาใช้ในระดับที่ปลอดภัย

กรณีที่มีการใช้สารบางชนิดอาจมีการอธิบายกระบวนการกำจัดออกประกอบด้วยว่าอยู่ในขั้นตอนใดของกระบวนการผลิต รวมถึงมีการตรวจวิเคราะห์การหลงเหลืออยู่ กรณีนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์แล้วมีการเติมสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ให้ดูรายละเอียดแสดงดัง **หัวข้อ 1.5** กระบวนการผลิตส่วนประกอบของคู่มือฉบับนี้

- ผลการตรวจสารอื่น ๆ เช่น สารพิษที่เกิดขึ้น (ถ้ามี) ซึ่งอาจเกิดขึ้นเองระหว่างกระบวนการผลิตหรือเกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยมีผลตรวจว่าไม่หลงเหลือ ถ้าหลงเหลือต้องมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่มีความปลอดภัย เช่น พืช ก พบว่ามีสารก่อมะเร็งหลงเหลือ พืช ข พบว่ามีสารพิษที่มีผลต่อระบบหายใจและระบบประสาท เป็นต้น รวมถึงอาจเป็นผลการตรวจความคงตัว (ถ้ามี) ความไวต่อแสง การทนความร้อน

ซึ่งต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้อง อาจพิจารณาตามประเภทอาหาร เช่น ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

- ฉบับที่ 414 (พ.ศ. 2563) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ประกาศลงในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่ม 137 ตอนพิเศษ 118 ง ลงวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2563 และมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 16 พฤศจิกายน พ.ศ.2563
(http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2563/E/118/T_0017.PDF)

- ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง คำชี้แจงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ประกาศเมื่อ 4 มิถุนายน พ.ศ. 2563 (http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_fda/63_Contaminants.pdf)

- ฉบับที่ 364 (พ.ศ. 2556) เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P364.pdf)

- ฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547) เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร (http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/0E/00147362.PDF)

- ฉบับที่ 293 (พ.ศ. 2548) เรื่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2548/00179117.PDF)

- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 (พ.ศ. 2560) เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง (http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P387.PDF)

- ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักฐานและเอกสารประกอบการยื่นขออนุญาตใช้ฉลากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและคุณภาพหรือมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_fda/029mso179.pdf)

- หากเป็นพืชที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารควรตรวจสอบรายละเอียดและเงื่อนไขการใช้ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง รายชื่อพืชที่ใช้ได้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_fda/600810_name.pdf)

ทั้งนี้ ผลวิเคราะห์ข้างต้นต้องได้รับการรับรองจากหน่วยงานที่มีความน่าเชื่อถือ/ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรอง* หรือมีการดำเนินการบริหารจัดการด้านคุณภาพที่เทียบเท่า และแสดงความสามารถทางด้านเทคนิคที่เทียบเท่า มีวิธีการทดสอบที่เป็นมาตรฐานและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ข้อมูลผลการวิเคราะห์นี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทวนสอบความสอดคล้องและความเชื่อมั่น โดยจะนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลคุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบและ/หรือผลิตภัณฑ์

* ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองความสามารถการตรวจวิเคราะห์ (laboratory accreditation) ตามมาตรฐานสากล เช่น ISO/IEC 17025 ในรายการทดสอบ (test) ที่เสนอให้ประเมิน สำหรับเอกสารหลักฐานที่เกี่ยวกับผลการตรวจวิเคราะห์ของอาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองข้อปฏิบัติที่ดีในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice) (ส่วนราชการหรือสถาบันที่อย.ให้การยอมรับผลการตรวจวิเคราะห์อาหาร http://www.fda.moph.go.th/sites/food/Regulation/file_1.pdf)

1.5 กระบวนการผลิตส่วนประกอบ (วัตถุดิบ)

อธิบายขั้นตอนการเตรียม/วิธีการผลิต (แนบ flowchart ขั้นตอน และระบุชื่อสารเคมีในการผลิตและวัตถุประสงค์ในการใช้สารเคมีนั้น)

กรณีเป็นสารสกัดให้ระบุ

1) ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด

2) อัตราส่วนระหว่างปริมาณวัตถุดิบที่นำมาใช้ต่อการสกัดที่ได้ 1 กรัม (extract ratio) และชนิดของสารสำคัญหรือกลุ่มสารสำคัญที่ได้จากการสกัด

ตัวอย่าง

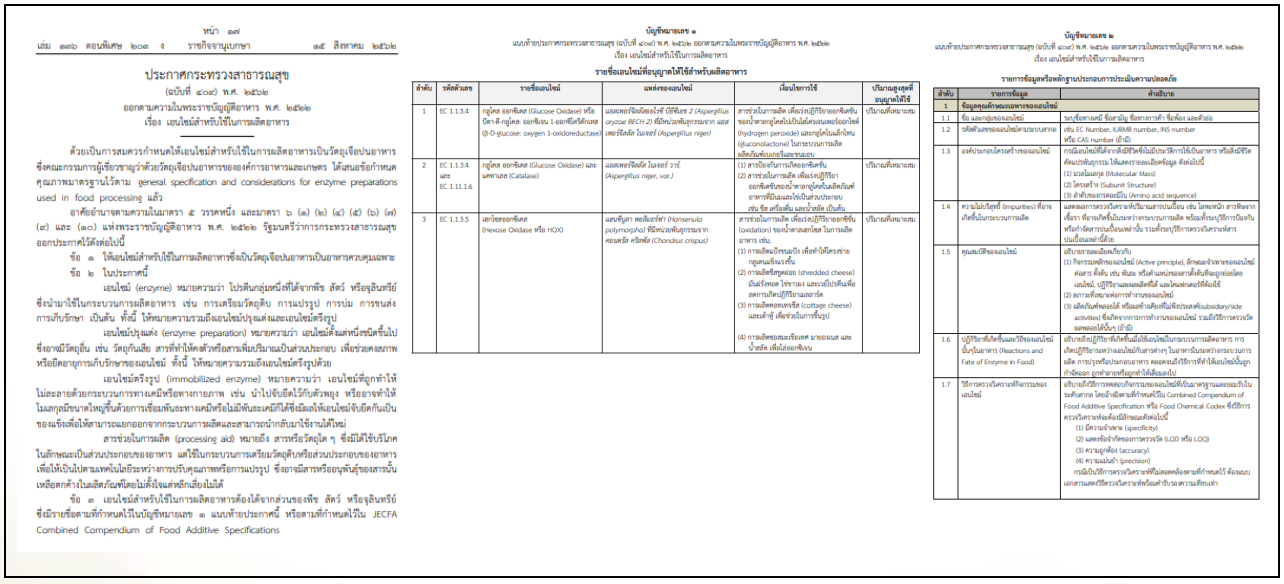
วัตถุดิบ	สารสำคัญที่ได้	อัตราส่วน (ต่อ 1 กรัม)	ชนิดของสารที่ใช้สกัด
Seaweed 1	flavonoids	50 : 1	ethanol 60% (W/V)
Seaweed 2	polysaccharide	100 : 1	citric acid
Mushroom A	beta-glucan	10 : 1	hot water

คำอธิบาย: อัตราส่วนสกัดของ **seaweed 1** เพื่อให้ได้ crude extract 1 กรัม สกัดจาก seaweed 1 ปริมาณ 50 กรัม อัตราส่วนสกัดของ **seaweed 2** เพื่อให้ได้ crude extract 1 กรัม สกัดจาก seaweed 2 ปริมาณ 100 กรัม และอัตราส่วนสกัดของ **mushroom A** เพื่อให้ได้ crude extract 1 กรัม สกัดจาก mushroom A ปริมาณ 10 กรัม

กรณีที่มีการใช้สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ได้แก่ เอนไซม์ สารเคมีต่าง ๆ ต้องระบุชนิด ปริมาณการใช้ และความเข้มข้นของสารเคมีด้วย

กรณีที่มีการใช้เอนไซม์ในการผลิตอาหารต้องได้จากส่วนของพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ซึ่งมีรายชื่อตามที่กำหนดไว้ในบัญชีหมายเลข 1 ตามแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 409) พ.ศ. 2562 เรื่อง เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหาร หรือตามที่กำหนดไว้ใน JECFA Combined Compendium of Food Additive Specifications

กรณีที่เอนไซม์ไม่มีรายชื่ออยู่ในบัญชีหมายเลข 1 และ JECFA Combined Compendium of Food Additive Specifications ข้างต้น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาพิจารณาอนุญาตตามคำแนะนำของคณะอนุกรรมการเพื่อศึกษาวิเคราะห์ปัญหาและวินิจฉัยในเชิงวิชาการเกี่ยวกับอาหาร โดยผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องส่งมอบรายงานผลการประเมินความปลอดภัย พร้อมรายละเอียดข้อมูลตามบัญชีหมายเลข 2 แนบท้ายประกาศนี้เพื่อประกอบการพิจารณาด้วย



หน้า ๑๙
เล่ม ๑๓๖ ตอนพิเศษ ๒๐๓ ง ราชกิจจานุเบกษา ๑๕ สิงหาคม ๒๕๖๒

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ ๔๐๙) พ.ศ. ๒๕๖๒
ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๑๐
เรื่อง เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหาร

ด้วยเป็นการสมควรกำหนดให้เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหารเป็นวัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญว่าด้วยวัตถุเจือปนอาหารขององค์การอาหารและเกษตร ได้เสนอชื่อกำหนดคุณภาพมาตรฐานไว้ตาม general specification and considerations for enzyme preparations used in food processing แล้ว

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่ง และมาตรา ๖ (๑) (๒) (๔) (๕) (๖) (๗) (๘) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหารซึ่งเป็นวัตถุเจือปนอาหารเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ ๒ ในประกาศนี้

เอนไซม์ (enzyme) หมายความว่า โปรตีนกลุ่มหนึ่งที่ได้จากพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ซึ่งนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร เช่น การเตรียมวัตถุดิบ การแปรรูป การบ่ม การขนส่ง การเก็บรักษา เป็นต้น ทั้งนี้ ให้หมายความรวมถึงเอนไซม์ปรุงแต่งและเอนไซม์ตรึงรูป

เอนไซม์ปรุงแต่ง (enzyme preparation) หมายความว่า เอนไซม์ตั้งแต่หนึ่งชนิดขึ้นไป ซึ่งอาจมีวัตถุดิบ เช่น วัตถุกันเสีย สารที่ทำให้คงตัวหรือสารเพิ่มปริมาณเป็นส่วนประกอบ เพื่อช่วยคงสภาพหรือยืดอายุการเก็บรักษาของเอนไซม์ ทั้งนี้ ให้หมายความรวมถึงเอนไซม์ตรึงรูปด้วย

เอนไซม์ตรึงรูป (immobilized enzyme) หมายความว่า เอนไซม์ที่ถูกทำให้ไม่ละลายด้วยกระบวนการทางเคมีหรือทางกายภาพ เช่น นำไปจับยึดไว้กับตัวพยุง หรือถูกทำให้ไม่สลายมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วยการเชื่อมพันธะทางเคมีหรือไม่มีพันธะเคมีก็ได้ซึ่งมีผลให้เอนไซม์จับยึดกันเป็นของแข็งเพื่อให้สามารถแยกออกจากกระบวนการผลิตและสามารถนำกลับมาใช้งานได้ใหม่

สารช่วยในการผลิต (processing aid) หมายถึง สารหรือวัตถุใด ๆ ซึ่งมิได้ใช้บริโภคในลักษณะเป็นส่วนประกอบของอาหาร แต่ใช้ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบหรือส่วนประกอบของอาหารเพื่อให้เป็นไปตามเทคนิคในอีกระหว่างการปรับคุณภาพหรือการแปรรูป ซึ่งอาจมีสารหรืออนุพันธุ์ของสารนั้นเหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์ใดอยู่ทั้งนี้จนแต่จะถึงเฉียงไม่ได้

ข้อ ๓ เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหารต้องได้จากส่วนของพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ซึ่งมีรายชื่อตามที่กำหนดไว้ในบัญชีหมายเลข ๑ แนบท้ายประกาศนี้ หรือตามที่กำหนดไว้ใน JECFA Combined Compendium of Food Additive Specifications

บัญชีหมายเลข ๑
แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๔๐๙) พ.ศ. ๒๕๖๒ ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๑๐
เรื่อง เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหาร

รายชื่อเอนไซม์ที่อนุญาตให้ใช้สำหรับผลิตอาหาร

ลำดับ	รหัสตัวเลข	รายชื่อเอนไซม์	แหล่งของเอนไซม์	เงื่อนไขการใช้	ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้
1	EC 1.1.3.4	กลูโคส ออกซิเดส (Glucose Oxidase) หรือ บีตา-ดี-กลูโคส ออกซิเจน 1-ออกซิโดรีดักเตส (β-D-glucose: oxygen 1-oxidoreductase)	แอสเพอร์จิลลัสโอรีซี บีมีพันธุ์ 2 (*Aspergillus oryzae BECH 2*) ที่มีหน่วยพันธุกรรมจาก แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ (*Aspergillus niger*)	สารช่วยในการผลิต เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคสไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) และกลูโคโนแลคโทน (Gluconolactone) ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ขนมปังและขนมอบ	ปริมาณที่เหมาะสม
2	EC 1.1.3.4 และ EC 1.11.1.6	กลูโคส ออกซิเดส (Glucose Oxidase) และ แคทาเลส (Catalase)	แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ วาร์. (*Aspergillus niger, var.*)	(1) สารช่วยในการเกิดออกซิเดชัน (2) สารช่วยในการผลิต เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคสในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ เช่น ขีด เครื่องดื่ม และน้ำผลไม้ เป็นต้น	ปริมาณที่เหมาะสม
3	EC 1.1.3.5	เฮกโซสออกซิเดส (Hexose Oxidase หรือ HOX)	แฮนจินูลา พอลิมอร์ฟา (*Honsenula polymorpha*) ที่มีหน่วยพันธุกรรมจาก คอนดรัส คริสพัส (*Chondrus crispus*)	สารช่วยในการผลิต เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิไดเซชัน (oxidation) ของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตอาหาร เช่น; (1) การผลิตเนื้อหมูแปรรูป เพื่อทำให้โครงสร้างกล้ามเนื้อคงรูป (2) การผลิตชีสชนิดฝอย (shredded cheese) เป็นเวลาไม่เกิน 3 ชั่วโมง และเป็นปริมาณที่จะผลิตการผลิตปฏิกิริยาแลคเตส (3) การผลิตชีสชนิดขาว (cottage cheese) และเต้าหู้ เพื่อช่วยในการตึงรูป (4) การผลิตขนมอบเพื่อยืดอายุ ขนมอบแห้ง และน้ำผลไม้ เพื่อไล่ออกซิเจน	ปริมาณที่เหมาะสม

บัญชีหมายเลข ๒
แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๔๐๙) พ.ศ. ๒๕๖๒ ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๑๐
เรื่อง เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหาร

รายการข้อมูลหรือหลักฐานประกอบการประเมินความปลอดภัย

ลำดับ	รายการข้อมูล	คำอธิบาย
1	ข้อมูลจุลินทรีย์ของเอนไซม์	
1.1	ชื่อ และกลุ่มของเอนไซม์	ระบุชื่อทางเคมี ชื่อสามัญ ชื่อทางการค้า ชื่อพ้อง และคำย่อ
1.2	รหัสตัวเลขของเอนไซม์ตามระบบสากล	เช่น EC Number, IUBMB number, INS number หรือ CAS number (ถ้ามี)
1.3	องค์ประกอบโครงสร้างของเอนไซม์	การมีเอนไซม์ที่สังเคราะห์ได้จากสิ่งมีชีวิตที่ดัดแปลงพันธุกรรม ให้แสดงรายละเอียดที่ดูด ดังต่อไปนี้ (1) มวลโมเลกุล (Molecular Mass) (2) โครงสร้าง (Subunit Structure) (3) ลำดับของกรดอะมิโน (Amino acid sequence)
1.4	ความไม่บริสุทธิ์ (Impurities) ที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิต	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อน เช่น โลหะหนัก สารพิษจากเชื้อรา ที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิต พร้อมทั้งระบุวิธีการป้องกันหรือกำจัดสารปนเปื้อนเหล่านั้น รวมทั้งระบุวิธีการตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนเหล่านี้ด้วย
1.5	คุณสมบัติของเอนไซม์	อธิบายรายละเอียดเกี่ยวกับ (1) กิจกรรมหลักของเอนไซม์ (Active principle), อัตราและค่าจลาศของเอนไซม์ ค่าเฉลา ค่าต้น เช่น พีเอช หรือค่าแห่งของสารที่ต้นที่ของเอนไซม์, ปฏิกิริยาและผลผลิตที่ได้ และไคเนต์กลศาสตร์ที่ต้องใช้ (2) สภาวะที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์ (3) เอนไซม์ที่ของเอสได้ หรือเอนซ์ที่เกี่ยวข้องที่ไม่ใช่ประสงค์(subsidiary/side activities) ซึ่งเกิดจากการทางทำงานของเอนไซม์ รวมถึงวิธีการตรวจวัดและผลของได้นั้นๆ (ถ้ามี)
1.6	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถีของเอนไซม์นั้นๆในอาหาร (Reactions and Fate of Enzyme in Food)	อธิบายถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตอาหาร การเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารต่างๆ ในอาหารในระหว่างกระบวนการผลิต การปรุงหรือประกอบอาหาร ตลอดจนถึงวิธีการที่ทำให้เอนไซม์นั้นถูกทำให้หมด (ยกตัวอย่างที่ถูกทำให้สิ้นสลาย)
1.7	วิธีการตรวจวิเคราะห์ของเอนไซม์	อธิบายถึงวิธีการทดสอบเกี่ยวกับเอนไซม์ที่เป็นมาตรฐานและแนะนำในระดับสากล โดยอ้างอิงตามที่กำหนดไว้ใน Combined Compendium of Food Additive Specification หรือ Food Chemical Codex ซึ่งวิธีการตรวจวิเคราะห์ต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้ (1) มีความจำเพาะ (specificity) (2) มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD หรือ LOQ) (3) ความถูกต้อง (accuracy) (4) ความแม่นยำ (precision) กรณีเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ตอดคล้องตามที่กำหนดไว้ ต้องแนบเอกสารผลการวิจัยตรวจวิเคราะห์หรือผลที่ได้ระบุความเหมาะสม

สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้จาก "ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 409) พ.ศ. 2562 เรื่อง เอนไซม์สำหรับใช้ในการผลิตอาหาร" URL: http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2562/E/203/T_0017.PDF

เอกสารหลักฐานที่ต้องการเพิ่มเติมเกี่ยวกับเอนไซม์ เพื่อประกอบการประเมินความปลอดภัยสำหรับอาหารใหม่แล้วแต่กรณี ดังนี้

1. กรณีที่ใช้เอนไซม์ซึ่งผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรม

เอกสารหลักฐานที่ต้องการเพิ่มเติม	ประเด็นที่ต้องพิจารณาจากเอกสาร
1) เอกสารเกี่ยวกับผลการประเมินความปลอดภัยของเอนไซม์ เช่น - GRAS Letter และเอกสารประเมินความปลอดภัยของ USFDA - Patent (สิทธิบัตร) - EFSA report/opinion - FSANZ report/opinion	1. พิจารณาการควบคุมกระบวนการผลิตเอนไซม์ที่จะต้องไม่มีการปนเปื้อนเซลล์หรือชิ้นส่วนของ DNA ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์นั้น ๆ 2. พิจารณาโอกาสในการเป็นสารก่อภูมิแพ้ของเอนไซม์ที่ใช้ 3. พิจารณาว่าเอนไซม์มีความปลอดภัย สามารถใช้เป็นสารช่วยในการผลิตอาหารได้
2) มีหลักฐานแสดงขั้นตอนการผลิตอาหารที่ต้องแสดงรูปแบบ/ปริมาณของเอนไซม์ที่นำมาใช้	พิจารณาการนำรูปแบบเอนไซม์ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร และมีกระบวนการควบคุม แล้วแต่กรณี ดังนี้ - กรณีรูปแบบเป็น immobilized enzyme ที่สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ (re-use) ให้พิจารณาว่าต้องมีการควบคุมการใช้เอนไซม์ที่ความเหมาะสมในการนำมาใช้ใหม่ โดยไม่หลุดติดมาในผลิตภัณฑ์อาหาร - กรณีรูปแบบเป็น enzyme preparation ให้พิจารณาปริมาณที่ใช้ และต้องมีกระบวนการทำลายโปรตีน (denature) หรือกำจัดโปรตีนออกจากผลิตภัณฑ์อาหาร

2. ใช้เอนไซม์ที่ไม่ได้ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรม แบ่งได้ 2 กรณีย่อย ดังนี้

2.1 กรณีที่เชื้อจุลินทรีย์มีประวัติการใช้ในการผลิตอาหาร ให้แสดงข้อมูล ดังนี้

เอกสารหลักฐานที่ต้องการเพิ่มเติม	ประเด็นที่ต้องพิจารณาจากเอกสาร
1) ข้อมูลเกี่ยวกับประวัติการใช้เชื้อจุลินทรีย์นั้นในการผลิตอาหาร	พิจารณาว่าเชื้อจุลินทรีย์นั้นมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่จะนำมาใช้ได้ตามธรรมชาติ รวมถึงความปลอดภัยของเชื้อจุลินทรีย์นั้น ว่าไม่เป็นจุลินทรีย์ก่อโรค และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค
2) มีหลักฐานแสดงขั้นตอนการผลิตอาหารที่ต้องแสดงรูปแบบ/ปริมาณของเอนไซม์ที่นำมาใช้	พิจารณาการนำรูปแบบเอนไซม์ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร และมีกระบวนการควบคุม แล้วแต่กรณี ดังนี้ - กรณีรูปแบบเป็น immobilized enzyme ที่สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ (re-use) ให้พิจารณาว่าต้องมีการควบคุมการใช้เอนไซม์ที่ความเหมาะสมในการนำมาใช้ใหม่ โดยไม่หลุดติดมาในผลิตภัณฑ์อาหาร - กรณีรูปแบบเป็น enzyme preparation ให้พิจารณาปริมาณที่ใช้ และต้องมีกระบวนการทำลายโปรตีน (denature) หรือกำจัดโปรตีนออกจากผลิตภัณฑ์อาหาร

2.2 กรณีที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่มีประวัติการใช้ในการผลิตอาหาร ต้องแสดงเอกสาร/หลักฐาน ดังนี้

เอกสารหลักฐานที่ต้องการเพิ่มเติม	ประเด็นที่ต้องพิจารณาจากเอกสาร
1) เอกสารเกี่ยวกับผลการประเมินความปลอดภัยของเอนไซม์ เช่น - GRAS Letter และเอกสารประเมินความปลอดภัยของ USFDA - Patent (สิทธิบัตร) - EFSA report/opinion - FSANZ report/opinion	1. ความปลอดภัยของเชื้อจุลินทรีย์นั้นว่าไม่เป็นจุลินทรีย์ก่อโรค และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค 2. พิจารณาโอกาสในการเป็นสารก่อภูมิแพ้ของเอนไซม์ที่ใช้ 3. พิจารณาว่าเอนไซม์มีความปลอดภัย สามารถใช้เป็นสารช่วยในการผลิตอาหารได้
2) มีหลักฐานแสดงขั้นตอนการผลิตอาหารที่ต้องแสดงรูปแบบ/ปริมาณของเอนไซม์ที่นำมาใช้	พิจารณาการนำรูปแบบเอนไซม์ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร และมีกระบวนการควบคุม แล้วแต่กรณี ดังนี้ - กรณีรูปแบบเป็น immobilized enzyme ที่สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ (re-use) ให้พิจารณาว่าต้องมีการควบคุมการใช้เอนไซม์ที่ความเหมาะสมในการนำมาใช้ใหม่ โดยไม่หลุดติดมาในผลิตภัณฑ์อาหาร - กรณีรูปแบบเป็น enzyme preparation ให้พิจารณาปริมาณที่ใช้ และต้องมีกระบวนการทำลายโปรตีน (denature) หรือกำจัดโปรตีนออกจากผลิตภัณฑ์อาหาร

กรณีที่ผลิตภัณฑ์มีการเติมสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม (Genetically Modified Organism; GMO) ในผลิตภัณฑ์ต้องนำไปประเมินความปลอดภัยที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTECH) เท่านั้น โดยต้องประเมินข้อมูลด้านโภชนาการ ด้านการก่อพิษ ด้านการก่อภูมิแพ้ของสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม เพื่อให้เกิดความปลอดภัย สร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภค และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของกลไกการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารที่ได้จากเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่

สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้จาก "คู่มือการจัดทำรายงานการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารของพืชดัดแปลงพันธุกรรม" URL: http://www.biotec.or.th/biosafety/images/document/G05-report4%20complete.pdf

1.6 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์

หมายถึงผลการตรวจสอบข้อมูลคุณภาพ และมาตรฐาน (specification) ทางด้านต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบ ผลการตรวจด้านจุลินทรีย์ ผลการตรวจสารแปลกปน ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง ผลการตรวจสารอื่น ๆ เช่น สารพิษที่เกิดขึ้น (ถ้ามี) เช่นเดียวกับ **หัวข้อ 1.4** ของคู่มือฉบับนี้ โดยเป็นข้อมูลของผลิตภัณฑ์ หรือ final product

ตัวอย่าง

1. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสารสกัดจากกระชายดำ มีคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

Test/Assay:	**Results:**	**Limits**:**
Appearance:	Conforms	Clear coated white oval tablet
Size:	Conforms	16X9 mm
Average weight:	1388 mg	1337-1477 mg
Assay*:		
- Active X	470 mg	400-750 mg
- Active Y	5.1 mcg	4.0-5.5 mcg
* Source of flavonoids, ** ข้อกำหนดคุณภาพมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ที่ผู้ผลิตกำหนด		

2. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสารสกัดจากสาหร่าย มีคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

Common Name	**Constituents**	**Amount**	**Quantity**
Seaweed I	Fucoidan	85%	150 mg
Seaweed II	Fucoidan	70%	62.5 mg
Mushroom A	Beta-glucan	0.08%	37.5 mg

In-active Ingredients

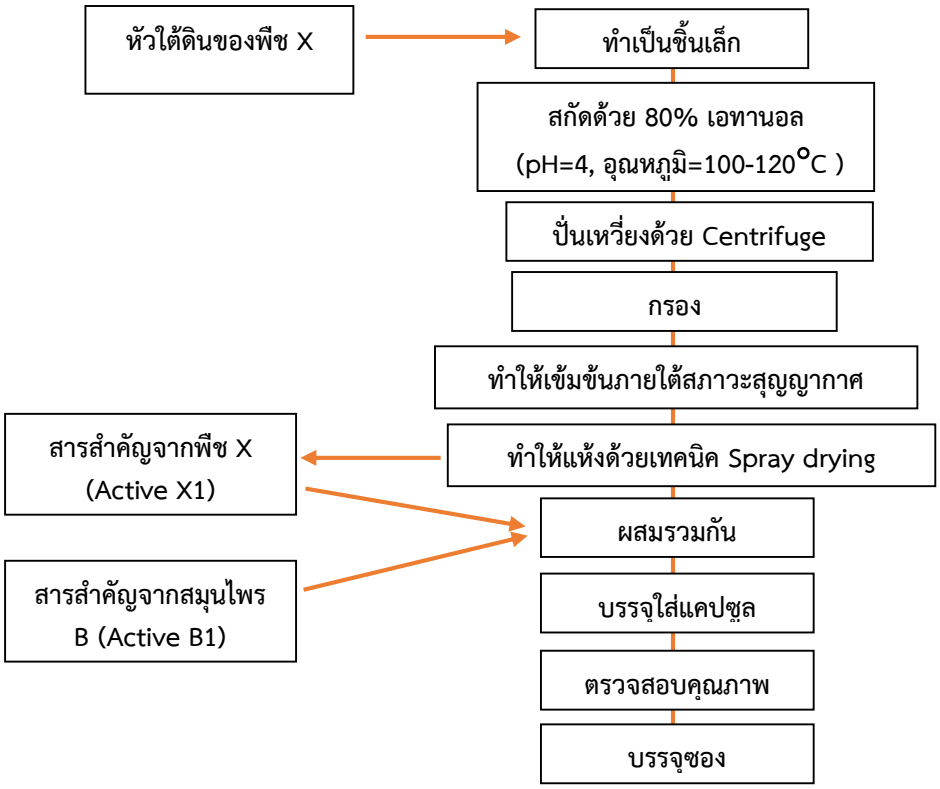
Common Name	**Proper Name**	**Source information**	**Purpose**	**Quantity**
HPMC, Carbohydrate gum, Hydroxypropylmethy cellulose, Hypromellose	Hydroxypropylmethy cellulose	Vegetable cellulose	Capsule Shell	60 mg

Direction of use: adult; take orally 1 capsule daily with hot or warm water (250 mg/capsule)
Country of producer: JAPAN

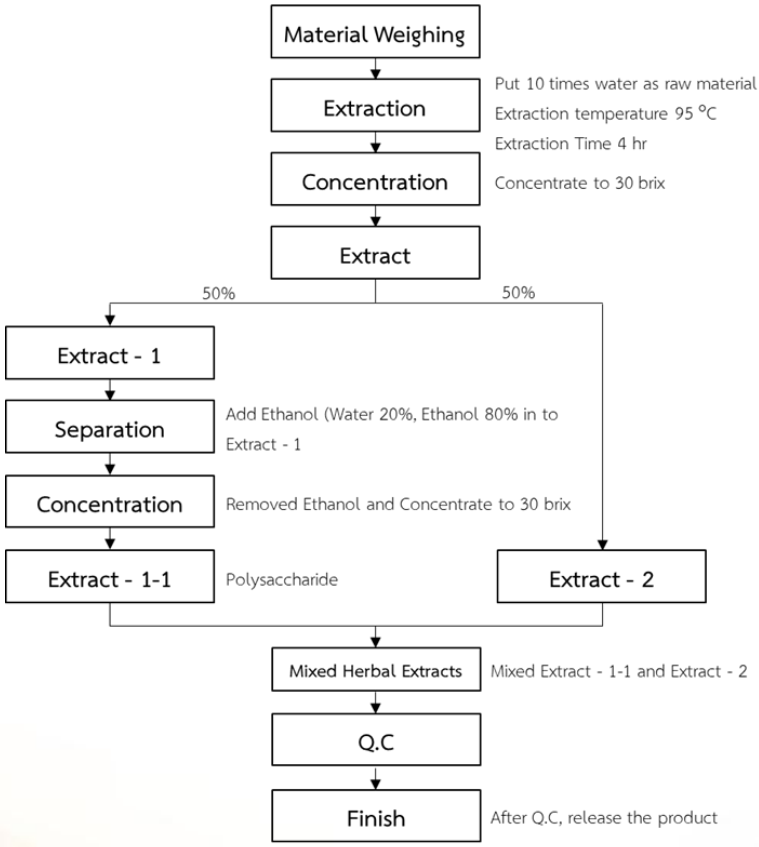
- อธิบายขั้นตอนการผลิตอย่างละเอียด (แนบ flowchart ขั้นตอน และระบุชื่อสารเคมีในการผลิต และวัตถุประสงค์ในการใช้สารเคมีนั้น)

ตัวอย่าง

1. กระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์สารสกัดพืชXผสมสมุนไพรB



2. กระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิด



1.7 คำแนะนำในการบริโภค (เอกสารแนบที่...)

ระบุปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภคตามระบบเมตริก ความถี่ของการบริโภค (จำนวนครั้งในการบริโภคต่อวัน)

รูปแบบการบริโภค *ตัวอย่างเช่น*
- ชงดื่มในน้ำที่อุณหภูมิห้องหรือน้ำร้อน ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
- ละลายผลิตภัณฑ์ 1 ซอง ในน้ำ 200 มิลลิลิตร
- แช่ในน้ำร้อน ปริมาณ 180 มิลลิลิตร นาน 3-5 นาที

ความถี่ (ครั้งต่อวัน) *ตัวอย่างเช่น*
- วันละ 1 ครั้ง หลังอาหารเช้าทันที
- วันละ 2 ครั้ง หลังอาหารเช้า เย็น
- วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน
- วันละ 2 แคปซูล หลังอาหารเช้าเย็น (ครั้งละ 1 แคปซูล)
- รับประทานครั้งละ 2 แคปซูล (1 ครั้งต่อวัน)

1.8 สภาวะการเก็บรักษา และอายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ให้สอดคล้องกับข้อเท็จจริงของผลิตภัณฑ์ หรือให้เป็นไปตามอายุการเก็บรักษาของวัตถุดิบที่ใช้ ที่มีอายุการเก็บรักษาน้อยที่สุด *ตัวอย่างเช่น*

- 2 ปี นับจากวันที่ผลิต
- อาหารที่มีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 90 วัน ให้แสดง “วัน เดือน และปี ” โดยมีข้อความว่า "ควรบริโภคก่อน" กำกับไว้
- อาหารที่มีอายุการเก็บรักษาเกิน 90 วัน ให้แสดง “วัน เดือน และปี ” หรือ “เดือน และปี ” โดยมีข้อความว่า "ควรบริโภคก่อน" กำกับไว้
- เก็บไว้ที่อุณภูมิ 4 °C เก็บในที่ร่มปราศจากแสงแดด

1.9 ข้อความเตือน/คำแนะนำในการบริโภค (ถ้ามี)

ตัวอย่างคำเตือนที่อ้างอิงจากรายงานการศึกษา สืบค้นจากมาตรฐานการอนุญาตของประเทศต่าง ๆ เช่น สหรัฐอเมริกา (US FDA), ออสเตรเลีย (Australian Government) *ตัวอย่างเช่น*

- US FDA แนะนำให้รับประทาน omega-3-fatty acid ไม่เกิน 2 กรัม/วัน โดยการบริโภคเพื่อรักษาภาวะ hypertriglyceridemia ต้องอยู่ภายใต้การดูแลของแพทย์
- ผลิตภัณฑ์นี้ผลิตมาจากน้ำมันปลา (fish oil) ไม่เหมาะสำหรับผู้บริโภคที่มีอาการแพ้ fish และ shellfish
- FDA ประเทศออสเตรเลีย แนะนำให้เพิ่มคำเตือนว่า ผลิตภัณฑ์นี้ผลิตมาจากน้ำมันปลา (fish oil) ไม่เหมาะสำหรับผู้ที่มีความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือด ผู้ที่รับประทานยาป้องกันการแข็งตัวของเลือดควรปรึกษาแพทย์ก่อนใช้

CONCLUSIONS

Collins *et al.*, 2008

There are important qualitative and quantitative differences between the FDA-approved P-OM3 and dietary supplement omega-3 fatty acids. Both consumers and medical professionals should be aware that dietary supplement omega-3 fatty acids may not have the same efficacy and safety profile as P-OM3. Notably, the efficacy and safety of P-OM3 have been demonstrated in randomized, placebo-controlled trials. The FDA has advised that no more than 2 g/day of EPA and DHA be provided by dietary supplements. Effective dosages of EPA and DHA for the treatment of hypertriglyceridemia should be undertaken only under a physician's care.

Australian Government
Department of Health and Ageing
Therapeutic Goods Administration

PRECAUTIONS

During treatment with Omacor® there is a fall in thromboxane A2 production. No significant effect has been observed on the other coagulation factors. Some studies with omega-3-acids demonstrated a prolongation of bleeding time, but the bleeding time reported in these studies has not exceeded normal limits and did not produce clinically significant bleeding episodes.

Clinical studies have not been done to thoroughly examine the combined effect of Omacor® and concomitant anticoagulants. Patients receiving treatment with Omacor® and an anticoagulant or other drug affecting coagulation (e.g., acetylsalicylic acid, warfarin, and coumarin) should be

ตัวอย่างการแสดงคำเตือนและข้อมูลผลิตภัณฑ์ จากประกาศของกระทรวงสาธารณสุข เช่น

1) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร กรณีที่มีการเติมวัตถุดิบดังต่อไปนี้ต้องเติมข้อความดังที่แสดง

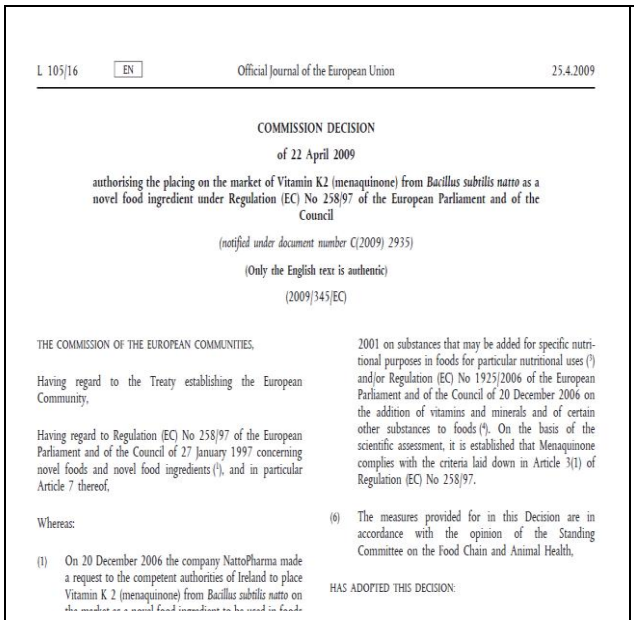
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทุกชนิด	“เด็กและสตรีมีครรภ์ ไม่ควรรับประทาน”
เกสรดอกไม้	ผู้ที่แพ้ละอองเกสรดอกไม้ไม่ควรรับประทาน
ว่านหางจระเข้	1) เด็กไม่ควรรับประทาน 2) ไม่ใช่อาหารทางการแพทย์ 3) หยุดบริโภคเมื่อมีอาการผิดปกติ
สารสกัดจากใบแป๊ะก๊วยและผลิตภัณฑ์ที่มีใบแป๊ะก๊วย	อาจมีผลให้เลือดแข็งตัวช้า
ขิงหรือสารสกัดจากขิง	เด็ก สตรีมีครรภ์ และผู้ที่เป็นโรคนิ่วไม่ควรรับประทาน
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล	- ไม่ใช่อาหารสำหรับควบคุมน้ำหนัก กรณีใช้ แอสปาร์เทม ต้องแสดงข้อความ “ ผู้ที่มีสภาวะฟินิลคีโตนูเรีย: ผลิตภัณฑ์นี้มีฟินิลอลานีน”

2) การแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 367) พ.ศ. 2557

เครื่องดื่มที่ผสมกาเฟอีน	ห้ามดื่มเกินวันละ 2 ขวด เพราะหัวใจจะสั่น นอนไม่หลับ เด็กและสตรีมีครรภ์ไม่ควรดื่ม ผู้ป่วยปรึกษาแพทย์ก่อน"
ข้อมูลแสดงสำหรับผู้แพ้อาหาร	กรณีมีการใช้หรืออาจปนเปื้อนในกระบวนการผลิตของส่วนประกอบดังต่อไปนี้ - ธัญพืชที่มีส่วนประกอบของกลูเตน ได้แก่ ข้าวสาลี ไรน์ บาร์เลย์ โอ๊ต สเปลท์ หรือสายพันธุ์ลูกผสมของธัญพืชดังกล่าว และผลิตภัณฑ์จากธัญพืชที่มีส่วนประกอบของกลูเตนดังกล่าว - สัตว์น้ำที่มีเปลือกแข็ง เช่น ปู กุ้ง กั้ง ลอบสเตอร์ เป็นต้น และผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำที่มีเปลือกแข็ง - ไข่ และผลิตภัณฑ์จากไข่ - ปลา และผลิตภัณฑ์จากปลา - ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง ถั่วเหลือง - นม และผลิตภัณฑ์จากนม รวมถึงแลคโตส - ถั่วที่มีเปลือกแข็ง และผลิตภัณฑ์จากถั่วที่มีเปลือกแข็ง เช่น อัลมอนด์ วอลนัท พีแคน เป็นต้น - มีการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์เป็นสารฟอกสีในผลิตภัณฑ์ (สารก่อภูมิไวเกิน)

1.10 ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี)

สารที่ประเมินหากมีการอนุญาตจำหน่ายแล้วในต่างประเทศผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าสามารถยื่นเอกสารรายงานหรือข้อคิดเห็นเชิงวิชาการ (scientific opinion) ที่น่าเชื่อถือจากหน่วยประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศเพื่อประกอบการพิจารณาด้านความปลอดภัยได้ เช่น CODEX Alimentarius Commission, European Food Safety Authority (EFSA), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN), Food Standard Australia New Zealand (FSANZ), EU commission decision, GRAS notice เป็นต้น ตัวอย่างแสดงดัง**ภาพที่ 2**



L 105/16 EN Official Journal of the European Union 25.4.2009

COMMISSION DECISION

of 22 April 2009

authorising the placing on the market of Vitamin K2 (menaquinone) from *Bacillus subtilis natto* as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council

(notified under document number C(2009) 2935)

(Only the English text is authentic)

(2009/345/EC)

THE COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES,

Having regard to the Treaty establishing the European Community,

Having regard to Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients (1), and in particular Article 7 thereof,

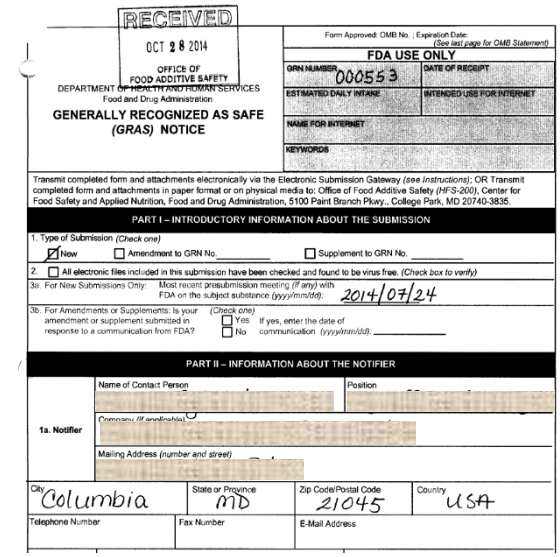
Whereas:

(1) On 20 December 2006 the company NattoPharma made a request to the competent authorities of Ireland to place Vitamin K 2 (menaquinone) from *Bacillus subtilis natto* on

2001 on substances that may be added for specific nutritional purposes in foods for particular nutritional uses (3) and/or Regulation (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on the addition of vitamins and minerals and of certain other substances to foods (4). On the basis of the scientific assessment, it is established that Menaquinone complies with the criteria laid down in Article 3(1) of Regulation (EC) No 258/97.

(6) The measures provided for in this Decision are in accordance with the opinion of the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health,

HAS ADOPTED THIS DECISION:



RECEIVED
OCT 28 2014
OFFICE OF FOOD ADDITIVE SAFETY

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
Food and Drug Administration

GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE (GRAS) NOTICE

Form Approved: OMB No. ; Expiration Date: *(See last page for OMB Statement)*

FDA USE ONLY

GRN NUMBER 000553 | DATE OF RECEIPT

ESTIMATED DAILY INTAKE | INTENDED USE FOR INTERNET

NAME FOR INTERNET

KEYWORDS

Transmit completed form and attachments electronically via the Electronic Submission Gateway *(see instructions)*; OR Transmit completed form and attachments in paper format or on physical media to: Office of Food Additive Safety *(HFS-200)*, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, 5100 Paint Branch Pkwy., College Park, MD 20740-3835.

PART I – INTRODUCTORY INFORMATION ABOUT THE SUBMISSION

1. Type of Submission *(Check one)*
☑ New ☐ Amendment to GRN No. _____ ☐ Supplement to GRN No. _____

2. ☐ All electronic files included in this submission have been checked and found to be virus free. *(Check box to verify)*

3a. For New Submissions Only: Most recent presubmission meeting *(if any)* with FDA on the subject substance *(yyyy/mm/dd)*: 2014/07/24

3b. For Amendments or Supplements: Is your amendment or supplement submitted in response to a communication from FDA? *(Check one)* ☐ Yes ☐ No If yes, enter the date of communication *(yyyy/mm/dd)*: _____

PART II – INFORMATION ABOUT THE NOTIFIER

1a. Notifier

Name of Contact Person | Position

Company *(if applicable)*

Mailing Address *(number and street)*

City Columbia | State or Province MD | Zip Code/Postal Code 21045 | Country USA

Telephone Number | Fax Number | E-Mail Address

SCIENTIFIC OPINION

EFSA Journal

ADOPTED: 18 December 2019

doi: 10.2903/j.efsa.2020.5993

Safety of astaxanthin for its use as a novel food in food supplements

EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Dominique Turck, Jacqueline Castenmiller, Stefaan de Henauw, Karen Ildico Hirsch-Ernst, John Kearney, Alexandre Maciuk, Inge Mangelsdorf, Harry J McArdle, Androniki Naska, Carmen Pelaez, Kristina Pentieva, Alfonso Siani, Frank Thies, Sophia Tsabouri, Marco Vinceti, Francesco Cubadda, Karl-Heinz Engel, Thomas Frenzel, Marina Heinonen, Rosangela Marchelli, Monika Neuhäuser-Berthold, Morten Poulsen, Yolanda Sanz, Josef Rudolf Schlatter, Henk van Loveren, Reinhard Ackel, Wolfgang Gelbmann, Hans Steinkellner and Hélène Katrine Knutsen

Abstract

Following a request from the European Commission, the Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA) was asked to deliver an opinion on the safety of astaxanthin when used as a novel food in food supplements at maximum levels of 8 mg/day, taking into account the overall cumulative intake of astaxanthin from all food sources. In 2014, the NDA Panel assessed the safety of the novel astaxanthin-rich ingredient derived from microalgae *Haematococcus pluvialis* in the context of an application submitted under Regulation (EC) No 258/1997. In that opinion, the NDA Panel considered that the acceptable daily intake (ADI) for astaxanthin was 0.034 mg/kg body weight (bw) set by the EFSA FEEDAP Panel in 2014. In 2019, the FEEDAP Panel adopted an opinion which concerned the renewal of the authorisation of dimethyldisuccinate-astaxanthin and a new use of the additive for crustaceans and other fish than salmonids. In that assessment, the FEEDAP Panel derived a new ADI of 0.2 mg astaxanthin/kg bw which replaced the ADI of 0.034 mg/kg bw established in 2014. By taking into account an updated exposure assessment for astaxanthin from the background diet (fish and crustaceans) in combination with 8 mg from food supplements, the NDA Panel concludes that (i) such combined exposure to astaxanthin is safe for adults, (ii) 14 to < 18 years old adolescents reach the ADI, and (iii) the ADI is exceeded by 28% in children aged 10 to < 14 years and up to 524% in infants aged 4–6 months.

© 2020 European Food Safety Authority. *EFSA Journal* published by John Wiley and Sons Ltd on behalf of European Food Safety Authority.

Keywords: astaxanthin, xanthophylls, carotenoids, *Haematococcus pluvialis*, acceptable daily intake, ADI

Requestors: European Commission

Question numbers: EFSA-Q-2018-00247

Correspondence: nda@efsa.europa.eu

ภาพที่ 2 ตัวอย่างเอกสารรายงานหรือข้อคิดเห็นเชิงวิชาการ (scientific opinion) จากหน่วยงานที่เป็นสากลหรือหน่วยงานต่างประเทศ

2. ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ

2.1 ลักษณะทางชีวเคมีของสาร

2.1.1 การดูดซึม การกระจาย และการขับออกจากร่างกาย กระบวนการจัดการกับสารพิษเมื่อเข้าสู่ร่างกาย ประกอบด้วยกลไกต่าง ๆ เช่น การดูดซึม การกระจาย เมแทบอลิซึม และการขับออก เรียกโดยย่อว่า ADME (ย่อมาจากคำว่า Absorption, Distribution, Metabolism, และ Excretion) จะเป็นส่วนสำคัญของการอธิบายลักษณะของอันตรายเพื่อสามารถประเมินความเสี่ยงจากการที่สารพิษเข้าสู่ร่างกาย รวมถึงอัตราและวิธีการขับถ่ายสารเหล่านี้ออกไปจากร่างกาย

การดูดซึม (absorption)

การดูดซึมสารเคมีในอาหาร เป็นกระบวนการที่สารเคมีถูกเคลื่อนย้ายผ่านผนังทางเดินอาหารเข้าไปสู่ระบบการไหลเวียนโลหิต ส่วนคำว่า ชีวประสิทธิผล (bioavailability) หมายถึง ร้อยละของปริมาณสารที่พบในระบบไหลเวียนโลหิตต่อสารประกอบตั้งต้น ทั้งนี้เนื่องจากสารที่ถูกดูดซึมอาจอยู่ในรูปเมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นภายในช่องว่างหรือผนังของระบบทางเดินอาหาร แต่ไม่ได้อยู่ในรูปสารประกอบตั้งต้น ตัวขนส่งสารอาหารที่รู้จักกันดี คือ ไกลโคโปรตีนพี (P-glycoprotein) จะขนส่งโมเลกุลของสารอินทรีย์แปลกปลอมที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจากไซโตซอลของเอนเทอโรไซต์ไปสู่ช่องระบบทางเดินอาหาร ข้อมูลของการดูดซึมจะเกี่ยวข้องกับอัตราที่สารเคมีถูกส่งไปยังระบบไหลเวียนโลหิต หรือปริมาณสารที่เข้าสู่ระบบไหลเวียนหรือถูกขับออกทางปัสสาวะ ทั้งนี้เป็นได้ทั้งสารที่เป็นสารตั้งต้นหรือเมแทบอไลท์ กระบวนการดูดซึมอาจจะมีความแตกต่างกันระหว่างชนิดของสัตว์ที่นำมาทดสอบหรือความแตกต่างระหว่างบุคคลเมื่อทำการทดสอบในมนุษย์ ดังนั้นการอธิบายลักษณะของอันตรายจะต้องนำค่าที่เรียกว่าค่าความแปรปรวน (uncertainty) มาพิจารณาด้วย

การกระจาย (distribution)

การกระจายเป็นกระบวนการที่สารหรือเมแทบอไลท์ของสารปรากฏอยู่ในระบบไหลเวียนโลหิตที่เคลื่อนที่ไปทั่วร่างกาย และแยกออกเป็นส่วน ๆ หรือออกจากเนื้อเยื่อร่างกายที่ต่างกัน การเคลื่อนที่จากระบบไหลเวียนไปสู่เซลล์เนื้อเยื่อพบว่าโมเลกุลที่ละลายในไขมันจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีกว่าโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ดีและมีขนาดใหญ่ การเข้าไปของโมเลกุลสู่บางอวัยวะโดยเฉพาะสมองจะถูกจำกัดอย่างมากต่อโมเลกุลที่ละลายในไขมัน โดยมีตัวขวางกั้นที่เรียกว่า blood–brain barrier ซึ่งประกอบด้วยไกลโคโปรตีนพี (P-glycoprotein) ทำหน้าที่เป็นตัวขนส่งแบบแอ็คทีพ (active transport) และมีรูขนาดเล็กมากที่เยื่อหุ้มเซลล์เป็นตัวกั้นขวาง ทั้งนี้ตัวขนส่งแบบแอ็คทีพของเซลล์เยื่อบุผิวของสมองจะมีความสำคัญในการปล่อยให้สารอาหารที่สำคัญ เช่น กลูโคสและกรดอะมิโน เข้าสู่สมองและไม่ให้สารเคมีที่ไม่ใช่สารอาหารเข้าสู่สมอง

การขับออก (excretion)

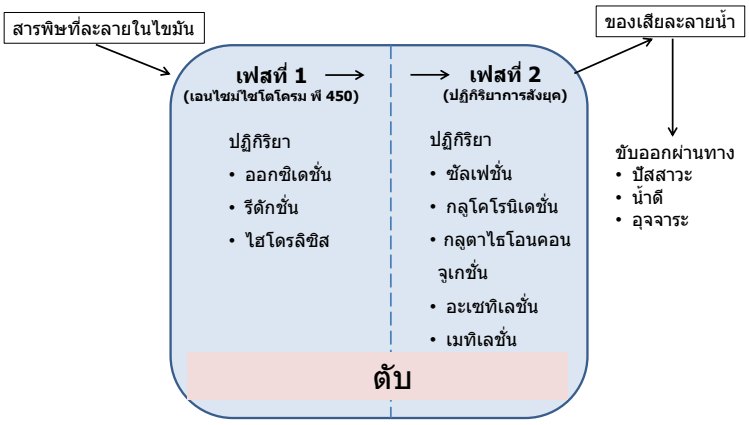
การขับออกเป็นกระบวนการกำจัดสารหรือเมแทบอไลท์ของสารจากระบบไหลเวียนของร่างกายเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเสียขับออกจากร่างกาย เช่น ปัสสาวะ อุจจาระ และอากาศที่ถูกปล่อยออกจากร่างกาย ช่องทางหลักของการกำจัดสารแปลกปลอมที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและละลายน้ำได้ดีจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ส่วนโมเลกุลที่ละลายในไขมันจะถูกดูดซึมกลับจากท่อไต และกลับเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต นั่นเป็นเหตุให้สารที่ละลายในไขมันมีแนวโน้มที่ยังคงค้างอยู่ในร่างกายและต้องผ่านการ

เปลี่ยนแปลงก่อนการกำจัดออก วิถีทางที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการกำจัดสารออกจากร่างกายคือ การกำจัดออกทางน้ำดีซึ่งโมเลกุลของสารที่จะกำจัดออกจะรวมตัวกับส่วนประกอบหยดไขมันขนาดเล็ก ที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) ของน้ำดีและผ่านเข้าสู่ช่องของระบบทางเดินอาหาร สำหรับสารประกอบที่กำจัดออกทางอากาศได้จะเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและระเหยได้ หรือเป็นส่วนย่อยที่แตกออกจากสารที่มีขนาดใหญ่ การที่สารเคมีจะถูกกำจัดออกโดยร่างกายสามารถวัดผลรวมของการกำจัดออกจากการวัดระดับที่ลดลงของสารนั้นในพลาสม่าเมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสามารถวัดผลรวมจากกระบวนการต่าง ๆ ของการกำจัดออกของสารนั้น ๆ เช่น คำนวณผลจากเมแทบอลิซึม+การขับออกทางปัสสาวะ+อากาศที่ขับออก+ช่องทางการขับออกอื่น ๆ

2.1.2 การเปลี่ยนแปลงของสาร (biotransformation)

เมแทบอลิซึมหรือไบโอทรานซ์ฟอร์เมชัน (biotransformation) เป็นกระบวนการซึ่งสารที่ได้รับเข้าไปถูกเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นโมเลกุลที่ถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ เป็นการอธิบายกระบวนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย ในหลายกรณีของการเกิดพิษในอวัยวะเป้าหมายสามารถเกิดขึ้นจากการออกฤทธิ์ของสารเมแทบอไลท์มากกว่าการออกฤทธิ์ของสารประกอบตั้งต้น การเมแทบอลิซึมของสารจึงกลายมาเป็นส่วนที่สำคัญของรูปแบบการแสดงออกของการเกิดพิษ ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองและความแปรปรวนต่อความไวของมนุษย์ต่อสารเคมีล้วนเป็นปัจจัยที่มีผล

กระบวนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกายแสดงดัง**ภาพที่ 3** เริ่มจากสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งจะถูกเปลี่ยนโครงสร้างโดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดสารพิษในเฟสที่ 1 และเฟสที่ 2 ที่พบในตับเป็นส่วนใหญ่ ในเฟสที่ 1 กระบวนการเมแทบอลิซึมเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน หรือไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของโมเลกุลกับการสร้างกลุ่มที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาในเฟสที่ 2 หรือปฏิกิริยาการสังยุค (conjugation reaction) ในเฟสที่ 2 เป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังยุคของสารแปลกปลอมหรือสารที่เป็นสารเมแทบอไลท์ที่ได้จากเฟสที่ 1 ไปจับกับโมเลกุลของกรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) หรือซัลเฟตซึ่งทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำมากขึ้น ทั้งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงในเฟสที่ 1 และเฟสที่ 2 จะทำให้ความเป็นพิษลดลงและทำให้เกิดการขับออก แต่อย่างไรก็ตามมันอาจจะนำไปสู่การสร้างโมเลกุลที่มีความว่องไวแล้วทำให้เกิดความเป็นพิษได้เช่นกัน



ภาพที่ 3 กระบวนการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย

(ที่มา: เอกสารการสอนวิทยาศาสตร์พื้นฐานสำหรับงานอาหารและโภชนาการ/สาขาวิชามนุษยนิเวศศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2562)

ยกตัวอย่างการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการดูดซึม การกระจาย การเปลี่ยนแปลงของสาร และการขับออกของผลิตภัณฑ์ หรือสารสำคัญที่พบมากในผลิตภัณฑ์ โดยสืบค้นจากฐานข้อมูลต่าง ๆ ได้แก่ Scopus, ScienceDirect, Pubmed, ISI Web of Science เป็นต้น

- กระบวนการดูดซึม การกระจาย และการขับออกของสาร

Natella และคณะ ปี ค.ศ. 2013 รายงานการศึกษากระบวนการ absorption และ metabolism ของ สารสกัด X ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 3 ราย ได้รับสารสกัด X ขนาด 100 มิลลิกรัม/แคปซูล 3 ครั้งเป็นเวลา 5 วัน ตรวจพบสารกลุ่ม soluble ETs (ellagitannins) ได้แก่ ellagic acid (EA) และ gallic acid (GA) และ peculiar ETs ได้แก่ vescalagin, castalagin หรือ vescalin และ grandinin หรือ roburin E โดยพบปริมาณ soluble ETs เท่ากับ 1.8 mg/capsule จากปริมาณ total phenols 179 mg เมื่อได้รับสารสกัด X ขนาด 300 mg/day ผลการศึกษาพบว่า GA และ EA ในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดย GA ดูดซึมได้อย่างรวดเร็วและมี bioavailability สูง ในขณะที่ ETs ต้อง metabolized โดย gut microbiota เพื่อสร้าง derivative urolithins ก่อนถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย การตรวจวัดปริมาณ antioxidant ด้วยวิธี ORAC assay ในแต่ละแคปซูลของสารสกัด X มีค่าเท่ากับ 648 nmol Trolox eq/mg โดยอาสาสมัครที่ได้รับสารสกัด X พบการเพิ่มขึ้นของ ORAC value อย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาของ Espín และคณะ ปี ค.ศ. 2013 รายงานว่ากระบวนการดูดซึมของ ellagitannins และ ellagic acid ดูดซึมได้น้อย (very low absorption) แต่เมื่อถูกเปลี่ยนเป็น urolithins (metabolized; active form) โดย gut microbiota ในลำไส้จึงดูดซึมได้มากขึ้นโดยสารเมแทบอไลท์ urolithins สามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ในรูปของ glucuronide และ sulfate conjugates ที่ความเข้มข้นประมาณ 0.2-20 μM

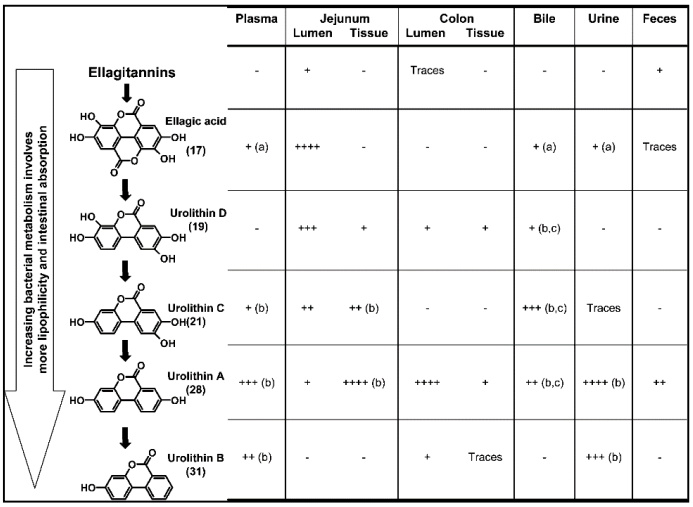
Urolithins (dibenzopyran-6-one derivatives) พบได้ในพืชที่มีปริมาณ ellagitannins สูง โครงสร้างแตกต่างกันเนื่องจากการแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl substitution) สาร urolithins (common metabolite) ไม่สามารถพบได้เองในธรรมชาติ ตรวจพบได้ใน urine และ plasma ในรูปของ ellagic acid dimethyl ether glucuronide ในพลาสมา (plasma) ในเวลา 6-8 ชั่วโมงหลังจากได้รับสาร ellagitannins และยังคงอยู่ในพลาสมานานถึง 48-72 ชั่วโมง

รายงานการศึกษา bioavailability ในหนูแรทเมื่อได้รับสาร ellagitannins ปริมาณมากจาก **pomegranate husk** ตรวจพบสารเมตาบอไลท์ (metabolite) ได้แก่ urolithins A, B และ C เป็นปริมาณสูงใน plasma และ urine โดยตรวจพบ ellagic acid-dimethyl ether glucuronide ได้ในปริมาณน้อยทั้งใน plasma และ urine เช่นกัน (Cerdá *et al*., 2003) การศึกษาการได้รับ ellagitannin-rich **walnut** ในอาสาสมัคร 6 ราย พบว่าสาร ellagitannin สามารถเปลี่ยนเป็นสาร urolithins ได้โดย gut microbiota (Cerdá *et al*., 2005)

รายงานการศึกษาใน Iberian pig เมื่อได้รับ pig feeds (**oak acorns**) ซึ่งมีปริมาณ ellagitannin สูง พบว่า gut สามารถผลิตสาร urolithins ใน form ที่แตกต่างกัน ได้แก่ urolithins A, B และ C โดยในแต่ละ form มีความแตกต่างกันที่ lactone rings โดยสามารถตรวจพบ urolithin A glucuronid และ sulfate เป็นสารเมแทบอไลท์หลัก (main metabolite) ในขณะที่พบ urolithins C และ B เป็นสารเมตาบอไลท์รอง (minor metabolite) ใน plasma และ urine การศึกษาการดูดซึม (absorbtion) ใน gall

bladder และ bile พบสาร tetrahydroxy-urolithin ดูดซึมได้ใน gut เป็นอันดับแรก รองลงมาพบการดูดซึมใน liver โดยพบการขับออกโดย bile ทาง small intestine การศึกษาการกระจายตัว (distribution) ของสาร urolithin metabolites พบการสะสมใน urine เท่านั้น อย่างไรก็ตามหากพบที่ระดับความเข้มข้นสูง (high concentration) พบการสะสมได้ใน gallbladder ได้อีกด้วย ทั้งนี้ไม่พบการสะสมใน muscle, adipose tissue, kidney, liver และ heart เป็นต้น (Espín *et al*., 2007)

ภาพที่ 4 Metabolism of ellagitannins to urolithins; tissue and biological fluids distribution:



	Plasma	Jejunum Lumen	Jejunum Tissue	Colon Lumen	Colon Tissue	Bile	Urine	Feces
Ellagitannins	-	+	-	Traces	-	-	-	+
Ellagic acid (17)	+ (a)	++++	-	-	-	+ (a)	+ (a)	Traces
Urolithin D (19)	-	+++	+	+	+	+ (b,c)	-	-
Urolithin C (21)	+ (b)	++	++ (b)	-	-	+++ (b,c)	Traces	-
Urolithin A (28)	+++ (b)	+	++++ (b)	++++	+	++ (b,c)	++++ (b)	++
Urolithin B (31)	++ (b)	-	-	+	Traces	-	+++ (b)	-

(**a**) dimethyl glucuronide; (**b**) glucuronides; (**c**) methyl glucuronides. Crosses designate the relative abundance of metabolites (not for quantitative purposes) in the different samples analyzed from pigs, "**+**" being the lowest and "**++++**" the highest values. "Traces" indicate that metabolites were detected only in some samples and always in very small amount (close to the limit of detection)
(ที่มา: Espín *et al*., 2007)

- การเปลี่ยนแปลงของสาร (biotransformation)

Ellagitannins (ETs) เปลี่ยนเป็นสารเมตาบอไลท์ ได้แก่ ellagic acid (EA), gallic acid (GA) และ EA-derived metabolites 4 ชนิด ได้แก่ urolithin B-glucuronide (conjugated with glucuronic acid), urolithin A-glucuronide, urolithin C-diglucuronide และ EA methyl ether glucuronide เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC-MS/MS โดยพบในพลาสมาปริมาณ 0.2 μM (เมื่อได้รับสารสกัด Y เป็นเวลา 5 วัน ปริมาณ total plasmatic phenolic concentration 1.26 μg GAE/mL) ทั้งนี้จากการตรวจวัดไม่พบ EA (ellagic acid) (Natella *et al*., 2013)

2.1.3 ผลต่อเอนไซม์และค่าอื่นทางชีวเคมี

เป็นข้อมูลการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารชนิดนั้นต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์และค่าพารามิเตอร์ในเลือดที่ตรวจวัด หรือเป็นผลการศึกษาของสารสำคัญที่พบได้ในผลิตภัณฑ์ เช่น สารสำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์มีผลทำให้ระดับน้ำตาลสูงขึ้น หรือมีผลต่อการลดระดับคลอเรสเตอรอลได้ เป็นต้น

ยกตัวอย่างรายงานการศึกษาของ Nishii และคณะ ปี ค.ศ. 2016 รายงานว่าสารสกัด Y ทำให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของสุนัขลดลงได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Shirai และคณะ ปี ค.ศ. 2006 รายงานว่าสารสกัด Y ทำให้ glucose transporter 2 (GLUT2) และ glucokinase เพิ่มขึ้น มีผลต่อการเข้าสู่เซลล์ของน้ำตาลกลูโคส โดยมีผลต่อการเพิ่มเมตาบอลิซึมของกลูโคสภายในเซลล์ ซึ่งอาจเป็นเหตุผลสนับสนุนกลไกของ สารสกัด Y ต่อการลดลงของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด สอดคล้องกับการศึกษาของ Iida และคณะ ปี ค.ศ. 2008 รายงานการศึกษาสารสกัด Y ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับอินซูลินในอาสาสมัครสุขภาพดี

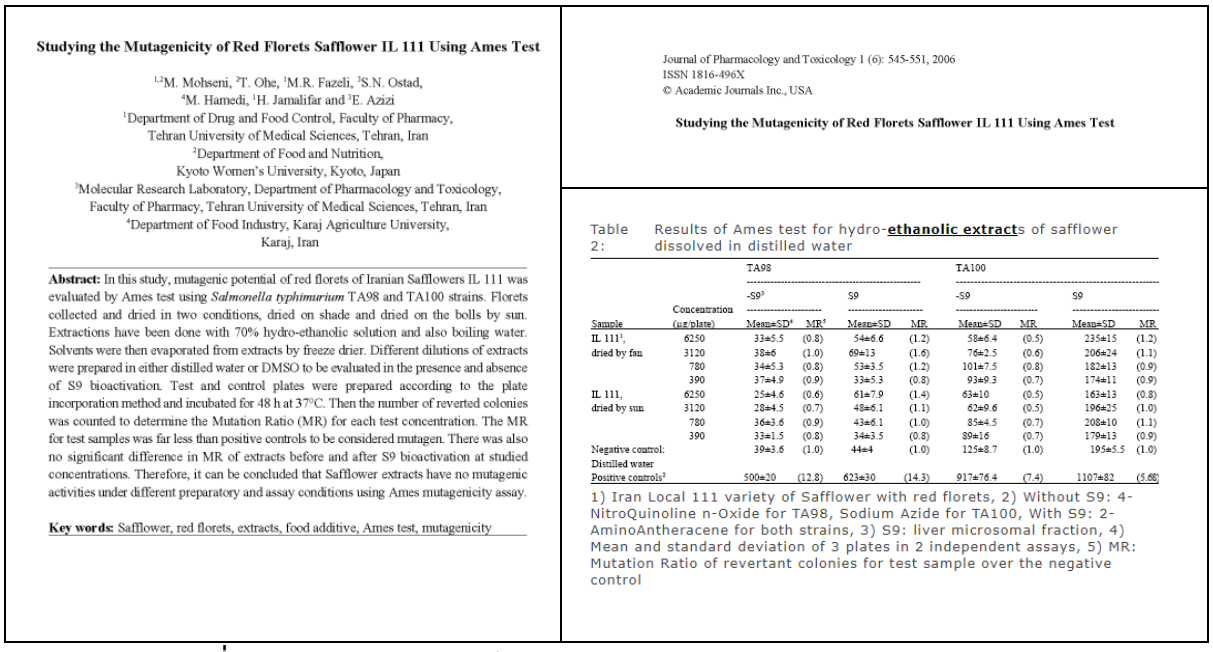
2.1.4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถี (กรณีที่มีส่วนประกอบหลายตัวในผลิตภัณฑ์)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถี (reaction and fate) ของสาระสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ๆ เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารที่ประกอบด้วยส่วนประกอบหลายชนิด ส่วนประกอบแต่ละชนิดจึงอาจทำปฏิกิริยากัน ซึ่งอาจทำให้ไม่ปลอดภัยในการบริโภค

ยกตัวอย่าง รายงานการศึกษาของ **Miyazaki และคณะ ปี ค.ศ. 2016** รายงานผลของการรับประทานสารสกัด Z (ในผลิตภัณฑ์มีสารสกัดจากพืช 2 ชนิด) ต่อการเพิ่มขึ้น salivary secretory immunoglobulin A (sIgA) ในอาสาสมัครสุขภาพดี 15 คน (เพศชาย 8 คนและเพศหญิง 7 คน) อายุระหว่าง 22 -56 ปี โดยผลการทดสอบทางคลินิกทั่วไป (general clinical tests) พบว่ามีความปลอดภัยในการรับประทาน ไม่พบความผิดปกติเกิดขึ้นระหว่างการศึกษา (Miyazaki *et al*., 2016; abstract form)

2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity testing)

ผลการศึกษาด้านพิษต่อหน่วยพันธุกรรมควรเป็นรายงานการศึกษาที่ปฏิบัติตามระเบียบวิธีวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล เช่น OECD guideline (Organization for Economic Co-operation and Development) เป็นการศึกษาทั้งการศึกษานอกร่างกายสิ่งมีชีวิต (*in vitro*) โดยใช้ แบคทีเรีย ยีสต์ หรือเซลล์สิ่งมีชีวิต และ การศึกษาในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) โดยใช้ หนู หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้เป็นการศึกษาที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของหน่วยพันธุกรรม (gene mutation) และ/หรือ ความผิดปกติของโครงสร้างโครโมโซม (chromosome aberration) การทดสอบที่นิยมใช้เพื่อประเมินพิษต่อหน่วยพันธุกรรมด้านศักยภาพการก่อกลายพันธุ์ (mutagenicity) ที่เป็น *in vitro* คือ bacterial reverse mutation test หรือ Ames test ดูรายละเอียดใน OECD Test No.471 (https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-471-bacterial-reverse-mutation-test_9789264071247-en) โดยทดสอบทั้งระบบที่มีและไม่มี metabolic activation เพื่อให้ครอบคลุมผลลัพธ์ของการตรวจวัดสารก่อกลายพันธุ์เนื่องจากมีผลลัพธ์ที่แตกต่างกันจึงจำเป็นต้องใช้วิธีการทดสอบมากกว่า 1 วิธี จึงเรียกว่า test batteries ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของน้ำหนักหลักฐานควรเป็นรายงานการวิจัยที่มีการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการที่มีระบบ peer-review ตัวอย่างเอกสารตีพิมพ์แสดงดัง**ภาพที่ 5**



Studying the Mutagenicity of Red Florets Safflower IL 111 Using Ames Test

[1,2]M. Mohseni, [2]T. Ohe, [1]M.R. Fazeli, [3]S.N. Ostad,
[4]M. Hamedi, [1]H. Jamalifar and [3]E. Azizi
[1]Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy,
Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Department of Food and Nutrition,
Kyoto Women's University, Kyoto, Japan
[3]Molecular Research Laboratory, Department of Pharmacology and Toxicology,
Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4]Department of Food Industry, Karaj Agriculture University,
Karaj, Iran

Abstract: In this study, mutagenic potential of red florets of Iranian Safflowers IL 111 was evaluated by Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains. Florets collected and dried in two conditions, dried on shade and dried on the bolls by sun. Extractions have been done with 70% hydro-ethanolic solution and also boiling water. Solvents were then evaporated from extracts by freeze drier. Different dilutions of extracts were prepared in either distilled water or DMSO to be evaluated in the presence and absence of S9 bioactivation. Test and control plates were prepared according to the plate incorporation method and incubated for 48 h at 37°C. Then the number of reverted colonies was counted to determine the Mutation Ratio (MR) for each test concentration. The MR for test samples was far less than positive controls to be considered mutagen. There was also no significant difference in MR of extracts before and after S9 bioactivation at studied concentrations. Therefore, it can be concluded that Safflower extracts have no mutagenic activities under different preparatory and assay conditions using Ames mutagenicity assay.

Key words: Safflower, red florets, extracts, food additive, Ames test, mutagenicity

Journal of Pharmacology and Toxicology 1 (6): 545-551, 2006
ISSN 1816-496X
© Academic Journals Inc., USA

Studying the Mutagenicity of Red Florets Safflower IL 111 Using Ames Test

Table 2: Results of Ames test for hydro-**ethanolic extract**s of safflower dissolved in distilled water

		TA98				TA100			
		-S9[3]		S9		-S9		S9	
Sample	Concentration (µg/plate)	Mean±SD[4]	MR[5]	Mean±SD	MR	Mean±SD	MR	Mean±SD	MR
IL 111[1], dried by fan	6250	33±5.5	(0.8)	54±6.6	(1.2)	58±6.4	(0.5)	235±15	(1.2)
	3120	38±6	(1.0)	69±13	(1.6)	76±2.5	(0.6)	206±24	(1.1)
	780	34±5.3	(0.8)	53±3.5	(1.2)	101±7.5	(0.8)	182±13	(0.9)
	390	37±4.9	(0.9)	33±5.3	(0.8)	93±9.3	(0.7)	174±11	(0.9)
IL 111, dried by sun	6250	25±4.6	(0.6)	61±7.9	(1.4)	63±10	(0.5)	163±13	(0.8)
	3120	28±4.5	(0.7)	48±6.1	(1.1)	62±9.6	(0.5)	196±25	(1.0)
	780	36±3.6	(0.9)	43±6.1	(1.0)	85±4.5	(0.7)	208±10	(1.1)
	390	33±1.5	(0.8)	34±3.5	(0.8)	89±16	(0.7)	179±13	(0.9)
Negative control: Distilled water		39±3.6	(1.0)	44±4	(1.0)	125±8.7	(1.0)	195±5.5	(1.0)
Positive controls[2]		500±20	(12.8)	623±30	(14.3)	917±76.4	(7.4)	1107±82	(5.68)

1) Iran Local 111 variety of Safflower with red florets, 2) Without S9: 4-NitroQuinoline n-Oxide for TA98, Sodium Azide for TA100, With S9: 2-AminoAntheracene for both strains, 3) S9: liver microsomal fraction, 4) Mean and standard deviation of 3 plates in 2 independent assays, 5) MR: Mutation Ratio of revertant colonies for test sample over the negative control

ภาพที่ 5 ตัวอย่างรายงานการศึกษา Ames *Salmonella* mutagenicity testing

ผลที่ได้หากพบผลเป็น positive คือสารที่ทดสอบมีศักยภาพก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธี Ames test ให้ทำการทดสอบยืนยันด้วย *in vivo* study วิธีอื่น ๆ เช่น mammalian micronucleus test, mammalian chromosome aberration และอื่น ๆ ประกอบด้วยว่าสารที่ทดสอบนั้นมีก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (genotoxic agent)

2.3 ผลการศึกษาด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง

ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่องรายชื่อหน่วยประเมินความปลอดภัยที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาให้การยอมรับ ระบุในบัญชีแนบท้ายหมายเลข 1 เรื่องหลักเกณฑ์และแนวทางการดำเนินงานของหน่วยงานประเมินความปลอดภัย สำหรับอาหารใหม่ (novel food) ระบุหมายเหตุการอ้างอิงการศึกษาด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลองสำหรับอาหารใหม่ (novel food) กรณีที่เป็นข้อมูลการทดลองวิจัยโดยบริษัทฯเองหรือไม่ใช่การศึกษาที่ผ่านการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการที่เป็นที่ยอมรับนั้น ต้องมีการออกแบบการทดลองที่ดี (well-designed study) ตามระเบียบวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล เช่น World Health Organization (WHO), Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) เช่น การศึกษาพิษวิทยากึ่งเรื้อรัง (Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents : Test Guideline No.408, OECD, 1998a) หรือมาตรฐานสากลที่เทียบเท่าหรือจากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรอง Good Laboratory Practice (GLP) เป็นต้น

ทั้งนี้ข้อมูลการศึกษาด้านพิษวิทยาจะพิจารณาความเป็นพิษต่อระบบทั่วไปเพื่อสามารถระบุอวัยวะเป้าหมายที่จะเกิดความเป็นพิษ โดยทั่วไปใช้สัตว์กัดแทะ (rodent) เป็นอย่างน้อย เช่น หนูเมาส์ หนูแรท ในการทดสอบหรือสามารถใช้สัตว์ที่มีความซับซ้อนของระบบร่างกายที่ใกล้เคียงมนุษย์มากขึ้น เช่น กระต่าย สุนัข หรือสามารถทดสอบในมนุษย์ทั้งนี้การประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ (Novel food) ประกอบด้วยการทดสอบต่อไปนี้ 1) พิษเฉียบพลัน (acute toxicity) 2) พิษกึ่งเฉียบพลัน (sub-acute toxicity) 3) พิษกึ่งเรื้อรัง (sub-chronic toxicity) 4) พิษเรื้อรัง (chronic toxicity) 5) พิษทางคลินิก (clinical toxicity study)

ข้อเปรียบเทียบของการทดสอบวิธีต่าง ๆ ด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลองแสดงดัง**ตารางที่ 1**

ตารางที่ 1 การทดสอบพิษวิทยาโดยใช้สัตว์ทดลองตามมาตรฐานสากล OECD

OECD Test No.	420 พิษเฉียบพลัน	408 พิษกึ่งเรื้อรัง	452 พิษเรื้อรัง	453 พิษเรื้อรัง/ก่อมะเร็ง
ระยะเวลา	14 วัน	90 วัน	12 เดือน	24 เดือน
สายพันธุ์	Rodent[a]	Rodent[a]	Rodent[a] and non-rodent	Rodent[a] and non-rodent
จำนวนต่อกลุ่ม	หนูแรท 1 ตัว (รวม 5 ตัว) (เพศเมีย)	หนูแรท 20 ตัว (10 ตัวต่อเพศ)	หนูแรท ≥ 40 ตัว (20 ตัวต่อเพศ) non-rodents ≥ 8 (4 ตัวต่อเพศ)	หนูแรท ≥ 20 ตัว (10 ตัวต่อเพศ) สำหรับกลุ่มควบคุม หนูแรท ≥ 100 (50 ตัวต่อเพศ) สำหรับ treatment group
จำนวนขนาดของสารทดสอบ (dose)	4-5 dose (24 h)	≥ 3 dose (daily)	≥ 3 dose (daily)	≥ 3 dose (daily)
ผลลัพธ์ (end point)	การสังเกตการเปลี่ยนแปลง Body weight, death, clinical symptom, autopsy etc.	การสังเกตการเปลี่ยนแปลง Body weight, organ weight, clinical chemistry, haematology, histological examination, urinalyses, endocrine etc.		

[a]Rodent: สัตว์กัดแทะ เช่น หนู

2.3.1 พิษเฉียบพลัน

การทดสอบพิษเฉียบพลันจะมีการให้สารทดสอบทางปาก (oral administration) กับหนูสามารถให้ครั้งเดียวหรือหลายครั้งก็ได้ภายใน 24 ชั่วโมง และดูผลภายใน 14 วัน โดยสังเกตอาการไม่พึงประสงค์ (adverse effects) ไปจนถึงรุนแรงถึงเสียชีวิตถึงแม้ว่าผลจากการทดสอบพิษเฉียบพลันจะไม่ได้ถูกนำมาใช้ในการระบุอันตราย (hazard identification) เพื่อใช้ในการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) แต่หากผลการศึกษาพบว่าค่า LD_{50} มากกว่า 2,000 mg/kg แสดงว่าสารที่ทดสอบนั้นมีความเป็นพิษต่ำ การออกแบบการศึกษาสามารถปฏิบัติตาม OECD guideline Test No. 420, 423 และ 425 ซึ่งความแตกต่างคือ OECD 423 และ OECD 425 จะดูผลลัพธ์คืออัตราการตาย (mortality) ในขณะที่ OECD 420 (acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure) จะดูผลลัพธ์โดยสังเกตอาการความเป็นพิษที่บ่งชี้ชัดเจน (evident toxicity) รายละเอียดสามารถดูจากลิงก์ https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl420.pdf และ http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2001)4&doclanguage=en

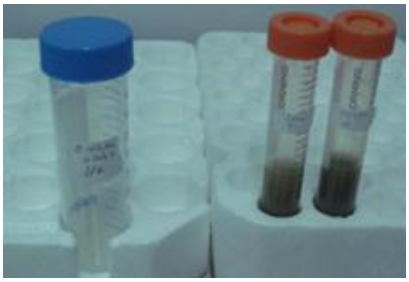
OECD guideline Test No. 420

เป็นวิธีการที่สามารถลดจำนวนสัตว์ที่นำมาใช้ทดสอบ ขนาดสาร (dose) ที่ใช้คือ 5, 50, 300 และ 2000 mg/kg หรือสูงสุดได้ถึง 5000 mg/kg โดยสามารถค่อย ๆ เพิ่มหรือลด dose เมื่อพบอาการความเป็นพิษ จำนวนสัตว์ที่ใช้ทั้งหมดคือ 5 ตัวโดยใช้เพียงเพศเดียว 1 ตัวต่อ 1 dose โดยมักใช้เพศเมียเนื่องจากมีความไว (sensitive) มากกว่าเพศผู้ และสำหรับสารที่มีกลไกออกฤทธิ์แบบ direct acting จะมีความสามารถในการกำจัดพิษได้ต่ำกว่าหนูเพศผู้ ในขณะที่สารที่ทดสอบต้องการการกระตุ้นจาก metabolic กลับพบว่าหนูเพศผู้จะมีความไว (sensitive) มากกว่า การตรวจวัดผลลัพธ์ได้จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ผิวหนัง (skin) ขน (fur) ตา (eyes) เยื่อบุเมือก (mucous membrane) ระบบหายใจ (respiratory circulatory) ระบบประสาทอัตโนมัติและระบบประสาทส่วนกลาง (autonomic and central nervous systems) การควบคุมทางกายและพฤติกรรม (somatomotor activity and behavior pattern) การชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบก่อนให้สารทดสอบ สัปดาห์ละครั้งและวันที่ทำการุณยฆาต ทำการผ่าซาก (necropsy) เมื่อสิ้นสุดการศึกษาเพื่อดูความผิดปกติของอวัยวะภายใน ดังแสดงใน**ภาพที่ 6**

ภาพที่ 6 การสังเกตอาการความผิดปกติก่อนสิ้นสุดการทดสอบและการผ่าซากเพื่อดูความเป็นพิษต่ออวัยวะภายใน

การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ทดสอบ

ตัวอย่างที่จะทดสอบในสัตว์ทดลองต้องละลายเพื่อป้อนให้กับสัตว์ทดลองได้ โดยทั่วไปสามารถใช้ตัวทำละลายดังต่อไปนี้ น้ำ (water) น้ำเกลือ (saline) น้ำมัน (oil) หรือเตรียมเป็นสารแขวนลอย (suspension) โดยละลายใน 0.5% methylcellulose in water โดยปริมาณสูงสุดที่ให้ต่อครั้งต้องไม่เกิน 20 mL/kgBW และการทดสอบต้องเพิ่มกลุ่ม vehicle control ซึ่งใช้ตัวทำละลายป้อนให้สัตว์ทดลองด้วย ลักษณะการเตรียมสารแขวนลอย (suspension) ตัวอย่างเพื่อป้อนให้สัตว์ทดลองแสดงดัง**ภาพที่ 7**



ภาพที่ 7 การเตรียมสารแขวนลอย (suspension) ของตัวอย่างผงแห้งพืชละลายใน 0.5% methylcellulose in water

2.3.2 พิษกึ่งเรื้อรัง

การเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic toxicity) หมายถึง การแสดงอาการความผิดปกติหลังจากได้รับสารเป็นเวลาติดต่อกัน 13 สัปดาห์ (กรณีใช้หนูแรท) ทั้งนี้ระยะเวลาขึ้นกับค่าชั่วชีวิต (Life span) เช่น กรณีสัตว์ทดลอง โดยช่วงเวลาได้รับสารคิดเป็นเวลาที่น้อยกว่าร้อยละ 10 ของค่าชั่วชีวิต การนำข้อมูลจากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังมาใช้เพื่อการขออนุญาตขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์อาหาร โดยนำมากำหนดค่า Acceptable Daily Intake (ADIs) วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังในสัตว์ให้อ้างอิงวิธีทดสอบตามที่ระบุไว้ตาม OECD guideline Test No. 408 ที่ adopt ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1998 ต่อมาปี ค.ศ. 2017 ได้เพิ่ม endocrine disrupter endpoints เช่น thyroid parameter รายละเอียดสามารถดูจาก https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264304741-23-en.pdf?expires=1589894949&id=id&accname =guest&checksum=556C447355FFF88FC31A916757A29A00 ทั้งนี้การกำหนดขนาด (dose) ของสารทดสอบสามารถกำหนดโดยพิจารณาข้อมูลพิษวิทยาที่ได้จากการศึกษาพิษเฉียบพลัน (acute toxicity study) หรือ การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน (repeated dose 28-day toxicity test) การทดสอบพิษแบบกึ่งเรื้อรังที่ใช้หนูแรทจะประกอบด้วย

- หนูแรทจำนวน 20 ตัวต่อกลุ่มโดยแบ่งเป็น 2 เพศ ๆ ละ 10 ตัว
- ขนาดของสาร (dose) ที่ต้องการทดสอบ 3 ขนาดเป็นอย่างน้อย โดยมีกลุ่มควบคุม (control) ทำควบคู่ไปด้วย กรณีตัวอย่างที่สารทดสอบละลายในตัวทำละลาย (solvent vehicle) ต้องมีกลุ่ม vehicle control เพิ่มด้วย
- ให้สารโดยวิธี gavage หรือผสมในอาหารหรือในน้ำดื่ม กรณีผสมสารที่มีความเป็นพิษต่ำในอาหารให้สัตว์ทดลองกินจะต้องถูกผสมอาหารในปริมาณอย่างต่ำร้อยละ 5 ของน้ำหนักอาหารทั้งหมด
- การทดสอบโดยผสมตัวอย่างในอาหารชนิด purified diet หรือ semi-purified diet ต้องใช้สูตรมาตรฐานที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่ครบถ้วนและมีการควบคุมปริมาณการกินของหนูแต่ละกลุ่มโดยใช้ pair-feeding
- ขนาดที่สูงสุดจะต้องสัมพันธ์กับความเป็นพิษที่อย่างน้อยทำให้เกิดการลดลงของน้ำหนักตัวของหนูโดยไม่กระทบต่อการรอดชีวิตของสัตว์เพื่อให้มั่นใจได้ว่าวิธีทดสอบหรือสัตว์ที่เลือกใช้มีความเหมาะสมและไวต่อการแสดงถึงความเป็นอันตราย (hazard identification) ในขณะที่การกำหนดขนาดต่ำสุดจะต้องไม่แสดงความเป็นพิษต่อสัตว์

การประเมินผลการทดสอบเพื่อกำหนดค่า NOAEL

พิจารณาความเป็นพิษต่อระบบทั่ว ๆ ไปในร่างกาย (general systemic toxicity) เพื่อสรุปว่าสารนั้นก่อให้เกิดความเป็นพิษที่ขนาดหรือปริมาณเท่าใด อวัยวะเป้าหมายคืออะไร ค่าพารามิเตอร์ที่ตรวจวัดประกอบด้วย น้ำหนักตัว ปริมาณการบริโภคอาหารและน้ำ การตรวจทางจักษุวิทยา (ophtalmological examination) ค่าโลหิตวิทยา (haematology) ค่าทางเคมีคลินิก (clinical chemistry) วิเคราะห์ผลปัสสาวะ (urinalysis) ชันสูตรซาก (gross necropsy) ชั่งน้ำหนักอวัยวะเทียบกับน้ำหนักตัวหรือเทียบกับน้ำหนักสมอง

(relative organ weight) จุลพยาธิวิทยา (histopathology) ทั้งนี้รายละเอียดของค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จะกล่าวไว้ในหัวข้อที่ **2.3.3 พิษเรื้อรัง**

ส่วนผลลัพธ์ด้านการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine) พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องคือ thyroid function เช่น serum total T4, T3 และ TSH นอกจากนี้จะต้องชั่งน้ำหนักของ thyroid gland, adrenals, testes, epididymis, uterus, ovaries, prostate + seminal vesicles with coagulating glands และดูการเปลี่ยนแปลงด้านจุลพยาธิวิทยา (histopathologic changes) ของ pituitary, thyroid gland, gonads, uterus, accessory sex organs, male and female mammary gland, testes และ adrenals ร่วมด้วย นอกเหนือจากอวัยวะอื่น ๆ

ปริมาณสารสูงสุดที่ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติสามารถนำมากำหนดเป็นค่า No Observe Adverse Effect Level (NOAEL) เพื่อนำมาประมาณค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ในมนุษย์โดยต้องคำนึงถึงความแตกต่างระหว่างสปีชีย์และความแปรปรวนภายในตัวคือค่า uncertainty factor จากสัตว์ไปยังมนุษย์ด้วย

ตัวอย่างผลการทดสอบด้านการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว (**ภาพที่ 8**) พารามิเตอร์ด้านโลหิตวิทยา (haematology) (**ภาพที่ 9**) และพารามิเตอร์ทางเคมีคลินิก (clinical biochemistry) (**ภาพที่ 10**)

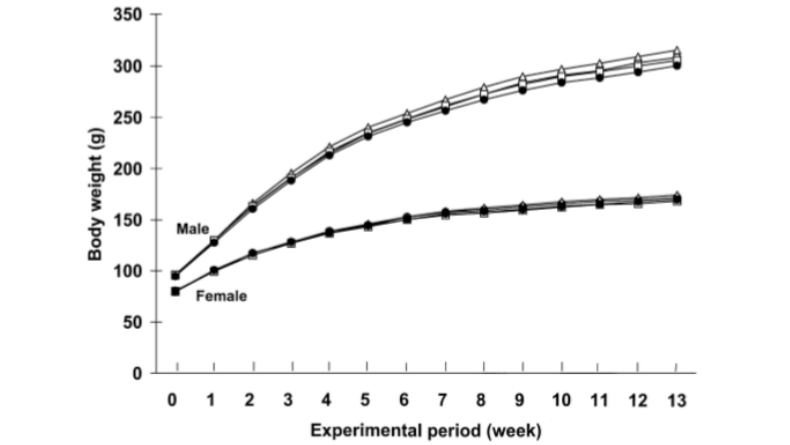


Fig. 1. Body weight changes of rats fed diets containing grape seed extract (GSE) for 90 days: ○—○, Control; △—△, 0.02% GSE, □—□, 0.2% GSE, ●—●, 2% GSE.

ภาพที่ 8 กราฟแสดงผลน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงของหนูแต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.02%GSE, 0.2%GSE และ 2%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์

(ที่มา: Yamakoshi et al., 2002)

Parameter		Dietary concentration (%)			
		0 (Control)	0.63% GSE	1.25% GSE	2.5% GSE
(a) Males					
Hemoglobin (g/dl)	Mean	16.6	16.7	16.2	16.8
	S.D.	0.73	1.11	0.58	0.70
Hematocrit (%)	Mean	52.1	52.5	51.8	52.9
	S.D.	1.96	3.82	1.94	2.15
Erythrocyte count (10^6/μl)	Mean	9.20	9.28	9.14	9.51
	S.D.	0.399	0.556	0.389	0.372
Reticulocyte count (10^9/l)	Mean	200.8	209.7	198.7	169.6
	S.D.	24.98	45.88	38.41	14.45
Platelet count (10^3/μl)	Mean	1051	1130	1042	1157
	S.D.	219.0	116.4	227.5	144.9
Mean corpuscular volume (fl)	Mean	56.7	56.6	56.8	55.6
	S.D.	2.01	1.85	2.04	1.07
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	Mean	18.0	17.9	17.8	17.6
	S.D.	0.84	0.58	0.67	0.49
Mean corpuscular hemoglobin conc. (g/dl)	Mean	31.8	31.7	31.4	31.7
	S.D.	0.84	0.64	0.61	0.52
Total leukocyte count (10^3/μl)	Mean	12.72	13.78	13.30	13.73
	S.D.	4.486	2.819	2.261	3.655
Neutrophils (10^3/l)	Mean	1.43	1.69	1.47	1.54
	S.D.	0.404	0.936	0.374	0.740
Lymphocytes (10^3/l)	Mean	10.60	11.20	11.06	11.38
	S.D.	4.388	2.263	2.225	2.942
Monocytes (10^3/l)	Mean	0.36	0.50	0.39	0.47
	S.D.	0.167	0.167	0.080	0.217
Eosinophils (10^3/l)	Mean	0.15	0.17	0.20	0.16
	S.D.	0.047	0.092	0.181	0.059
Basophils (10^3/l)	Mean	0.08	0.09	0.09	0.08
	S.D.	0.053	0.031	0.029	0.029
Large unstained cells (10^3/l)	Mean	0.10	0.13	0.10	0.10
	S.D.	0.062	0.048	0.040	0.054
Prothrombin time (s)	Mean	11.9	13.0	12.6	12.3
	S.D.	0.43	0.90	0.96	0.42
Activated partial thromboplastin time (s)	Mean	20.9	22.0	21.2	22.5
	S.D.	2.11	2.06	3.75	2.76

ภาพที่ 9 แสดงพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา (haematology) ในหนูเพศผู้ (male) แต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.63%GSE, 1.25%GSE และ 2.5%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์
(ที่มา: Bentivegna and Whitney, 2002)

Parameter		Dietary concentration (%)			
		0 (Control)	0.63% GSE	1.25% GSE	2.5% GSE
(b) Males					
Aspartate aminotransferase (IU/l)	Mean	76	74	76	78
	S.D.	11.4	8.0	16.3	10.6
Alanine aminotransferase (IU/l)	Mean	35	33	37	32
	S.D.	7.3	5.1	21.4	5.9
Alkaline phosphatase (IU/l)	Mean	90	90	83	96
	S.D.	14.1	18.3	13.6	13.0
Blood urea nitrogen (mg/dl)	Mean	12.2	11.7	11.9	12.5
	S.D.	0.87	1.19	1.30	1.63
Creatinine (mg/dl)	Mean	0.4	0.3	0.4	0.3
	S.D.	0.06	0.07	0.05	0.07
Fasting glucose (mg/dl)	Mean	184	205	207	216
	S.D.	39.5	51.1	59.5	47.6
Cholesterol (mg/dl)	Mean	63	63	59	60
	S.D.	12.5	12.2	9.4	14.1
Triglycerides (mg/dl)	Mean	40	49	45	42
	S.D.	14.6	22.8	18.6	12.7
Total protein (g/dl)	Mean	7.3	7.1	7.0	7.2
	S.D.	0.31	0.48	0.23	0.25
Albumin (g/dl)	Mean	4.4	4.3	4.4	4.4
	S.D.	0.19	0.26	0.11	0.17
Globulin(calculated) (g/dl)	Mean	2.9	2.7	2.7	2.7
	S.D.	0.23	0.30	0.18	0.17
Albumin/globulin	Mean	1.5	1.6	1.7*	1.7*
	S.D.	0.13	0.16	0.11	0.11
Total bilirubin (mg/dl)	Mean	0.12	0.11	0.11	0.11
	S.D.	0.020	0.023	0.027	0.023
Sodium (mEq/l)	Mean	151	150	151	151
	S.D.	1.7	2.0	1.9	1.6
Potassium (mEq/l)	Mean	6.6	6.4	6.3	6.5
	S.D.	0.42	1.20	0.52	0.98
Chloride (mEq/l)	Mean	104	104	105	106**
	S.D.	1.6	1.2	2.1	0.9
Calcium (mg/dl)	Mean	11.9	11.7	11.9	12.1
	S.D.	0.47	0.72	0.41	0.76
Inorganic phosphorus (mg/dl)	Mean	11.0	11.3	12.1	12.5
	S.D.	0.91	1.48	2.32	1.40
γ-Glutamyl transferase (IU/l)	Mean	0	0	0	0.
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0

ภาพที่ 10 แสดงพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ค่าทางเคมีคลินิก (clinical chemistry) ในหนูเพศผู้ (male) แต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม GSE ที่ปริมาณ 0.63%GSE, 1.25%GSE และ 2.5%GSE เป็นเวลา 13 สัปดาห์
(ที่มา: Bentivegna and Whitney, 2002)

ตัวอย่างแสดงค่าน้ำหนักอวัยวะเทียบกับน้ำหนักตัว (relative organ weight) (**ภาพที่ 11**) และผลทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) (**ภาพที่ 12**)

Table 1. Relative organ weights (g/100 g BW) and body weights (g) of mice receiving diet with and without EF for 24 weeks

Organs	Control	Dose of EF in AIN-76 diet		
	AIN-76 diet	0.8%	1.6%	3.2%
Brain	0.835 ± 0.03	0.884 ± 0.04	0.892 ± 0.03	0.908 ± 0.05
Heart	0.426 ± 0.02	0.443 ± 0.02	0.492 ± 0.04	0.455 ± 0.01
Kidney, left	0.555 ± 0.02	0.621 ± 0.04	0.647 ± 0.03	**0.684 ± 0.02***
Kidney, right	0.549 ± 0.02	0.639 ± 0.04	**0.675 ± 0.04***	**0.694 ± 0.01***
Liver	4.838 ± 0.02	4.629 ± 0.13	4.512 ± 0.21	4.460 ± 0.11
Lung	0.653 ± 0.05	0.669 ± 0.05	0.622 ± 0.04	0.695 ± 0.04
Spleen	0.248 ± 0.02	0.258 ± 0.03	0.272 ± 0.02	0.277 ± 0.02
Testis	0.448 ± 0.03	0.478 ± 0.04	0.487 ± 0.03	0.497 ± 0.02
Body weight (1st wk)	26.28 ± 0.36	26.31 ± 0.29	26.58 ± 0.20	25.58 ± 0.21
Body weight (24st wk)	55.68 ± 1.82	52.33 ± 2.19	52.31 ± 1.44	**49.64 ± 1.23***
Weight gain	29.40 ± 1.46	26.02 ± 1.90	24.73 ± 1.24	**24.06 ± 1.02***

*Significantly different from the control group at $p < 0.05$. Values are Mean ± SE.

ภาพที่ 11 ตัวอย่างแสดงผล Relative organ weight (g/100 g น้ำหนักตัว) และน้ำหนักตัวหนูที่ได้รับอาหารผสม EF ในการศึกษาพิษเรื้อรัง
(ที่มา: Janwitthayanuchit et al,. 2016)

Organ	Microscopic findings	Control	Dose of EF in AIN-76 diet		
		Basal diet	0.8%	1.6%	3.2%
Lung	Congestion	2/8 mild (2)	3/8 mild (3)	2/8 mild (2)	2/8 mild (2)
	BALT proliferation	2/8 mild (2)	2/8 mild (2)	3/8 mild (3)	5/8 mild (5)
Liver	Congestion	3/8 mild (3)	3/8 mild (3)	2/8 mild (2)	2/8 mild (2)
	Nuclear megalocytosis	8/8 mild (2), moderate (6)	8/8 mild (4), moderate (4)	8/8 mild (6), moderate (2)	8/8 mild (3), moderate (5)
	Centrilobular hydropic degeneration	8/8 mild (4), moderate (2), severe (2)	8/8 moderate (6), severe (2)	8/8 moderate (4), severe (4)	8/8 moderate (5), severe (3)
	Centrilobular fatty degeneration	8/8 mild (3), moderate (4), severe (1)	8/8 mild (4), moderate (3), severe (1)	8/8 mild (2), moderate (4), severe (2)	8/8 mild (3), moderate (3), severe (2)
Spleen	Extra medullary hematopoiesis	5/8 mild (1), moderate (3), severe (1)	7/8 mild (1), moderate (4), severe (2)	8/8 mild (2), moderate (3), severe (3)	7/8 mild (2), moderate (2), Severe (3)
	Hemosiderosis	4/8 mild (4)	**7/8* mild (7)**	**8/8* mild (4), moderate (4)**	**8/8* mild (2), moderate (6)**
Kidney	Congestion	NRL	**4/8* mild (4)**	**4/8* mild (2)**	**5/8* mild (5)**
	Tubular regeneration	NRL	**5/8* mild (5)**	**6/8* mild (6)**	**7/8* mild (7)**
	Tubular degeneration	NRL	**3/8* mild (3)**	**4/8* mild (2), moderate (2)**	**6/8* moderate (6)**
	Multifocal interstitial infiltration	NRL	**6/8* mild (6)**	**7/8* mild (5), moderate (2)**	**8/8* mild (2), moderate (6)**
Small intestine	GALT proliferation in submucosa	2/8 mild (2)	2/8 mild (2)	3/8 mild (3)	3/8 mild (3)
Large intestine	GALT proliferation in submucosa	4/8 mild (4)	4/8 mild (4)	**8/8* mild (8)**	**8/8* mild (8)**
Lymph node	Lymphoid hyperplasia	1/8 mild (1)	1/8 mild (1)	1/8 mild (1)	2/8 mild (2)
Salivary gland	Lymphocyte infilltrative	1/8 mild (1)	1/8 mild (1)	1/8 mild (1)	2/8 mild (2)

ภาพที่ 12 แสดงจำนวนหนูที่พบความผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ จากผลทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ได้รับอาหารผสม EF ในการศึกษาพิษเรื้อรัง
(ที่มา: Janwitthayanuchit et al,. 2016)

การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวัน (ADI) จากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรัง

การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์หรือ Acceptable Daily Intake (ADI) (หน่วยเป็น mg/d) โดยค่า NOAEL มาจากการศึกษาในสัตว์ ต้องคำนึงถึงความแตกต่างระหว่างสปีชีย์และ

ความแปรปรวนภายในตัวคือนำค่า uncertainty factor (UF) จากสัตว์ไปยังมนุษย์มาพิจารณาร่วมด้วย กรณีค่า NOAEL มาจากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังโดยใช้หนูในการศึกษาสามารถกำหนดค่า uncertainty factor (UF) โดยประมาณเท่ากับ 1000 (มาจากแฟกเตอร์ 10x10x10 โดยมาจากความแตกต่างระหว่างสปีชีย์ ความแปรปรวนภายในตัวและข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรัง)

$$ADI = \frac{NOAEL}{UF}$$

เมื่อ ADI คือค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์ (หน่วยเป็น mg/d)
NOAEL คือขนาดสูงสุดของสารที่ได้รับแล้วไม่ทำให้เกิดความผิดปกติ (หน่วยเป็น mg/kgBW/d)
UF คือ ค่าความแปรปรวนจากความแตกต่างระหว่างสปีชีย์ (เท่ากับ 1000 กรณีการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรัง)

ทั้งนี้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยมาตรฐานคนไทยเท่ากับ 57.57 kg

2.3.3 พิษเรื้อรัง

การเกิดพิษแบบเรื้อรัง (chronic toxicity) หมายถึง การแสดงอาการความผิดปกติหลังจากได้รับสารเป็นเวลาติดต่อกันมากกว่า 3 เดือน หรือมากกว่าร้อยละ 10 ของค่าชั่วชีวิต มักนิยมใช้หนูแรทหรือหนูเมาส์ เนื่องจากอายุขัยสั้น การนำข้อมูลจากการศึกษาพิษเรื้อรังมาใช้เพื่อการขออนุญาตขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อให้ได้ค่า No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) แล้วนำค่า NOAEL ที่ได้มากำหนดค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ของมนุษย์ต่อไป วิธีทดสอบพิษเรื้อรังในสัตว์ให้อ้างอิงวิธีทดสอบตามที่ระบุไว้ตาม OECD guideline Test No. 452 รายละเอียดสามารถดูจาก https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-452-chronic-toxicity-studies_9789264071209-en โดยทั่วไปแล้วรูปแบบการศึกษาและการวัดผลต่าง ๆ รายละเอียดเหมือนการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง (subchronic toxicity) ที่กล่าวมาแล้วใน**ข้อ 2.3.2** ประเด็นที่แตกต่างหรือเพิ่มเติม ได้แก่

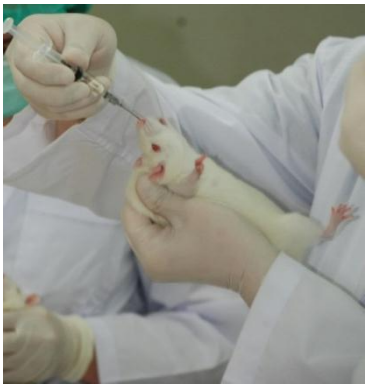
- โดยทั่วไประยะเวลาศึกษาที่หนูแรทได้รับตัวอย่างสารที่ทดสอบใช้เวลา 12 เดือน การใช้เวลาที่สั้นกว่า 12 เดือน เช่น 6 หรือ 9 เดือน หรือนานกว่า เช่น 18 หรือ 24 เดือน สามารถทำได้ขึ้นกับความต้องการที่ถูกกำหนดใช้ทางกฎหมายหรือขึ้นกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารทดสอบ
- หนูแรทจำนวน 40 ตัวต่อกลุ่มโดยแบ่งเป็น 2 เพศ ๆ ละ 20 ตัว หากใช้หนูเมาส์สามารถเพิ่มจำนวนได้ในแต่ละกลุ่มเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด
- สัตว์อื่นที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะจำนวน 8 ตัวต่อกลุ่มโดยแบ่งเป็น 2 เพศ ๆ ละ 4 ตัว
- สามารถเพิ่มจำนวนหนูต่อกลุ่มหากมีการวางแผนที่จะดูผลก่อนสิ้นสุดการศึกษา เช่น มีการดูผลลัพธ์ทางพิษวิทยาจำเป็นต้องทำการุณยฆาตที่เดือนที่ 6

- อาจเพิ่มกลุ่ม “satellite groups” เพื่อติดตามผลเมื่อหยุดให้สารทดสอบเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่สัตว์จะได้รับสารเพื่อติดตามว่าความผิดปกติที่เกิดขึ้นสามารถกลับมาปกติได้หรือไม่ ซึ่งมักจะกำหนดเพิ่มเติมสำหรับขนาดสารทดสอบที่ขนาด (dose) สูงสุดร่วมกับกลุ่มควบคุมเพิ่มเติมด้วย
- การกำหนดขนาด (dose) สูงสุดของสารที่จะทดสอบให้ใช้ข้อมูลจากการศึกษาที่เป็น preliminary study มาก่อน แต่ไม่ควรเกิน 1,000 mg/kg body weight/day ซึ่งเป็นค่าที่กำหนดเป็น limit dose แต่สามารถเพิ่มสูงขึ้นกว่าค่า limit dose ได้หากมีข้อมูลปริมาณการได้รับสัมผัสในมนุษย์ที่ต้องการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้นกว่าค่าดังกล่าว
- กรณีผสมสารทดสอบลงในอาหารเพื่อให้สัตว์ทดลองกินต้องผสมในอาหารสูตรปกติ (purified diet หรือ semi-purified diet) ไม่เกินร้อยละ 5 เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการขาดสารอาหาร
- กรณีป้อนสารละลายตัวอย่างให้สัตว์ทดลองปริมาณที่ให้ต่อครั้งต้องไม่เกิน 1 ml/100g body weight สำหรับหนูแรท

วิธีการให้สารทดสอบกับหนูและการเตรียมส่วนผสมตัวอย่างอาหารแสดงดัง**ภาพที่ 13**

ก. การป้อนสารทดสอบให้หนูเมาส์

ค. อาหารถูกเตรียมในภาชนะให้หนู



ข. การป้อนสารทดสอบให้หนูแรท

ง. อาหารสูตร purified diet ผสมตัวอย่างในขนาดต่าง ๆ และไม่ผสมตัวอย่าง

ภาพที่ 13 วิธีให้สารทดสอบกับหนูโดยการป้อน และการเตรียมส่วนผสมตัวอย่างในอาหาร

การประเมินผลการทดสอบเพื่อกำหนดค่า NOAEL

ค่าพารามิเตอร์ที่ตรวจวัด ประกอบด้วย น้ำหนักตัว ปริมาณการบริโภคอาหารและน้ำ การตรวจทางจักษุวิทยา (ophtalmological examination) ค่าโลหิตวิทยา (haematology) ค่าทางเคมีคลินิก (clinical chemistry) วิเคราะห์ผลปัสสาวะ (urinalysis) ชันสูตรซาก (gross necropsy) ชั่งน้ำหนักอวัยวะเทียบกับน้ำหนักตัวหรือเทียบกับน้ำหนักสมอง (relative organ weight) จุลพยาธิวิทยา (histopathology) และพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine)

- การตรวจทางโลหิตวิทยา (haematology) และเคมีคลินิก (clinical chemistry)

การทดสอบโดยใช้สัตว์กัดแทะการตรวจค่าโลหิตวิทยา (haematology) และเคมีคลินิก (clinical chemistry) ให้เก็บเลือดหนูที่เวลา 3, 6, 12 เดือนหลังจากหนูได้รับสารทดสอบและเดือนสุดท้ายที่สิ้นสุดการศึกษา (กรณีศึกษานานเกิน 12 เดือน) โดยเก็บตัวอย่างในหนูจำนวน 10 ตัวต่อเพศต่อกลุ่ม หากทดสอบในสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะ เช่น สุนัข ใช้ 4 ตัวต่อเพศต่อกลุ่มจะเก็บตัวอย่างเลือดที่ช่วงระหว่างการศึกษากับช่วงสิ้นสุดการศึกษา ค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา ได้แก่ Total and differential leukocyte count, erythrocyte count, platelet count, haemoglobin concentration, haematocrit (packed cell volume), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH), mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC), prothrombin time และ activated partial thromboplastin time ค่าพารามิเตอร์อื่นเพิ่มเติมอาจตรวจได้ขึ้นกับความเป็นพิษของสารที่นำมาทดสอบ เช่น ลักษณะเม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติหรือการตรวจ methaemoglobin หากสารที่ทดสอบมีผลต่อระบบเม็ดเลือดให้ตรวจ reticulocyte counts และ bone marrow cytology เพิ่มเติม

การตรวจทางเคมีคลินิก (clinical chemistry) เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษในเนื้อเยื่อและผลที่กระทบต่อตับและไต ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีคลินิก ได้แก่ glucose, urea (urea nitrogen), creatinine, total protein, albumin, calcium, sodium, potassium, total cholesterol, การทำงานของตับด้วยการวัดระดับเอนไซม์ (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, glutamate dehydrogenase, total bile acids) และประเมิน hepatobiliary (alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, 5'-nucleotidase, total bilirubin, total bile acids) นอกจากนี้อาจวัดค่าอื่นเพิ่มเติม เช่น fasting triglycerides, specific hormones และ cholinesterase โดยขึ้นกับความเป็นพิษของสาร

- การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ (urinalysis)

เก็บตัวอย่างปัสสาวะจากสัตว์ที่ช่วงเวลาเดียวกับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (haematology) และเคมีคลินิก (clinical chemistry) ค่าพารามิเตอร์ที่ตรวจในปัสสาวะ ได้แก่ appearance, volume, osmolality หรือ specific gravity, pH, total protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin, และ occult blood

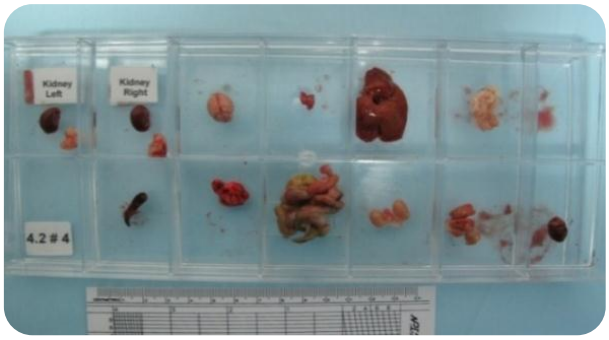
- *การตรวจทางพยาธิวิทยา (pathology)*

ภาพที่ 14 การชันสูตรซากเพื่อตรวจอวัยวะภายใน

ทำการชันสูตรซาก (necropsy) ดัง**ภาพที่ 14** เพื่อตรวจความผิดปกติของอวัยวะภายใน ได้แก่ all orifices, cranial, thoracic และ abdominal cavities ควรตรวจความเป็นพิษต่อระบบประสาท (neurotoxicity) และ พิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunotoxicity) เป็นช่วง ๆ ที่ 3, 6, 12 เดือน และกลุ่ม satellite

- *การชั่งน้ำหนักอวัยวะ (organ weight) และการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology examination)*

แยกอวัยวะต่าง ๆ ออกมาทำการ trim ส่วนเนื้อเยื่ออื่นที่ติดมาแล้วชั่งน้ำหนักทันที ได้แก่ adrenals, brain, epididymis, heart, kidneys, liver, ovaries, spleen, testes, thyroid (weighed post-fixation, with parathyroids), และ uterus ดัง**ภาพที่ 15** แล้วเก็บไว้ใน fixation medium เพื่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology examination) ต่อไป (**ภาพที่ 16**)



ภาพที่ 15 การแยกอวัยวะส่วนต่าง ๆ เพื่อชั่งน้ำหนัก

ภาพที่ 16 การเก็บอวัยวะแช่ในฟอร์มาลิน

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาไม่จำเป็นที่จะตรวจทุกชิ้นเนื้อทุกกลุ่มแต่อย่างน้อยต้องตรวจดังต่อไปนี้

- ตรวจเฉพาะชิ้นเนื้อของอวัยวะของหนูกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบขนาดสูงสุด (highest dose) และกลุ่มควบคุม โดยตรวจชิ้นเนื้อทุกอวัยวะและตรวจทุกตัว
- สัตว์ที่ตายระหว่างการศึกษา
- สัตว์ที่พบความผิดปกติที่มองเห็นด้วยตา
- อวัยวะที่เป็นคู่ เช่น kidney และ adrenal จะต้องถูกตรวจทั้งคู่

การประเมินผลเพื่อกำหนดขนาด (dose) สูงสุดที่ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติ (No Observe Adverse Effect Level; NOAEL) สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือค่าหรือเกณฑ์ปกติของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ทางโลหิตวิทยา (haematology) เคมีคลินิก (clinical chemistry) และปัสสาวะ (urinalysis) รวมทั้งค่าที่เป็นฐานข้อมูลของสัตว์ทดลองจากแหล่งบริการสัตว์ทดลองที่นำมาใช้ในการศึกษาด้วยถึงแม้การเปลี่ยนแปลงของกลุ่ม treatment มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและเป็น dose dependent แต่หากค่าที่แตกต่างนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ (normal range) และพิจารณาร่วมกับผลทางจุลพยาธิวิทยาแล้วไม่พบความผิดปกติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จะประเมินว่าไม่พบความผิดปกติคือ no observe adverse effect ดังนั้นจะกำหนดขนาด (dose)ของสารนั้นเป็นค่า NOAEL (หน่วยเป็น mg/kgBW/d) เพื่อนำมาใช้กำหนดค่า ADI สำหรับมนุษย์ต่อไป

การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวัน (ADI) จากการศึกษาพิษเรื้อรัง

การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์หรือ Acceptable Daily Intake (ADI) (หน่วยเป็น mg/d) โดยค่า NOAEL มาจากการศึกษาในสัตว์ ต้องคำนึงถึงความแตกต่างระหว่างสปีชีย์และระหว่างบุคคลคือนำค่า uncertainty factor (UF) จากสัตว์ไปยังมนุษย์มาพิจารณาร่วมด้วย กรณีค่า NOAEL มาจากการศึกษาพิษเรื้อรังโดยใช้หนูในการศึกษาสามารถกำหนดค่า uncertainty factor (UF) โดยประมาณเท่ากับ 100 (มาจากแฟกเตอร์ 10x10 โดยมาจากความแตกต่างระหว่างสปีชีย์และความแปรปรวนระหว่างตัว)

$$ADI = \frac{NOAEL}{UF}$$

เมื่อ ADI คือค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์ (หน่วยเป็น mg/d)

NOAEL คือขนาดสูงสุดของสารที่ได้รับแล้วไม่ทำให้เกิดความผิดปกติ (หน่วยเป็น mg/kgBW/d)

UF คือ ค่าความแปรปรวนจากความแตกต่างระหว่างสปีชีย์และความแปรปรวนระหว่างตัว (เท่ากับ 100 กรณีการศึกษาพิษเรื้อรัง)

ทั้งนี้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยมาตรฐานคนไทยเท่ากับ 57.57 kg

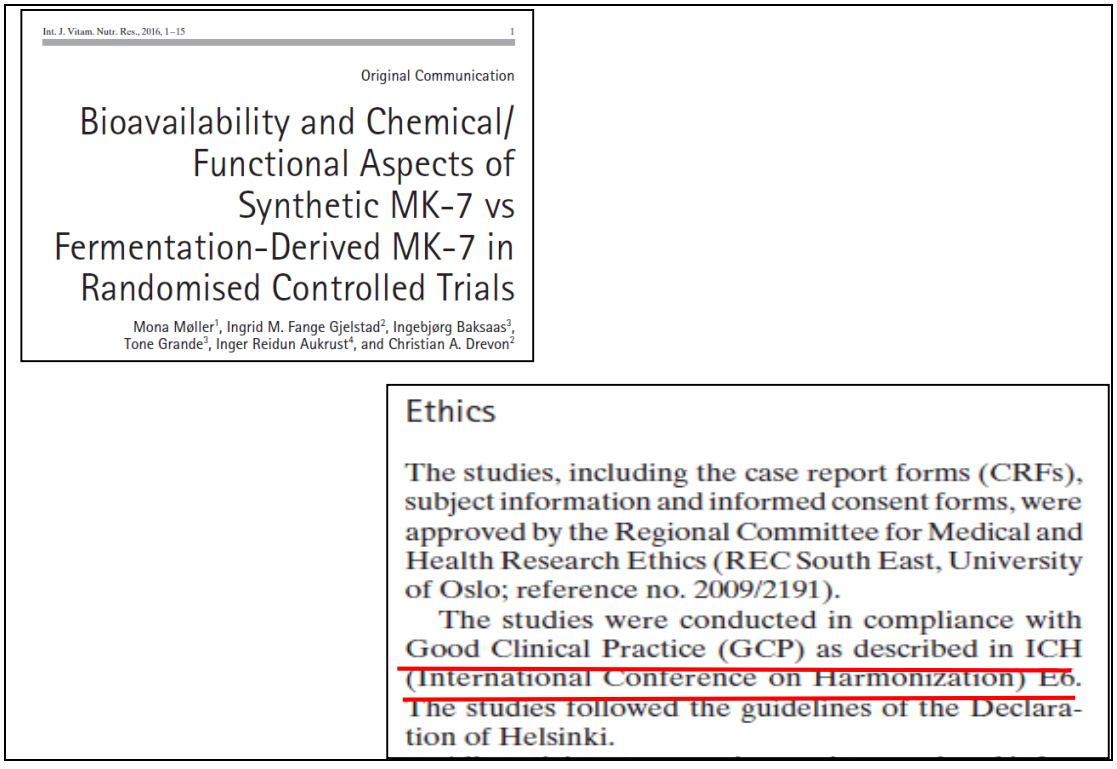
2.4 ผลการศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก หรือทางระบาด (กรณีที่แจ้งความคาดหวังทางสุขภาพในมนุษย์)

การศึกษาในมนุษย์ที่สามารถนำมาใช้กำหนดค่า NOAEL หรือค่าความปลอดภัยในการบริโภคต่อวัน คือ ADI จะต้องเป็นการศึกษาที่อยู่ภายใต้จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โดยอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการจะได้รับความคุ้มครองทางด้านจริยธรรมป้องกันความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้น รายงานการวิจัยที่ผู้ประเมินจะนำมาพิจารณาเพื่อกำหนดเป็นค่า ADI สำหรับสารที่ต้องการประเมินจะมีข้อพิจารณาความน่าเชื่อถือตามลำดับความสำคัญดังต่อไปนี้

1) รายงานการวิจัย (research article) ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการที่มีระบบ peer-review และวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูลที่น่าเชื่อถือในระดับสากล ได้แก่ Scopus, PubMed, Science direct, TOXLINE, TOXNET, NAPRALERT เป็นต้น

2) งานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูลระดับชาติ เช่น ศูนย์ดัชนีอ้างอิงวารสารไทยหรือ (Thailand Citation Index; TCI)

3) รายงานการศึกษาระบุปฏิบัติตามระเบียบวิธีวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล (Good Clinical Practice; GCP) และได้รับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ ตัวอย่างดัง**ภาพที่ 17**



Int. J. Vitam. Nutr. Res., 2016, 1 – 15 1

Original Communication

Bioavailability and Chemical/ Functional Aspects of Synthetic MK-7 vs Fermentation-Derived MK-7 in Randomised Controlled Trials

Mona Møller[1], Ingrid M. Fange Gjelstad[2], Ingebjørg Baksaas[3], Tone Grande[3], Inger Reidun Aukrust[4], and Christian A. Drevon[2]

Ethics

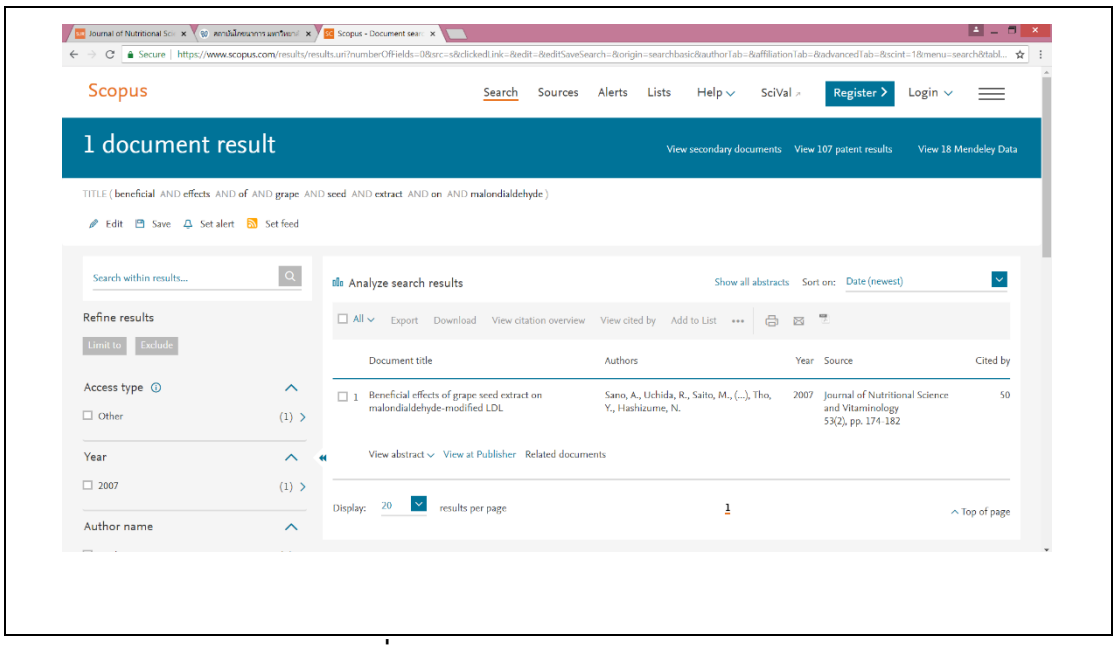
The studies, including the case report forms (CRFs), subject information and informed consent forms, were approved by the Regional Committee for Medical and Health Research Ethics (REC South East, University of Oslo; reference no. 2009/2191).

The studies were conducted in compliance with Good Clinical Practice (GCP) as described in ICH (International Conference on Harmonization) E6. The studies followed the guidelines of the Declaration of Helsinki.

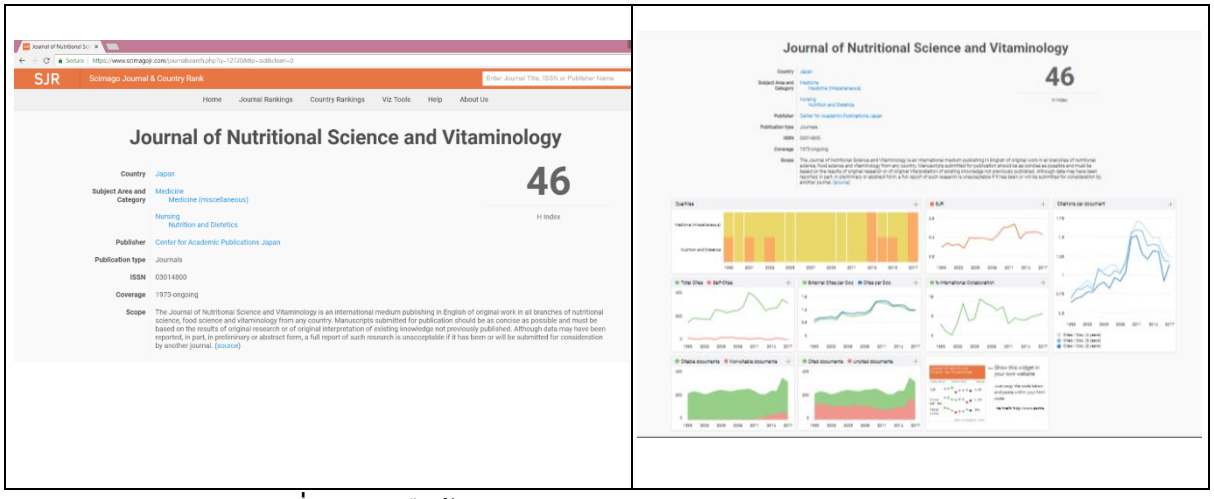
ภาพที่ 17 ตัวอย่างบทความตีพิมพ์ระบุข้อความปฏิบัติตามระเบียบวิธีวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล

- ***วิธีการสืบค้นเอกสารหลักฐาน***

ตัวอย่าง สืบค้นในฐานข้อมูล Scopus เข้าถึงจากลิงก์ https://www.scopus.com/sources.uri สามารถดูข้อมูล citation ของวารสารที่ต้องการสืบค้นหรือสืบค้นว่างานวิจัยอยู่ในฐานข้อมูล Scopus ดัง **ภาพที่ 18** หรือดู journal ranking จาก Scimago Institutes Ranking เพื่อหาค่า Quartiles ของวารสาร สามารถเข้าถึงจาก https://www.scimagojr.com/ ดัง**ภาพที่ 19**

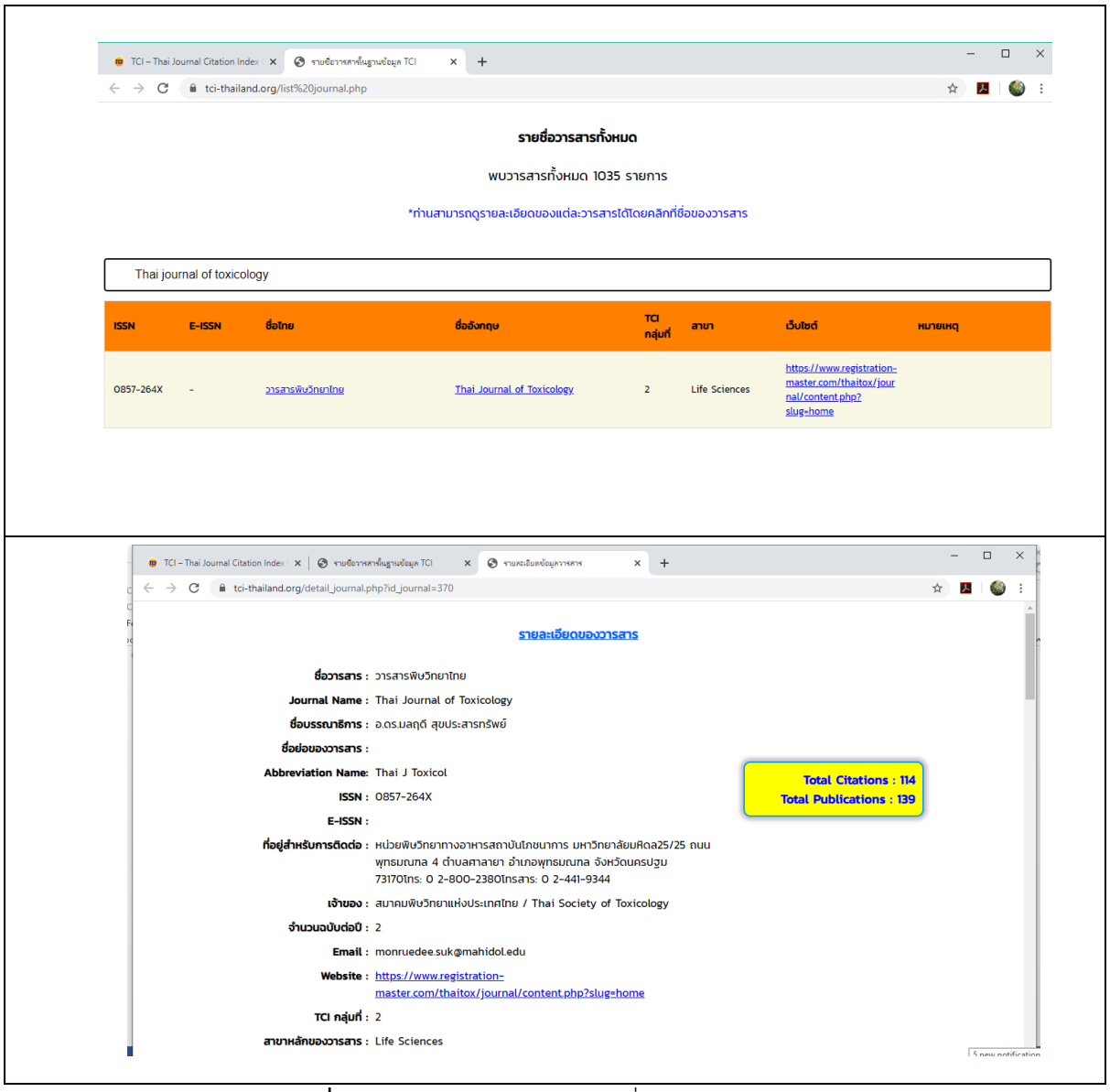


ภาพที่ 18 การสืบค้นในฐานข้อมูล Scopus



ภาพที่ 19 การสืบค้น Journal ranking จาก Scimago Institutes Ranking

การตรวจสอบรายชื่อวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI สามารถเข้าถึงจากลิงก์ https://tci-thailand.org/list%20journal.php แสดงตัวอย่างดัง**ภาพที่ 20** หาก Journal ที่สืบค้นไม่ปรากฏในฐานข้อมูลต่าง ๆ ที่กล่าวมา จะมีผลให้น้ำหนักหลักฐานของงานวิจัยที่นำมาอ้างอิงมีความน่าเชื่อถือน้อยลง



ภาพที่ 20 การสืบค้นข้อมูลวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI

การออกแบบการศึกษาในมนุษย์จะถูกควบคุมอย่างเข้มงวดเพื่อให้มั่นใจว่าอาสาสมัครจะได้รับการคุ้มครองทางด้านจริยธรรม กฎหมายและหลีกเลี่ยงความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นนั้นได้ซึ่งเป็นข้อบังคับที่ต้องปฏิบัติ ดังนั้นในการวางแผนการทำงานทางคลินิกเพื่อพิสูจน์แผนโครงการที่ทำการศึกษาในมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเกี่ยวข้องกับข้อมูลที่จะถูกนำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยงจำเป็นต้องบอกปัจจัยความไม่แน่นอนหรือความแปรปรวน (uncertainty) เกี่ยวกับความเสี่ยงต่าง ๆ ที่ผู้เข้าร่วมอาจจะได้รับสัมผัสได้โดยการวางแผนการศึกษาต้องทำให้เกิดความชัดเจนด้วยการอธิบายวัตถุประสงค์เกี่ยวกับผลต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นจะทำให้ได้ข้อมูลสำคัญเพื่อนำมาประกอบการประเมินสารนั้นซึ่งต้องแสดงให้เห็นว่าที่มาของข้อมูลมาได้อย่างไร เช่น ข้อมูลจากการทดลองที่ใช้วิธีการดั้งเดิม การทดลองแบบ non-clinical การศึกษาที่ทำการศึกษานอกสัตว์ทดลอง (*in vitro*) และ *ex vivo* ที่มีการใช้เนื้อเยื่อของมนุษย์หรือมีการเตรียมส่วนผสมที่แสดงคุณสมบัติเหมือนเอนไซม์ในมนุษย์ เป็นต้น แต่พึงระลึกเสมอว่าข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดจะมีน้ำหนักไม่เท่ากันเมื่อนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการประเมินความเสี่ยง การควบคุมปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดในการศึกษาในบุคคลที่

มีสุขภาพดีคือ ต้องมีการระบุอันตรายที่อาจเกิดขึ้นและมีระบบการบันทึกอาการไม่พึงประสงค์ (adverse effect) ที่เกิดขึ้น การประเมินค่าพารามิเตอร์พื้นฐาน ทั้งนี้หลักการประเมินความเสี่ยงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะถูกนำมาใช้โดยคณะกรรมการวิจัยของหน่วยงาน (The institutional review board)

- ***การศึกษาในมนุษย์เพื่อนำมากำหนดค่า NOAEL***

การศึกษาทางคลินิกที่มีการออกแบบอย่างดี (well-designed human intervention study) สามารถนำมากำหนดค่า NOAEL หรือ LOAEL ได้จะต้องมีการออกแบบการศึกษาที่เรียกว่า Randomized controlled trial (RCT) ซึ่งมีกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับสารทดสอบและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารทดสอบหรือได้รับยาหลอก (placebo) ควรมีกลุ่มศึกษาที่ได้รับสารในขนาด (dose) ที่แตกต่างกันเพื่อดูผลลัพธ์ที่เปลี่ยนแปลงว่าเป็น dose response หรือไม่ หากไม่ได้ทำการศึกษาในอาสาสมัครหลายกลุ่มที่ได้รับสารขนาด (dose) แตกต่างกันสามารถดูผลลัพธ์ภายในกลุ่มอาสาสมัครเดียวกันที่เวลาแตกต่างกันหลังจากได้รับสารทดสอบ โดยการเปลี่ยนแปลงสามารถเปรียบเทียบกับช่วงก่อนรับสาร (baseline) การศึกษาควรทำในอาสาสมัครสุขภาพดีที่มีจำนวนเพียงพอที่จะมีผลลัพธ์อย่างมีนัยสำคัญโดยใช้หลักการทางสถิติคำนวณขนาดตัวอย่าง ต้องไม่มีความแตกต่างของข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการโดยการกำหนด inclusion และ exclusion criteria

ผลลัพธ์ที่จะใช้ประเมินความเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพ ได้แก่ ความไม่ทน (intolerance) ภาวะโภชนาการและลักษณะการทำหน้าที่ของอาหารและองค์ประกอบอาหาร เมตาบอลิซึม (metabolic process) และพิษจลนศาสตร์ (toxicokinetics) ของสารรวมทั้งกลไกหรือรูปแบบการทำงาน ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) ผลกระทบต่อการทำงานของระบบกระเพาะอาหารและลำไส้ (gastrointestinal tract) ตัวอย่างดัชนีชี้วัด (biomarkers) ของค่าเคมีคลิกนิกในเลือดแสดงใน**ภาพที่ 21**

ผู้ประเมินฯสามารถใช้รายงานวิจัยทางคลินิกที่เป็นการออกแบบการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์ในการดูประสิทธิผล (efficacy study) ของสารที่ต้องการประเมินความปลอดภัย โดยพิจารณาผลลัพธ์ของการศึกษานั้นว่ามีการตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ทางพิษวิทยาที่บอกความผิดปกติของอวัยวะ เช่น ตับ (ค่าเอนไซม์ต่าง ๆ ในตับ) หรือไต (Blood urea nitrogen) หรือไม่อย่างไร

Table 2. Clinical data.

Item	Unit	Placebo	200 mg	400 mg
Sex	M/F	10/10	10/11	9/11
Age	Year	53.2±2.1	51.0±2.4	52.9±2.0
Height	cm	161±1.8	161±2.0	160±1.8
Body weight	kg	63.1±2.18	63.5±2.68	62.3±2.47
BMI		24.4±0.59	24.2±0.66	24.1±0.62
Systolic blood pressure	mmHg	126.4±4.5	127.0±3.2	125.2±3.1
Diastolic blood pressure	mmHg	78.6±2.5	76.5±1.8	79.1±2.0
Pulse	bpm	65.3±1.3	64.9±2.4	67.8±1.9
White blood cell count	/μL	5725±273	6100±366	5975±419
Red blood cell count	$\times 10^4/\mu L$	442±12	448±9	449±11
Hemoglobin	/μL	13.7±0.31	13.9±0.31	13.9±0.31
Hematocrit	%	40.8±1.01	41.4±0.93	41.5±1.03
Platelet count	$\times 10^4/\mu L$	25.3±0.87	24.5±0.99	25.1±1.38
LDL-Cholesterol	mg/dL	133±5.0	134±3.7	133±3.5
HDL-Cholesterol	mg/dL	58±2.6	63±3.2	65±2.9
Total cholesterol	mg/dL	224±5.7	225±5.3	225±4.4
Triglycerides	mg/dL	135±19.3	116±11.9	119±14.0
Total protein	mg/dL	7.3±0.10	7.3±0.10	7.3±0.09
Albumin	mg/dL	4.4±0.05	4.4±0.05	4.6±0.05
A/G	mg/dL	1.6±0.03	1.6±0.05	1.7±0.04
Total bilirubin	mg/dL	0.77±0.05	0.68±0.04	0.73±0.04
AST (GOT)	IU/L/37°C	22.0±1.97	20.2±1.14	23.1±1.54
ALT (GPT)	IU/L/37°C	25.3±2.84	25.8±3.45	27.9±2.41
ALP	IU/L/37°C	214±12.3	230±14.3	212±13.2
LDH	IU/L/37°C	171±5.4	179±4.5	172±6.4
γ-GTP	IU/L/37°C	38.1±7.33	29.3±4.87	33.6±4.59
CPK	IU/L/37°C	108±7.6	108±8.7	115±9.3
Uric acid	mg/dL	5.6±0.31	5.2±0.26	5.2±0.33
Blood urea nitrogen	mg/dL	13.5±0.62	14.5±0.77	12.7±0.50
Creatinine	mg/dL	0.76±0.03	0.73±0.03	0.69±0.03
Glucose	mg/dL	101±2.9	96±1.7	98±1.7
HbA_{1c}	%	4.94±0.10	5.00±0.07	5.03±0.08

Data represent means±SE.

ภาพที่ 21 แสดงผลค่าพารามิเตอร์ทางพิษวิทยาจากผลค่าเคมีคลินิกในเลือดของการศึกษาทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดี
(ที่มา: Sano et al, 2007)

- ***การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวัน (ADI) จากการศึกษาในมนุษย์***

การกำหนดค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์หรือ Acceptable Daily Intake (ADI) (หน่วยเป็น mg/d) โดยค่า NOAEL (หน่วยเป็น mg/d) มาจากการศึกษาทางคลินิกในมนุษย์ กรณีการศึกษามาจากงานวิจัยคุณภาพดี (randomized double blind placebo control trial) ศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดี ระยะเวลาที่ได้รับสารทดสอบนานพอ (มากกว่า 3 เดือน) และขนาด (dose) กำหนดเป็น NOAEL คือขนาดสูงสุดที่ไม่พบความผิดปกติ ผู้ประเมินสามารถกำหนดค่า uncertainty factor (UF) เท่ากับ 1 แต่หากเงื่อนไขไม่เป็นไปตามที่กล่าวมาสามารถเพิ่มค่า UF มากกว่า 1 ได้ โดยทั่วไปสามารถกำหนดค่า UF ได้ระหว่าง 1-10

$$ADI = \frac{NOAEL}{UF}$$

เมื่อ ADI คือค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์ (หน่วยเป็น mg/d)

NOAEL คือขนาดสูงสุดของสารที่ได้รับแล้วไม่ทำให้เกิดความผิดปกติ (หน่วยเป็น mg/d กรณีการศึกษาในมนุษย์)

UF คือ ค่าความแปรปรวน (เท่ากับ 1-10 กรณีการศึกษาในมนุษย์)

2.5 ผลการทดสอบอื่น ๆ เช่น ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการของตัวอ่อน (ถ้ามี)

นอกจากข้อมูลการทดสอบด้านพิษวิทยาเพื่อนำมากำหนดค่า NOAEL แล้ว ผลการทดสอบอื่น ๆ ที่จำเป็นต้องนำมาประกอบการพิจารณาด้านความปลอดภัยสำหรับผู้ประเมินฯ หากผลการทดสอบทางพิษวิทยาพบว่าสารที่ทดสอบมีแนวโน้มที่จะมีผลต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ในสัตว์เพศผู้หรือเพศเมียให้ทำการสืบค้นข้อมูลด้านพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการของตัวอ่อนของสารดังกล่าวหรือสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เนื่องจากผลกระทบที่เป็นผลเสียต่อระบบสืบพันธุ์จะแสดงถึง การลดลงของการปฏิสนธิ (fertility) ในสัตว์ทดลองรุ่นพ่อแม่หรือรุ่นลูกซึ่งส่งผลต่อความผิดปกติของรูปร่าง (morphology) ของตัวอ่อน กระทบต่อกระบวนการทางชีวเคมี พันธุกรรม หรือสรีรวิทยาของสัตว์หรือมนุษย์ หากสารนั้นแสดงผลกระทบต่อพัฒนาการของร่างกายอาจส่งผลต่อความผิดปกติของการเจริญเติบโต โครงสร้างหรือการทำงานที่ผิดปกติ ซึ่งความผิดปกติด้านพัฒนาการอาจแสดงออกทันทีหรืออาจต้องใช้เวลานานหลายปี

- ***พิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproductive toxicity)***

ตัวชี้วัดที่ถูกนำมาพิจารณาถึงความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ มีดังต่อไปนี้

<u>รุ่นพ่อแม่และรุ่นลูก</u>:

- ตัวอสุจิ: จำนวน การเคลื่อนที่ โครงสร้างและส่วนประกอบ (morphology) และอัตราในการผลิตตัวอสุจิ
- เซลล์ของช่องคลอดในช่วงที่เป็นสัด
- ระดับฮอร์โมน
- การผสมพันธุ์
- อัตราการตั้งครรภ์
- น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น รังไข่และอัณฑะ อวัยวะสืบพันธุ์ (gonads) มดลูก (uterus) ท่อน้ำเชื้ออสุจิ (epididymis) และต่อมเพศ (accessory sex glands)
- พยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์
- พฤติกรรมการสืบพันธุ์ (reproductive behavior)

<u>รุ่นลูก:</u>

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

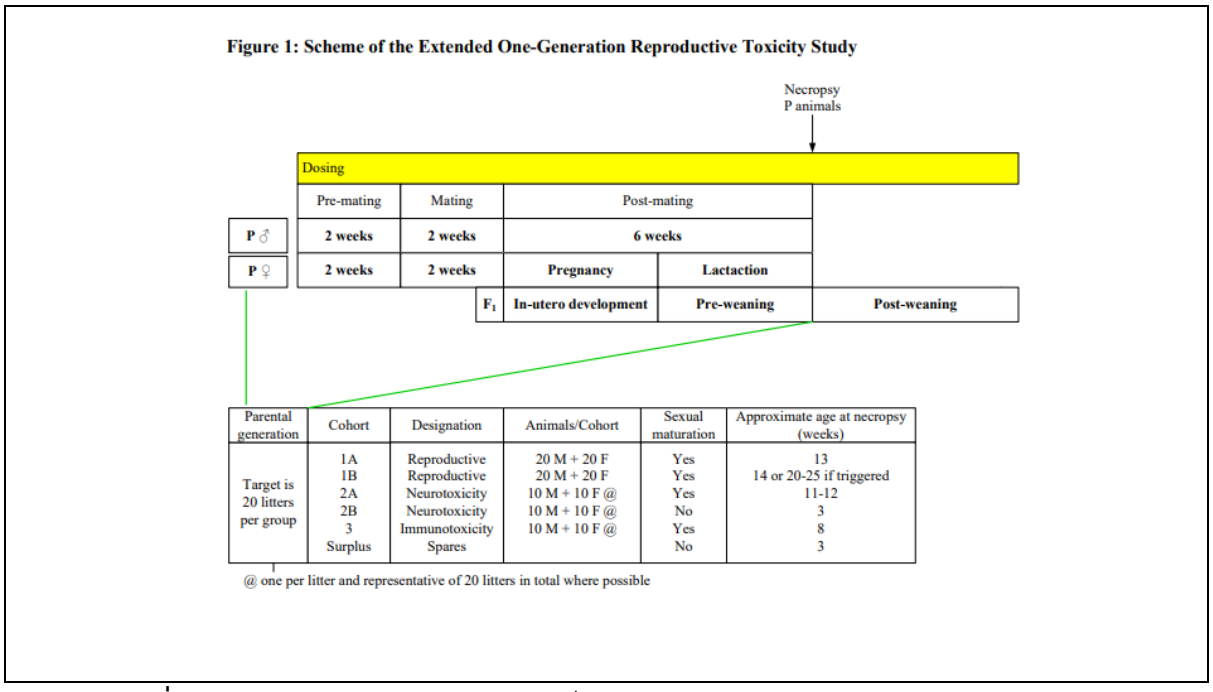
ผลลัพธ์สุดท้ายที่กล่าวมาทั้งหมด ให้ทำการประเมินเปรียบเทียบกับภาวะปกติว่ามีความแตกต่างมากน้อยเพียงใด ส่วนใหญ่ใช้หนูแรทในการศึกษาแบบหลายรุ่น (multigeneration) ทั้งนี้เนื่องมาจากระยะเวลาสั้น ค่าใช้จ่ายน้อย และความยุ่งยากซับซ้อนน้อย ส่วนการระบุอันตราย (hazard identification) ของสารทดสอบยังคงใช้วิธีการประเมินหลายแบบอ้างอิงตาม OECD Test guideline ดังต่อไปนี้

- OECD Test Guideline NO. 443: Extended One-Generation Reproduction Toxicity Study (OECD, 2018) รายละเอียดดูจาก https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-443-extended-one-generation-reproductive-toxicity-study_9789264185371-en ซึ่งOECDใช้แทน OECD Test Guideline NO. 415: One-Generation Reproduction Toxicity Study (OECD, 1983) ที่ยกเลิกไป เมื่อธันวาคม 2019
- OECD Test Guideline NO. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD, 2016) รายละเอียดดูจาก https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-421-reproduction-developmental-toxicity-screening-test_9789264264380-en เป็น guideline ที่ปรับปรุงใหม่โดยเพิ่มผลลัพธ์สุดท้ายในการตรวจ endocrine disruptor โดยการทดสอบออกแบบให้การได้รับสารทดสอบครอบคลุมระยะเวลาที่ไวต่อการทำให้เกิดความผิดปกติต่อพัฒนาการของตัวอ่อน (ช่วงก่อนและหลังคลอด)
- OECD Test Guideline NO. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD, 2016) รายละเอียดดูจาก https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-422-combined-repeated-dose-toxicity-study-with-the-reproduction-developmental-toxicity-screening-test_9789264264403-en เป็น screening test เพื่อดูผลของสารต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย การปรับปรุง guideline เพิ่มเติมคือเพิ่มการตรวจวัดผลลัพธ์ด้าน endocrine disruptor โดยเฉพาะมีการวัดระยะห่างระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์และทวารหนัก (anogenital distance) หัวนมและวงดำรอบหัวนมที่ยังคงอยู่ในลูกหนูเพศผู้ (male nipple retention) และตรวจสอบการทำงานของ thyroid

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

การออกแบบการศึกษาอ้างอิงจาก OECD Test Guideline NO. 443: Extended One-Generation Reproduction Toxicity Study แสดงใน**ภาพที่ 22** ทั้งนี้สารทดสอบจะถูกให้กับหนูรุ่นพ่อแม่ 2 สัปดาห์ก่อนการผสมพันธุ์ (mating) และช่วงผสมพันธุ์ 2 สัปดาห์หลังจากนั้นพ่อหนูจะได้รับสารต่อเนื่องไปจนถึงลูกหย่านม (weaning) ในขณะที่แม่หนูจะได้รับสารต่อเนื่องครอบคลุมช่วงตั้งครรภ์ ระยะให้นมจนถึงเวลาที่ลูกหนูหย่านม

ดังนั้นช่วง treatment รวมเป็นเวลา 8-10 สัปดาห์



ภาพที่ 22 แผนภาพแสดงการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ (reproductive toxicity) แบบรุ่นเดียว (single generation)

P: หนูรุ่นพ่อแม่ F_1: ลูกหนูรุ่นที่ 1

(ที่มา: OECD, 2018)

- ***พิษต่อพัฒนาการของตัวอ่อน (Developmental toxicity)***

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

การทดสอบความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนจะถูกทดสอบในสัตว์ 2 ชนิด (species) คือ สัตว์กัดแทะ (rodent) เช่น หนูแรท และสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์กัดแทะ (non-rodent) เช่น กระต่าย ผลในการทดสอบจะได้รับความเชื่อมั่นเป็นอย่างมากหากการทดสอบนั้นใช้สัตว์มากกว่าหนึ่งชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากไม่พบการเกิดพิษในการทดสอบที่ใช้สัตว์ชนิดแรก แต่หากพบการเกิดพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายในสัตว์ชนิดแรกแล้ว ก็เป็นไปได้ที่ข้อมูลการใช้สัตว์เพียงชนิดเดียวนั้นจะเพียงพอสำหรับการประเมิน

ผลลัพธ์ที่ใช้เป็นตัวชี้วัดความผิดปกติของพัฒนาการของตัวอ่อน มีดังต่อไปนี้

- จำนวนการฝังตัว (implantations) และ corpora lutea แสดงร่องรอยของไข่ได้รับการผสมแต่ไม่มีการฝังตัว
- จำนวนตัวอ่อนที่ฝังตัวแต่ตาย (post-implantation loss)
- ขนาดของครอก (litter size)
- สัดส่วนของเพศ (sex ratio)
- อัตราส่วนของ litter/fetal weight
- ระยะห่างระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์และทวารหนักของตัวอ่อน (fetal anogenital distance)
- การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ (soft tissue) โครงกระดูก (skeletal)
- การตรวจสอบอวัยวะเพศของตัวอ่อน โดย gross examination
- การตรวจภายในของอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอ่อน
- ความไม่สมบูรณ์ของลูกอัณฑะไม่อยู่ในถุงอัณฑะ (testicular descent/cryptorchidism) ในตัวอ่อนเพศผู้

การประเมินความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนได้มีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงในเรื่องของการเพิ่มขอบเขตและการตอบสนองของการประเมินความเป็นพิษต่อการพัฒนาการของร่างกายดังนี้

- การขยายช่วงของการสัมผัสสารให้นานขึ้น ตั้งแต่ช่วงการฝังตัว (implantation) ของตัวอ่อนตลอดไปจนถึงการปิดของเพดานในช่องปากของตัวอ่อนเสร็จสิ้น (closure of the palate) เป็นการแสดงว่ากระบวนการสร้างอวัยวะของตัวอ่อนครบถ้วนแล้ว (organogenesis) (ตรงกับวันที่ 6-15 ของอายุครรภ์ของหนูแรท) ตลอดไปจนถึงช่วงสุดท้ายของการตั้งครรภ์จนถึงก่อนวันที่จะทำการุณยฆาตซึ่งจะครอบคลุมการพัฒนาอวัยวะช่วงสุดท้าย เช่น ระบบสืบพันธุ์และระบบประสาทส่วนกล่างของตัวอ่อน
- การทดสอบกระดูกและกระดูกอ่อน (cartilage) ซึ่งกระดูกอ่อนจะสามารถให้ข้อมูลสำหรับการตัดสินหรือการประเมินการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างกระดูก (skeletal) ซึ่งส่งผลต่อความผิดปกติของโครงสร้าง

จากการทบทวน OECD Test Guideline NO. 414 ในปี ค.ศ. 2018 มีการตรวจวัดพารามิเตอร์เพิ่มเติมจากguideline เดิมที่ adopt ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2001 โดยเพิ่มด้านต่อมไร้ท่อ (endocrine) ได้แก่ (anti)estrogen, (anti)androgen, thyroid และวัดระดับฮอร์โมน T4, T3 และ TSH ในแม่ตั้งครรภ์

- ***การกำหนดค่า NOAEL จากการศึกษาพิษต่อระบบสืบพันธุ์***

สามารถนำปริมาณหรือขนาด(dose)ของสารจากการทดสอบพิษต่อระบบสืบพันธุ์ที่ออกแบบการศึกษาตาม OECD Test Guideline NO. 443: Extended One-Generation Reproduction Toxicity Study (OECD, 2018) มากำหนดค่า No-Observed Adverse Effect Levels (NOAELs) หรือค่า Lowest Observed Adverse Effect Levels (LOAELs) ได้ เนื่องจากวัตถุประสงค์หลักของการศึกษามีการดูผลลัพธ์ด้านระบบสืบพันธุ์ของเพศผู้และเพศเมีย ได้แก่ การทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadal function) วงจรการ

เป็นสัด (oestrous cycle) พัฒนาการของท่อน้ำเชื้ออสุจิ (epididymal sperm maturation) พฤติกรรมการผสมพันธุ์ (mating behavior) conception ตั้งครรภ์ (pregnancy) การคลอดลูก (parturition) และ การหลั่งน้ำนม (lactation) ในขณะที่มีการประเมินด้านพิษต่อระบบประสาท (neurotoxicity) และพิษต่อภูมิคุ้มกันของพัฒนาการของตัวอ่อน (developmental immunotoxicity) ส่วนค่าพารามิเตอร์ทางพิษวิทยาต่าง ๆ ก็มีการประเมินครบถ้วนทั้งค่าทางโลหิตวิทยา (hematology) เคมีคลินิก (clinical chemistry) การวิเคราะห์ปัสสาวะ (urinalysis) การชั่งน้ำหนักอวัยวะ (organ weight) รวมทั้งการตรวจทางพยาธิวิทยา (pathology) และระยะเวลาที่ทำการศึกษาจัดเป็นการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง

สรุปและการดำเนินงานขั้นต่อไป

การดำเนินการเตรียมเอกสารตามที่ระบุในคู่มือฉบับนี้แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ 1. ข้อมูลทั่วไป 2. ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดจะได้จากข้อมูลด้านการผลิต การวิเคราะห์คุณภาพมาตรฐานวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ จากผู้ผลิต ส่วนผลการทดสอบด้านพิษวิทยาของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการประเมินหรือเป็นข้อมูลที่อ้างอิงสืบค้นจากแหล่งข้อมูลทางวิชาการจะเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างผู้ผลิตและหน่วยประเมินฯ ขั้นตอนที่กล่าวมาทั้งหมดในคู่มือฉบับนี้เป็นการดำเนินการในเฟส 1 ของการประเมินเท่านั้นเพื่อนำข้อมูลมาประกอบการประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่ในเฟส 2 ต่อไป ซึ่งในเฟส 2 จะเป็นขั้นตอนของคณะผู้เชี่ยวชาญของหน่วยประเมินฯที่จะกำหนดค่าความปลอดภัยโดยพิจารณาเอกสารหลักฐานการศึกษาทางพิษวิทยาในสัตว์ทดลองและการศึกษาทางคลินิกในมนุษย์ โดยมีความเห็นของคณะผู้เชี่ยวชาญตกลงร่วมกันในการกำหนดค่าค่าความปลอดภัยในการได้รับสารต่อวันของมนุษย์ (ADI) หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อวัน แล้วจึงพิจารณาขนาดบริโภคต่อวันที่ผู้ประกอบการจะแนะนำให้บริโภค โดยปริมาณที่แนะนำต่อวันจะต้องมีค่าต่ำกว่าค่า ADI ที่กำหนด นอกจากนั้นหากมีประเด็นใดที่มีหลักฐานทางวิชาการระบุว่าก่อให้เกิดความเสี่ยงของการบริโภคในบางสภาวะ หรืออาจมีสารพิษที่มีผลกระทบต่อสุขภาพที่ต้องกำจัดออกให้หลงเหลือน้อยสุดที่จะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ หน่วยประเมินฯจะต้องระบุเป็นข้อคิดเห็นเพื่อเสนอรายงานต่อสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเพื่อพิจารณาต่อไป ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ที่มีการจัดทำรายงานความปลอดภัยโดยหน่วยประเมินฯจะได้รับอนุญาตจำหน่ายหรือไม่จะต้องผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้จัดการความเสี่ยง (risk manager) ซึ่งในขั้นตอนนี้จะมีการพิจารณาประเด็นด้านการบริหารจัดการความเสี่ยงด้วยในขณะที่หน่วยประเมินฯทำหน้าที่ในเชิงวิชาการพิจารณาด้านความปลอดภัยเป็นหลักเรียกว่าผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessor) ซึ่งเป็นไปตามหลักการประเมินความเสี่ยงที่ควรแยกกันระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยงและผู้จัดการความเสี่ยงนั่นเอง

เอกสารอ้างอิง

ชนิพรรณ บุตรยี่. (2562). หน่วยที่ 8 พิษวิทยาและภูมิแพ้อาหาร: กลไกการจัดการสารพิษในร่างกายและการทดสอบทางพิษวิทยาและภูมิแพ้อาหาร. ใน มนัสนันทน์ จริตงาม (บรรณาธิการ),เอกสารการสอนชุดวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐานสำหรับงานอาหารและโภชนาการ/สาขาวิชามนุษยนิเวศศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.หน่วยที่ 1-8. 523 หน้า.นนทบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

Bentivegna, S.S., Whitney, K.M. (2002). Subchronic 3 month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. Food and Chemical Toxicology 40,1731-1743.

Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party On Chemicals, Pesticides and Biotechnology. (2001). OECD series on testing and assessment number 24: Guidance document on acute oral toxicity testing. [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2001)4&doclanguage=en]

Janwitthayanuchit, K., Kupradinun, P., Rungsipipat, A., Kettawan, A., Butryee, C. (2016). A 24-weeks toxicity study of *Eryngium foetidum* Linn. leaves in mice. Toxicol. Res. 32(3),1-7.

OECD (1997). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4-Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test. [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-471-bacterial-reverse-mutation-test_9789264071247-en]

OECD (2001).OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. [https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl420.pdf]

OECD (2016). Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD TG 422). [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-422-combined-repeated-dose-toxicity-study-with-the-reproduction-developmental-toxicity-screening-test_9789264264403-en]

OECD (2016). Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (OECD TG 421). [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-421-reproduction-developmental-toxicity-screening-test_9789264264380-en]

OECD (2018). Chronic Toxicity Study (OECD TG 452). [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-452-chronic-toxicity-studies_9789264071209-en]

OECD (2018). Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies (OECD TG 453). [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-453-combined-chronic-toxicity-carcinogenicity-studies_9789264071223-en]

OECD (2018). Extended One-Generation Reproduction Toxicity Study (OECD TG 443). [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-443-extended-one-generation-reproductive-toxicity-study_9789264185371-en]

OECD (2018). Prenatal Developmental Toxicity Study (OECD TG 414). [https://www.oecd-ilibrary.org/search?value1=OECD414&option1=quicksearch&facetOptions=51&facetNames=pub_igoId_facet&operator51=AND&option51=pub_igoId_facet&value51=%27igo%2Foecd%27&publisherId=%2Fcontent%2Figo%2Foecd&searchType=quick]

OECD (2018). Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents (OECD TG 408). In Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption, OECD Publishing, Paris. DOI: https://doi.org/10.1787/9789264304741-23-en. [https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264304741-23-en.pdf?expires=1589894949&id=id&accname=guest&checksum=556C447355FFF88FC31A916757A29A00]

Sano, A., Uchda, R., Saito, M., Shioya, N., Komori, Y., Tho, Y., Hashizume, N. (2007). Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde modified LDL. J Nutr Sci Vitaminol.53(2),174-82.

Yamakoshi, J., Saito, M., Kataoka, S., Kikuchi, M. (2002). Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. Food and Chemical Toxicology 40,599–607.

ภาคผนวก ก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ ๓๗๖) พ.ศ. ๒๕๕๙

เรื่อง อาหารใหม่ (Novel food)

ด้วยปัจจุบันมีการนำวัตถุที่ไม่เคยบริโภคเป็นอาหารมาใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหาร อีกทั้งมีการพัฒนากระบวนการผลิตอาหารโดยใช้เทคโนโลยีที่ไม่เคยใช้มาก่อน จึงสมควรมีมาตรการการประเมินความปลอดภัยรองรับเพื่อคุ้มครองผู้บริโภค

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่งและมาตรา ๖ (๓) (๙) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ในประกาศนี้ “อาหารใหม่ (Novel food)” หมายความว่า

(๑) วัตถุที่ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ปรากฏหลักฐานทางวิชาการว่ามีประวัติการบริโภคเป็นอาหารน้อยกว่าสิบห้าปี หรือ

(๒) วัตถุที่ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ได้จากกระบวนการผลิตที่มิใช่กระบวนการผลิตโดยทั่วไปของอาหารนั้น ๆ ที่ทำให้ส่วนประกอบ โครงสร้างของอาหาร รูปแบบของอาหารนั้นเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ กระบวนการทางเคมีภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (metabolism) หรือระดับของสารที่ไม่พึงประสงค์ (level of undesirable substances)

(๓) ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีวัตถุ (๑) หรือ (๒) เป็นส่วนประกอบ

ทั้งนี้ ไม่รวมถึงวัตถุเจือปนอาหาร และอาหารที่ได้จากเทคนิคการดัดแปรพันธุกรรม

ข้อ ๒ ให้อาหารใหม่ เป็นอาหารที่ต้องผ่านการประเมินความปลอดภัยก่อนและต้องส่งมอบฉลากให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาตรวจอนุมัติก่อนนำไปใช้

ข้อ ๓ การประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ ต้องยื่นผลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาให้การยอมรับและหลักฐานอื่นตามบัญชีแนบท้ายประกาศนี้

ข้อ ๔ อาหารใหม่ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน และเงื่อนไขการใช้ตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบ

ข้อ ๕ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าอาหารใหม่ เพื่อจำหน่ายต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับนี้ ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องนั้น ๆ และประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่เกี่ยวข้อง

ข้อ ๖ การแสดงฉลากของอาหารใหม่ ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง การแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ เว้นแต่การแสดงวันเดือนปีที่ผลิตและวันเดือนปีที่หมดอายุการบริโภค ให้แสดงวันเดือนปีที่ผลิตและวันเดือนปีที่หมดอายุการบริโภค โดยเรียงวันเดือนปีตามลำดับ และมีข้อความว่า “ผลิต” “หมดอายุ” หรือ “ควรบริโภคก่อน” กำกับไว้ด้วย แล้วแต่กรณี และต้องแสดงข้อความเพิ่มเติม ดังนี้

(๑) ชื่อสารสำคัญ (ถ้ามี)

(๒) วิธีการบริโภค วิธีการใช้หรือเงื่อนไขการใช้ เช่น ประเภทหรือชนิดอาหารและปริมาณการใช้สูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ได้

ข้อ ๗ ประกาศนี้ ไม่ใช้บังคับกับ

(๑) อาหารใหม่ที่ผลิตเพื่อการส่งออก

(๒) อาหารใหม่ที่ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าได้รับอนุญาตก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ ๘ ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๙ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๙
ปิยะสกล สกลสัตยาทร
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

บัญชีแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๗๖) พ.ศ. ๒๕๕๙
เรื่อง อาหารใหม่ (Novel food)

---

๑. ข้อมูลพื้นฐานประกอบการพิจารณาประเมินความปลอดภัย

ข้าพเจ้า ..... ในนามของ (บริษัท/ ห้าง/ ร้าน) ..... ซึ่งมีสำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ ณ เลขที่ .....ซอย ..... ถนน ..... หมู่ที่ ..... ตำบล/แขวง .....อำเภอ/เขต .....จังหวัด ..... โทร. ..... โทรศัพท์มือถือ..... โทรสาร. ..... E-mail.....

มีความประสงค์จะประเมินความปลอดภัย อาหารใหม่ (Novel Food) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง อาหารใหม่ (Novel food) โดยมีเอกสารประกอบการพิจารณาโดยสรุปรายละเอียด ได้ดังนี้

๑. ชื่อผลิตภัณฑ์อาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่จะขอประเมินความปลอดภัย
- ภาษาไทย.....
- ภาษาอังกฤษ.....
- ชื่อวิทยาศาสตร์.....
- ชื่อทางเคมีและสูตรโมเลกุล .....
- สูตรส่วนประกอบ (๑๐๐%) .....
- ชื่อสารสำคัญ (ถ้ามี) .....

๒. กระบวนการผลิต

☐ รายละเอียดกระบวนการผลิต/นวัตกรรมหรือเทคโนโลยีในการผลิต

.....

☐ ชนิด ความเข้มข้นของตัวทำละลายและอัตราส่วนระหว่างปริมาณส่วนประกอบต่อสารสกัด-extract ratio) (กรณีเป็นสารสกัด)

.....

๓. วิธีการเตรียมก่อนบริโภคและขนาดการบริโภคที่แนะนำต่อวัน

.....

.....

๔. วัตถุประสงค์ของการใช้เป็นอาหาร/ความคาดหวังจากการบริโภค เช่น เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

.....

.....

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งหลักฐานประกอบการพิจารณาประเมินความปลอดภัย ซึ่งมีรายละเอียดตามเอกสารที่ได้แนบมาพร้อมนี้

ลงชื่อ ..... ผู้ยื่นขอประเมิน

(.....)

วัน/เดือน/ปี .....

๒. หลักฐานประกอบการประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

ลำดับ	รายการเอกสาร	จำนวน (ฉบับ)
๑	**ข้อมูลทั่วไปของส่วนประกอบ**	
๑.๑	ชื่อทางวิทยาศาสตร์ ชื่อเคมี หรือชื่อสามัญ	
๑.๒	ส่วนของส่วนประกอบที่นำมาใช้ **(part of use)**	
๑.๓	แหล่งกำเนิดทางภูมิศาสตร์/แหล่งที่มาของส่วนประกอบ	
๒.	**ข้อมูลทั่วไปของผลิตภัณฑ์**	
๒.๑	สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์	
๒.๒	วัตถุประสงค์การใช้ของผลิตภัณฑ์	
๒.๓	ฤทธิ์/ผลต่อร่างกายและความคาดหวังจากการบริโภค	
๒.๔	ประเทศผู้ผลิต (กรณีนำเข้า)	
๓.	**ข้อมูลประวัติการบริโภคเป็นอาหาร**	
๓.๑	ระยะเวลาที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร (หากเป็นการบริโภคในกรณีอื่นให้ระบุ) และระบุประเทศที่มีการบริโภค	
๓.๒	ลักษณะการใช้ ได้แก่ จุดประสงค์ รูปแบบการบริโภค ระยะเวลาที่ใช้ในรูปแบบนั้นๆ กลุ่มผู้บริโภคเป้าหมาย	
๓.๓	ข้อมูลการบริโภค (consumption data)	
๔.	**คุณภาพและมาตรฐาน (specification) ของส่วนประกอบ**	
๔.๑	คุณลักษณะ (characteristic)	
๔.๒	คุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี	
๔.๓	ข้อมูลแสดงเอกลักษณ์ของส่วนประกอบ	
๔.๔	ปริมาณสารสำคัญ/สารออกฤทธิ์/สารบ่งชี้ (marker)	
๔.๕	ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง	
๔.๖	ข้อกำหนดสารแปลกปน	
๔.๗	ข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์	
๔.๘	ข้อกำหนดเฉพาะ (เช่น สารพิษที่เกี่ยวข้อง)	
๔.๙	ความคงตัว (ถ้ามี)	
๔.๑๐	รายละเอียดอื่นๆ (เช่น ความไวต่อแสง การทนความร้อน) (ถ้ามี)	
๕.	**คุณภาพและมาตรฐาน (specification) ของผลิตภัณฑ์**	
๕.๑	คุณลักษณะ(characteristic)	
๕.๒	คุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี	
๕.๓	ปริมาณสารสำคัญ/สารออกฤทธิ์/สารบ่งชี้ (marker)	
๕.๔	ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง	
๕.๕	ข้อกำหนดสารแปลกปน	
๕.๖	ข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์	
๕.๗	ข้อกำหนดเฉพาะ (เช่น สารพิษที่เกี่ยวข้อง)	
๕.๘	ความคงตัว (ถ้ามี)	
๕.๙	รายละเอียดอื่นๆ (เช่น ความไวต่อแสง การทนความร้อน) (ถ้ามี)	

ลำดับ	รายการเอกสาร	จำนวน (ฉบับ)
๖	**ผลการวิเคราะห์**	
๖.๑	ผลการวิเคราะห์ของส่วนประกอบ	
๖.๒	ผลการวิเคราะห์ของผลิตภัณฑ์	
๗.	**การเก็บรักษา**	
๗.๑	สภาวะการเก็บรักษา	
๗.๒	อายุการเก็บรักษา	
๘.	**กระบวนการผลิต/ การสังเคราะห์/ การสกัด**	
๘.๑	ขั้นตอนการเตรียม/ วิธีการผลิต	
๘.๒	ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด (กรณีเป็นสารสกัด)	
๘.๓	ชนิดสารสำคัญหรือกลุ่มสารที่ได้จากการสกัด (กรณีเป็นสารสกัด)	
๘.๔	อัตราส่วนระหว่างปริมาณส่วนประกอบที่นำมาใช้ต่อสารสกัดที่ได้ ๑ กรัม (extract ratio) (กรณีเป็นสารสกัด)	
๙.	**ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับสารเคมีที่ใช้ในการผลิต**(*)	
๙.๑	ชื่อเคมี (chemical name), CAS No., INS No.	
๙.๒	คุณภาพและมาตรฐาน (specification) ของสารเคมี และวัตถุประสงค์การใช้สารเคมีนั้นๆ (functional use)	
๑๐	**ลักษณะ/ คำแนะนำในการบริโภค**	
๑๐.๑	ปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค (ระบบเมตริก)	
๑๐.๒	ความถี่ (ครั้งต่อวัน)	
๑๐.๓	วิธีการเตรียมก่อนบริโภค/ วิธีปรุง	
๑๐.๔	ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย	
๑๐.๕	ข้อความคำเตือน/คำแนะนำในการบริโภค (ถ้ามี)	
๑๑	**ข้อมูลความปลอดภัย**	
๑๑.๑	ลักษณะทางชีวเคมี (ถ้ามี)	
๑๑.๑.๑	การดูดซึม การกระจาย และการขับออกจากร่างกาย	
๑๑.๑.๒	การเปลี่ยนแปลงของสาร (Biotransformation)	
๑๑.๑.๓	ผลต่อเอนไซม์และค่าอื่นทางชีวเคมี	
๑๑.๑.๔	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถีของผลิตภัณฑ์ในอาหาร (reaction and fate of the food)	
๑๑.๒	การศึกษาทางด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง (ฉบับสมบูรณ์)	
๑๑.๒.๑	พิษเฉียบพลัน	
๑๑.๒.๒	พิษกึ่งเรื้อรัง	
๑๑.๒.๓	พิษเรื้อรัง (กรณีไม่มีผลการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง อย่างน้อยจะต้องมีผลการศึกษาทางคลินิกในกลุ่มคนปกติ)	
๑๑.๓	การศึกษาความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ (กรณีมีการใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต)	
๑๑.๓.๑	คุณสมบัติเฉพาะของจุลินทรีย์	
๑๑.๓.๒	การตรวจสอบการรับและการแพร่ลักษณะการดื้อยา และรูปแบบการดื้อยา	
๑๑.๓.๓	การประเมินฤทธิ์ทางเมแทบอลิก	
๑๑.๓.๔	ข้อมูลแนวโน้มการก่อโรค	

ลำดับ	รายการเอกสาร	จำนวน (ฉบับ)
๑๑.๔	การศึกษาความเป็นพิษเฉพาะทาง (เฉพาะกรณีมีข้อบ่งชี้)	
๑๑.๕	การศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก หรือทางระบาดวิทยา (**)	
๑๑.๖	การศึกษาด้านอื่นๆ (ถ้ามี)	
๑๒	**ข้อมูลด้านโภชนาการ (nutritional data)** (***)	
๑๓	**ผลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี)**	

หมายเหตุ:

๑. (*) กรณีสารเคมีที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ต้องยื่นข้อมูลเอกลักษณ์และความปลอดภัยของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ผลิตสารเคมีนั้นด้วย

๒. (**) เฉพาะกรณีอาหารใหม่ที่แจ้งความคาดหวังทางสุขภาพต้องส่งข้อมูลการศึกษาในมนุษย์ด้วย หากไม่มีการแสดงความคาดหวังทางสุขภาพ อาจยื่นข้อมูลการศึกษาในมนุษย์ (ถ้ามี)

๓. (***) เฉพาะกรณีอาหารที่มีการใช้หรือมีประกาศเฉพาะกำหนดไว้

๔. เอกสารและหลักฐานประกอบการขอประเมินความปลอดภัยตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้าย จะต้องมีความน่าเชื่อถือ มีหลักการหรือทฤษฎีที่ใช้ซึ่งสามารถอธิบายผลการศึกษาหรือบ่งบอกคุณลักษณะของสารที่ต้องการประเมินความปลอดภัยได้อย่างถูกต้อง แม่นยำและชัดเจน โดยการรับรองความเป็นจริงและความน่าเชื่อถือของเอกสารหลักฐานประกอบดังกล่าว สามารถทำได้โดยวิธีต่างๆ ดังนี้

๔.๑ โดยการรับรองจากผู้ยื่นคำขอประเมินความปลอดภัย เช่น

- เอกสารหลักฐานที่เป็นข้อมูลทั่วไปของส่วนประกอบ/ผลิตภัณฑ์อาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย
- ข้อกำหนดด้านคุณภาพและมาตรฐาน (Specification) ของส่วนประกอบ/ผลิตภัณฑ์อาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย
- กระบวนการผลิต/การสังเคราะห์/การสกัดของส่วนประกอบ/ผลิตภัณฑ์อาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย
- ลักษณะหรือคำแนะนำที่ใช้ในการบริโภค
- การเก็บรักษา
- รายละเอียดประเทศหรือแหล่งผลิต เป็นต้น

๔.๒ โดยการรับรองจากหน่วยงานที่มีความน่าเชื่อถือ เช่น

- ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองความสามารถการตรวจวิเคราะห์ (Laboratory Accreditation) ตามมาตรฐานสากล เช่น ISO/IEC ๑๗๐๒๕ ในรายการทดสอบ (test) ที่เสนอให้ประเมิน สำหรับเอกสารหลักฐานที่เกี่ยวกับผลการตรวจวิเคราะห์ของอาหารที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย
- หน่วยงานประเมินความปลอดภัยอาหารที่ยอมรับในระดับสากล เช่น European Food Safety Authority (EFSA), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) ของหน่วยงาน U.S. Food and Drug Administration (USFDA) หรือ Food Standard Australia New Zealand (FSANZ), Food Chemical Codex (FCC)

๔.๓ โดยการอ้างอิงจากแหล่งข้อมูลหรือเอกสารทางวิชาการที่น่าเชื่อถือ เช่น

- ตำราทางวิชาการที่เป็นที่ยอมรับในวงการวิชาการนั้นๆ เช่น ตำรายา ตำราเกี่ยวกับสมุนไพรไทย หรือต่างประเทศ หรือตำราวิชาการอื่นๆ
- Official Monograph เช่น WHO, Pharmacopoeia, Codex Advisory Specification for the identity and Purity of Food Additives
- ฐานข้อมูลอื่นที่มีความน่าเชื่อถือ เช่น วารสารวิทยาศาสตร์ที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับในวงการวิชาการนั้นๆ (Peer review journal) เช่น Elsevier (Science direct, Embase, Scopus), TOXLINE, Pubmed, ฐานข้อมูล เช่น BIOSIS, TOXNET, NAPRALERT หรือ Food Safety Authority ของต่างประเทศ เป็นต้น
- รายงานของคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญ (expert committee) ที่เกี่ยวข้อง เช่น scientific committee ของ Codex, European Food Safety Authority (EFSA), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) หรือFood Standard Australia New Zealand (FSANZ) เป็นต้น

๓. แหล่งข้อมูลหลักฐานทางวิชาการที่น่าเชื่อถือเพื่อแสดงประวัติการบริโภคเป็นอาหาร

เช่น บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องและเป็นที่ยอมรับ ตำราพืชสมุนไพรที่ตีพิมพ์ (ที่ระบุว่ามีการใช้เป็นอาหาร) หนังสือรับรองจากหน่วยงานรัฐ หน่วยงานหรือองค์กรที่ได้รับมอบหมายจากหน่วยงานรัฐ (ทั้งในและต่างประเทศ) โดยการอ้างอิงจากแหล่งข้อมูลหรือเอกสารทางวิชาการที่น่าเชื่อถือ ยกตัวอย่าง ดังนี้

- ตำราทางวิชาการที่เป็นที่ยอมรับในวงการวิชาการนั้นๆ เช่น ตำรายา ตำราเกี่ยวกับสมุนไพรไทย หรือต่างประเทศ หรือตำราวิชาการอื่นๆ

- Official Monograph เช่น WHO, Pharmacopoeia, Codex Advisory Specification for the identity and Purity of Food Additives

- ฐานข้อมูลอื่นที่มีความน่าเชื่อถือ เช่น วารสารวิทยาศาสตร์ที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับในวงการวิชาการนั้นๆ (Peer review journal) เช่น Elsevier (Science direct, Embase, Scopus), TOXLINE, Pubmed, ฐานข้อมูล เช่น BIOSIS, TOXNET, NAPRALERT หรือ Food Safety Authority ของต่างประเทศ เป็นต้น

- รายงานของคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญ (expert committee) ที่เกี่ยวข้อง เช่น scientific committee ของ Codex, European Food Safety Authority (EFSA), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) หรือFood Standard Australia New Zealand (FSANZ) เป็นต้น

๔. รายงานผลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาให้การยอมรับ

ประกอบด้วยรายละเอียด ๒ ส่วน ดังต่อไปนี้

<u>ส่วนที่ ๑</u> - ชื่อหน่วยงานประเมินความปลอดภัย รายชื่อคณะผู้พิจารณาผลการประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ที่ให้ข้อคิดเห็น เอกสารรักษาความลับและการไม่มีส่วนได้ส่วนเสียพร้อมลงนามโดยคณะผู้เชี่ยวชาญที่ให้ข้อคิดเห็น

<u>ส่วนที่ ๒</u> –ผลการประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ ประกอบด้วย

๑. บทสรุปผู้บริหารซึ่งเป็นข้อมูลสรุปภาพรวมจากข้อ ๒ – ๗

๒. สรุปข้อมูลทั่วไปของอาหารใหม่ ได้แก่

- ชื่อวิทยาศาสตร์ ส่วนที่ใช้ แหล่งที่มา ประวัติการบริโภคเป็นอาหาร หรือการบริโภคในกรณีอื่น รวมถึงข้อมูลการบริโภคของไทย (Consumption data)
- สูตรส่วนประกอบ คุณภาพมาตรฐาน (Specification)
- กระบวนการผลิต สารต่างๆที่ใช้ในกระบวนการผลิต สารปนเปื้อน สารเคมีตกค้างและสารสำคัญที่ได้
- อายุการเก็บรักษา สภาวะการเก็บรักษา วัตถุประสงค์การบริโภค กลุ่มผู้บริโภค
- รายละเอียดผู้ผลิต/ผู้นำเข้า ประเทศที่มีการจำหน่ายและระยะเวลาการจำหน่ายจนถึงปัจจุบัน
- ผลวิเคราะห์อาหารใหม่

๓. สรุปข้อมูลความปลอดภัยของอาหารใหม่ ได้แก่

- ผลการศึกษาความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง
- ผลการศึกษาในมนุษย์ ทางคลีนิก หรือทางระบาดวิทยา (ถ้ามี)
- ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมี (ถ้ามี)
- ผลการศึกษาด้านอื่นๆ (ถ้ามี)

๔. สรุปข้อมูลด้านโภชนาการ (ถ้ามี)

๕. สรุปข้อมูลด้านประสิทธิภาพด้านความคาดหวังทางสุขภาพ (ถ้ามี)

๖. สรุปข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของอาหารใหม่ที่ยื่นประเมินนี้ จากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ

๗. สรุปข้อเสนอแนะหรือทางเลือกในการพิจารณาถึงความปลอดภัยและความเหมาะสมในการบริโภคอาหารใหม่สำหรับคนไทย

๘. รายชื่อเอกสารอ้างอิง (Reference) ของรายงานผลการประเมินความปลอดภัย

ภาคผนวก ข

ศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย THAILAND RISK ASSESSMENT CENTER (TRAC)

สำนักงาน : อาคารสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล เลขที่ 25/25 ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170

Office : Nutrition Foundation, Institute of Nutrition Building, Mahidol U., Putthamonthon 4 Rd., Salaya, Putthamonthon, Nakhonpathom 73170

Tel : (+66) 2800-2380 ต่อ 119 Fax : (+66) 2889-3673 email : tracthailand@gmail.com

แบบคำขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรื่อง ขอให้ประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

เรียน หัวหน้าศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย

สิ่งที่ส่งมาด้วย รายการเอกสารหลักฐานประกอบจำนวน..... รายการ

เนื่องด้วยข้าพเจ้า.....ในนาม ของ (บริษัท/ห้างร้าน).....

โทรศัพท์ ..... โทรสาร .....

มีความประสงค์จะขอประเมินความปลอดภัย ชื่อผลิตภัณฑ์หรือสารสำคัญที่จะขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

- ภาษาไทย.....

- ภาษาอังกฤษ.....

- ชื่อวิทยาศาสตร์.....

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งหลักฐานประกอบการพิจารณาประเมินฯ ซึ่งมีรายละเอียดตามเอกสารที่ได้แนบมาพร้อมนี้

ลงชื่อ .....ผู้ยื่นขอประเมิน

(.....)

ระบุ E-mail และหมายเลขโทรศัพท์สำหรับแจ้งผล.....

การประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

1. ข้อมูลทั่วไป

1. 1 ข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบ ที่ต้องการประเมินฯ

ชื่อวิทยาศาสตร์ .....

ชื่อสามัญ .....

ชื่อทางเคมี .....

ส่วนที่ใช้มาสกัด part of use .....

แหล่งที่มา .....

1.2 สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ (เอกสารแนบที่ …)

ปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค .....

องค์ประกอบหลัก (Active ingredients)

.....

ส่วนประกอบอื่นๆ

.....

วัตถุประสงค์การใช้ (ฤทธิ์/ผลต่อร่างกายและความคาดหวังจากการบริโภค)

.....

ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย

.....

รายละเอียดผู้ผลิต/ผู้นำเข้า (กรณีนำเข้า)

.....

1.3 ประวัติการบริโภคเป็นอาหาร (ระยะเวลา/ประเทศที่มีการบริโภค/รูปแบบการบริโภค/ข้อมูลการบริโภค consumption data) (เอกสารแนบที่ …)

.....

1.4 ผลวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบ หรือ Certificate of analysis: COA (เอกสารแนบที่ …)

ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบ

.....

ผลการตรวจสารแปลกปน

.....

ผลการทดสอบทางด้านจุลชีววิทยา

.....

ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง

.....

ผลการตรวจสารอื่นๆ เช่น สารพิษที่เกิดขึ้น (ถ้ามี)

.....

1.5 กระบวนการผลิตส่วนประกอบ (วัตถุดิบ) (เอกสารแนบที่ ...)

อธิบายขั้นตอนการเตรียม/วิธีการผลิต (แนบ flowchart ขั้นตอน และระบุชื่อสารเคมีในการผลิต และวัตถุประสงค์ในการใช้สารเคมีนั้น)

.....

กรณีเป็นสารสกัดให้ระบุ

ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด

.....

อัตราส่วนระหว่างปริมาณวัตถุดิบที่นำมาใช้ต่อการสกัดที่ได้ 1 กรัม (extract ratio)

.....

1.6 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ หรือ Certificate of analysis: COA (เอกสารแนบที่ …)

ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบ

.....

ผลการตรวจสารแปลกปน

.....

ผลการทดสอบทางด้านจุลชีววิทยา

.....

ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง

.....

อธิบายขั้นตอนการผลิตอย่างละเอียด (แนบ flowchart ขั้นตอน และระบุชื่อสารเคมีในการผลิต และวัตถุประสงค์ในการใช้สารเคมีนั้น)

.....

ผลการตรวจสารอื่นๆ เช่น สารพิษที่เกิดขึ้น (ถ้ามี)

.....

1.7 คำแนะนำในการบริโภค (เอกสารแนบที่...)

รูปแบบการบริโภค

.....

ความถี่ (ครั้งต่อวัน)

.....

1.8 สภาวะการเก็บรักษา และอายุการเก็บรักษา

.....

1.9 ข้อความเตือน/คำแนะนำในการบริโภค (ถ้ามี)

.....

1.10 ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัย<u>ที่เป็นสากล</u>หรือ<u>จากต่างประเทศ</u>ที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี)

.....

2. ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยของส่วนประกอบที่ต้องการประเมินฯ

2.1 ลักษณะทางชีวเคมี

การดูดซึม การกระจาย และการขับออกจากร่างกาย **(เอกสารแนบที่...)**

.....

การเปลี่ยนแปลงของสาร (Biotransformation) **(เอกสารแนบที่...)**

.....

ผลต่อเอนไซม์และค่าอื่นทางชีวเคมี **(เอกสารแนบที่...)**

.....

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถี (กรณีที่มีส่วนประกอบหลายตัวในผลิตภัณฑ์) **(เอกสารแนบที่...)**

.....

2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity testing)

-……

-……

-……

2.3 ผลการศึกษาด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง

2.3.1 พิษเฉียบพลัน

-…….

-…….

-…….

2.3.2 พิษกึ่งเรื้อรัง

-…….

-…….

-…….

2.3.3 พิษเรื้อรัง (กรณีไม่มีผลพิษเรื้อรัง อย่างน้อยต้องมีผลการศึกษาทางคลินิกในกลุ่มคนปกติ)

-…….

-…….

-…….

2.4 ผลการศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก หรือทางระบาด (กรณีที่แจ้งความคาดหวังทางสุขภาพในมนุษย์)

-…….

-…….

-…….

2.5 ผลการทดสอบอื่นๆ เช่น ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และพัฒนาการของตัวอ่อน (ถ้ามี)

-…….

-…….

-…….

3. คำอธิบายเพิ่มเติมเกี่ยวกับข้อมูลประกอบการยื่นขอประเมินความปลอดภัยอาหารใหม่

3.1 ข้อมูลทั่วไป

3.1.1 ข้อมูลทั่วไปของวัตถุดิบ ประกอบด้วย ชื่อทางวิทยาศาสตร์ ชื่อเคมี หรือชื่อสามัญ และแหล่งกำเนิดทางภูมิศาสตร์หรือแหล่งที่มาของวัตถุดิบ

3.1.2 สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์การใช้ของผลิตภัณฑ์ เช่น ทำให้การรับรู้ดีขึ้น ทำให้สุขภาพแข็งแรง เป็นต้น

ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย เช่นในผู้ที่มีร่างกายอ่อนเพลีย หรือบุคคลทั่วไป เป็นต้น

ชื่อและที่อยู่ผู้ผลิต (supplier) /ผู้นำเข้า (กรณีนำเข้า)

3.1.3 ประวัติการบริโภคเป็น โดยระบุระยะเวลาและประเทศที่มีประวัติการใช้เป็นอาหารนั้นๆ ข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบ (เช่น บริโภคสด สกัดจากน้ำ สกัดจากสารละลาย) และระยะเวลาของการบริโภคที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัย และวัตถุประสงค์ของการใช้เป็นอาหาร/ความคาดหวังจากการบริโภค (เช่น เป็นเครื่องดื่มเพื่อบำรุงร่างกาย) รวมทั้งระบุกลุ่มผู้บริโภคเป้าหมาย (กรณีที่มีการกำหนดไว้เฉพาะ) เช่น ทารก เด็ก ผู้ใหญ่ ข้อมูลการบริโภค (Consumption data) แสดงข้อมูลปริมาณของอาหารใหม่หรือผลิตภัณฑ์ที่มีอาหารใหม่เป็นส่วนประกอบ ซึ่งผู้บริโภคจะได้รับจากการรับประทานในหนึ่งวัน

3.1.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบ คือผลการตรวจสอบข้อมูลคุณภาพ และมาตรฐาน (specification) ทางด้านต่างๆของปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบ รายละเอียดที่เกี่ยวกับเนื้อสัมผัส สี กลิ่น รส pH

ด้านจุลินทรีย์ แสดงชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ด้านสารแปลกปน (impurities) หรือสารใดๆที่ปนเปื้อน (Contaminants) ในอาหารโดยไม่ได้ตั้งใจ ระบุสารสำคัญทั้งชนิดและปริมาณ รวมทั้งโลหะหนัก และสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร (pesticide residues)

ปริมาณสารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ตกค้าง

ผลการตรวจสารอื่นๆ เช่น สารพิษที่เกิดขึ้น (ถ้ามี)

โดยต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้ ผลวิเคราะห์ข้างต้นต้องได้รับการรับรองจากหน่วยงานที่มีความน่าเชื่อถือ ข้อมูลผลการวิเคราะห์นี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทวนสอบความสอดคล้องและความเชื่อมั่น โดยจะนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลคุณภาพและมาตรฐานของวัตถุดิบและ/หรือผลิตภัณฑ์

3.1.5 กระบวนการผลิต (การสังเคราะห์/ การสกัด) อธิบายขั้นตอนการผลิตโดยละเอียด (แนบ flowchart ขั้นตอน และระบุชื่อสารเคมีในการผลิต และวัตถุประสงค์ในการใช้สารเคมีนั้น)

หากมีการใช้สารช่วยในกระบวนการผลิต (processing aids) ได้แก่ เอนไซม์ สารเคมีต่างๆ ต้องระบุชนิด ปริมาณการใช้ ความเข้มข้นของสารเคมีด้วย

ในกรณีเป็นสารสกัด ต้องระบุชนิด และความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด อัตราส่วนระหว่างปริมาณวัตถุดิบที่นำมาใช้ต่อสารสกัดที่ได้ 1 กรัม (Extract ratio) และชนิดของสารสำคัญหรือกลุ่มสารสำคัญที่ได้จากการสกัด

3.1.6 ผลการวิเคราะห์วิเคราะห์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ คือผลการตรวจสอบข้อมูลคุณภาพ และมาตรฐาน (specification) ทางด้านต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 3.1.4 และ 3.1.5

3.1.7 คำแนะนำในการบริโภคของผลิตภัณฑ์ที่ยื่นขอประเมินความปลอดภัยในกลุ่มผู้บริโภคเป้าหมาย โดยระบุปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภคตามระบบเมตริก ความถี่ของการบริโภค (จำนวนครั้งในการบริโภคต่อวัน)

3.1.8 ข้อมูลการเก็บรักษา ชี้แจงสภาวะการเก็บรักษา เช่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เก็บในที่ร่มปราศจากแสงแดด เป็นต้น รวมทั้งระบุอายุการเก็บรักษาที่ยังคงคุณภาพของอาหารตามที่ยื่นขอ

3.1.9 คำเตือนของการบริโภค เช่น ห้ามเด็กและสตรีมีครรภ์รับประทาน

3.1.10 ข้อมูลการประเมินความปลอดภัยจากหน่วยงานประเมินความปลอดภัยที่เป็นสากลหรือจากต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับ (ถ้ามี)

3.2 ข้อมูลความปลอดภัย

3.2.1 ลักษณะทางชีวเคมี

การดูดซึม (absorption) การกระจาย (distribution) และการขับออกจากร่างกาย (excretion) เป็นการศึกษาการดูดซึมสารสำคัญผ่านระบบทางเดินอาหาร การกระจายของสารสำคัญผ่านเนื้อเยื่อต่างๆ ของอวัยวะในร่างกาย อัตราการเกิดปฏิกิริยาในร่างกาย รวมถึงอัตราและวิธีการขับถ่ายสารเหล่านี้ออกไปจากร่างกาย

การเปลี่ยนแปลงของสาร (Biotransformation) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงสารเคมีในสิ่งมีชีวิต โดยกระบวนการนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีลักษณะของการใช้กระบวนการทางชีวเคมีที่มีเอนไซม์เป็นตัวช่วยผลต่อเอนไซม์และค่าอื่นทางชีวเคมี (other parameters) หมายถึง ผลที่มีต่อเอนไซม์ในร่างกาย เช่น การเพิ่มหรือลดระดับเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ และสารอื่นๆที่มีผลต่อการดูดซึม (absorption) การกระจาย (distribution) และการขับของเสีย (excretion)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถี (reaction and fate) ของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆ เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารที่ประกอบด้วยส่วนประกอบหลายชนิด ส่วนประกอบแต่ละชนิดจึงอาจทำปฏิกิริยากัน ซึ่งอาจทำให้ไม่ปลอดภัยในการบริโภค

3.2.2 การศึกษาทางด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง หมายถึงการทดสอบความเป็นพิษของอาหารหรือสารเคมีใดๆ ต่อระบบทั่วไปในร่างกายของสัตว์ทดลอง ที่มีความสัมพันธ์ในลักษณะเดียวกันกับการได้รับสัมผัสในมนุษย์ ทั้งนี้การประเมินความปลอดภัยของอาหารหรือสารใดๆ ที่จะนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร การศึกษาจะต้องให้สัตว์ทดลองได้รับทางปากโดยการกิน เพื่อนำผลการทดลองมาอธิบายและคาดการณ์ความเป็นพิษจากการบริโภคอาหารหรือสารนั้นๆ ในมนุษย์

การศึกษาทางพิษวิทยาดังกล่าวต้องปฏิบัติตามระเบียบวิธีการวิจัยที่ดีตามมาตรฐานสากล เช่น ตามแนวทาง (guidelines) ของ Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) หรือ The International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) หรือ World Health Organization (WHO) หรือ แนวทางอื่นที่เทียบเท่า โดยการศึกษาทางด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลองประเภทสัตว์ฟันแทะ (toxicity test in rodent)

สามารถแบ่งประเภทการศึกษาตามระยะเวลาของการทดสอบความเป็นพิษ ได้ดังตาราง

ประเภทการศึกษา	พิษเฉียบพลัน (Acute Toxicity Study)	พิษกึ่งเรื้อรัง (Subchronic Toxicity Study)	พิษเรื้อรัง (Chronic Toxicity Study)
ระยะเวลา	- ระยะเวลาสัมผัสสาร: 24 ชั่วโมง - ระยะเวลาสังเกตอาการ: ประมาณ 14 วัน (1-2 สัปดาห์)	90 วัน (3 เดือน)	≥12 เดือน (OECD) หรือ ≥ 6 เดือน (ICH)
เพศ	ทั้งเพศผู้และเพศเมีย	ทั้งเพศผู้และเพศเมีย	ทั้งเพศผู้และเพศเมีย
จำนวน	5 ตัว/เพศ/ขนาดสาร	10-20 ตัว/เพศ/ขนาดสาร	10-20 ตัว/เพศ/ขนาดสาร (OECD)
ระดับของสารที่ใช้ในการทดสอบ	ขนาดสาร (dose) สูงสุดที่ใช้คือขนาด 2000 หรือ 5000 มก./กก. (พิจารณาจากแนวโน้มความเป็นพิษของสารที่ใช้ในการทดสอบตาม limit test ของ OECD)	- อย่างน้อยต้องมีขนาดสาร (dose) ที่ใช้ในการทดสอบ 3 ระดับ และมีกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม - ให้สารวันละครั้งเป็นเวลา 90 วัน	- อย่างน้อยต้องมีขนาดสาร (dose) ที่ใช้ในการทดสอบ 3 ระดับ ได้แก่ MTD (Maximum Tolerable Dose), ½ ของ MTD หรือ ¼ ของ MTD และกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม - ให้สารวันละครั้งเป็นเวลา ≥12 เดือน
ผลการศึกษา	(1) LD_{50} (2) อาการไม่พึงประสงค์อื่นๆหรือความเป็นพิษเฉียบพลันที่เกิดขึ้นกับระบบต่างๆของร่างกาย	(1) NOEL/NOAEL (2) ลักษณะความเป็นพิษต่ออวัยวะเฉพาะ (specific organs) หรืออวัยวะที่ได้รับผลจากขนาดที่ทำให้เกิดพิษ (LOAEL)	1) ความเป็นพิษเรื้อรังของสารเคมี 2) ความเป็นพิษต่ออวัยวะเป้าหมาย (target organs) 3) ลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างขนาดสาร(dose) ที่ใช้ทดสอบกับความเป็นพิษที่เกิดขึ้น 4) คาดคะเนความเป็นพิษระยะยาวต่อมนุษย์ (ในขนาดที่ได้รับ) 5) ข้อมูลในการทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับกลไก (วิธี)การเกิดพิษของสาร

ที่มา: OECD guidelines และ Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (2008)

กรณีใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต ต้องมีการศึกษาความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ โดยต้องระบุความปลอดภัยของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในอาหารนั้นๆ ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลดังนี้ คุณสมบัติเฉพาะของจุลินทรีย์ เช่น การสร้างสารพิษ, การทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง (Hemolytic activity) การตรวจสอบการรับและการแพร่ลักษณะการดื้อยา และรูปแบบการดื้อยา, การประเมินฤทธิ์ทางเมแทบอลิก เช่น การผลิตดี-แลกเทต (D-Lactate) การสลายเกลือน้ำดี (degradation of Bile salt) รวมถึงแนวโน้มการก่อโรค

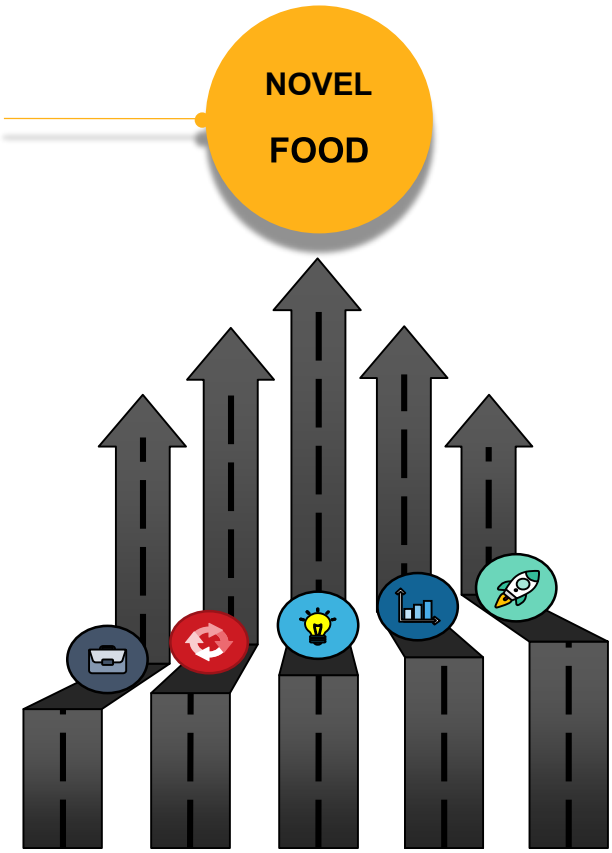
3.2.3 การศึกษาความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (Genotoxicity testing) เช่น วิธีตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เช่น การทดสอบเอมส์ (Ames test) เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* และการทดสอบความผิดปกติของโครโมโซม (Chromosome Aberrations in *Vivo*) เป็นวิธีการทดสอบในเซลล์ culture เพื่อดูโครโมโซมมีการแตกหักหรือหลุดออก หรือเชื่อมต่อเข้ากันใหม่แต่ไม่สมบูรณ์ ทำให้โครโมโซมที่เกิดใหม่นี้มีรูปร่างและโครงสร้างผิดไปจากเดิม

3.2.4 การศึกษาในมนุษย์ (ถ้ามี) ทางคลินิก หรือทางระบาดวิทยา โดย

การศึกษาทางคลินิก (Clinical Trial/Study) หมายถึง การศึกษาวิจัยในมนุษย์ (กลุ่มคนปกติทั่วไป) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นคว้าหรือยืนยันผลทางคลินิก ผลทางเภสัช ศึกษาการดูดซึม การกระจายตัว การเปลี่ยนแปลงของสาร (Biotransformation) และการขับออกจากร่างกาย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาความปลอดภัย และ/หรือประสิทธิผล รวมถึงเพื่อค้นหาอาการไม่พึงประสงค์ใดๆ ที่เกิดขึ้น

การศึกษาทางระบาดวิทยา หมายถึง ข้อมูลทางระบาดวิทยา (Epidemiological Study) ในมนุษย์ซึ่งจะนำข้อมูลที่ได้มาพิจารณาร่วมกับข้อมูลจากประวัติการใช้ของสารนั้นๆ

3.2.5 การศึกษาความเป็นพิษต่อการเจริญและการพัฒนาตัวอ่อนในครรภ์ หรือการศึกษาความเป็นพิษการศึกษาที่นอกเหนือจากการศึกษาทางพิษวิทยา ซึ่งเป็นการศึกษาโดยเฉพาะสำหรับสารสำคัญบางตัวซึ่งมีผลกับบางระบบอวัยวะโดยเฉพาะ เช่น การศึกษา ความเป็นพิษต่อระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ ระบบต่อมไร้ท่อ ระบบทางเดินหายใจ ระบบหลอดเลือดและหัวใจ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เป็นต้น ทั้งนี้รวมถึงความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม การสืบพันธุ์ การเจริญและการพัฒนาตัวอ่อนในครรภ์ และความเป็นไปได้ในการก่อมะเร็ง


NOVEL
FOOD