

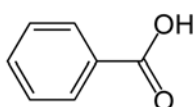
กรดเบนโซอิก; วัตถุกันเสียที่นิยมใช้ในอาหาร

วีรยา การพานิช

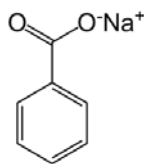
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

กรดเบนโซอิก (Benzoic acid, C_6H_5COOH)

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต เป็นวัตถุกันเสียที่มีประวัติการใช้มานานในปี พ.ศ.2487 (ค.ศ.1875) ได้ใช้กรดเบนโซอิกเพื่อทดแทนการใช้กรดซาลิซิลิก กรดเบนโซอิกนี้สามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ลูกพรุน แครนเบอร์รี่ อบเชยและกานพลู



Benzoic acid



Sodium benzoate

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตที่จำหน่ายในท้องตลาดจะอยู่ในรูปผงผลึกหรือเป็นเกล็ดสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 121.11 มีจุดหลอมเหลว 122 องศาเซลเซียส และจุดเดือด 249 องศาเซลเซียส สำหรับในรูปของกรดนั้นจะละลายในน้ำได้น้อยมาก แต่จะละลายได้ดีขึ้นในแอลกอฮอล์ อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และน้ำมัน

ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจะสูงที่สุดในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 2.5-4.0 และจะมีประสิทธิภาพสูงในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจึงเหมาะที่จะใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดสูงหรือมีความเป็นกรด-ด่างต่ำ ตัวอย่างเช่น เครื่องดื่มชนิดต่างๆ ทั้งชนิดที่อัดคาร์บอนไดออกไซด์และไม่อัดคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำหวานชนิดต่างๆ น้ำผลไม้ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ แยม เยลลี่ ผักดอง ผลไม้ดอง น้ำสลัด ฟรุตสลัด และเนยเทียม เป็นต้น ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต วัตถุกันเสียชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งมีผลต่อผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ โดยเบนโซเอตจะไปทำให้กระบวนการแทรกซึมของอาหารเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ผิดปกติไป ในขณะเดียวกันจะยับยั้งการสร้างเอนไซม์บางชนิดและปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ ที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นต่ำสุดของกรดเบนโซอิกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
แต่ละชนิด

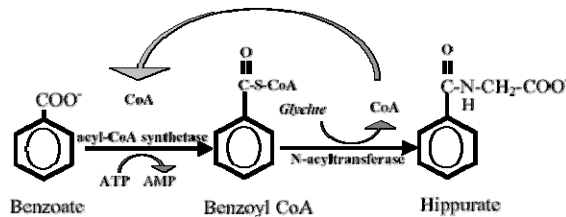
Microorganism	pH	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/mL}$)
Bacteria, Gram Positive		
<i>Bacillus cereus</i>	6.3	500
<i>Lactobacillus</i>	4.3-6.0	300-1800
<i>Listeria monocytogenes</i>	5.6; 4°C, 5.6; 21°C	2000; 3000
<i>Micrococcus</i>	5.5-5.6	50-100
<i>Streptococcus</i>	5.2-5.6	200-400
Bacteria, Gram Negative		
<i>Escherichia coli</i>	5.2-5.6	50-120
<i>Pseudomonas</i>	6.0	200-480
Molds		
<i>Aspergillus</i>	3.0-5.0	20-300
<i>Aspergillus parasiticus</i>	5.5	>4000
<i>Aspergillus niger</i>	5.0	2000
<i>Byssochlamys nivea</i>	3.3	500
<i>Cladosporium herbarum</i>	5.1	100
<i>Mucor racemosus</i>	5.0	30-120
<i>Penicillium</i>	2.6-5.0	30-280
<i>Penicillium citrinum</i>	5.0	2000
<i>Penicillium glaucum</i>	5.0	400-500
<i>Rhizopus nigricans</i>	5.0	30-120
Yeasts		
<i>Candida krusei</i>	-	300-700
<i>Debaryomyces hansenii</i>	4.8	500
<i>Hansenula</i>	4.0	180

ตารางที่ 1 (ต่อ) ความเข้มข้นต่ำสุดของกรดเบนโซอิกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

Microorganism	pH	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Pichia membranefaciens</i>	-	700
<i>Rhodotorula</i>	-	100-200
<i>Saccharomyces bayanus</i>	4.0	330
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	4.8	4500
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	4.8	1000

ที่มา: Chipley, 1993; EI-Gazzar and Marth, 1987; EI-Shenawy and Marth, 1988; Jermini and Schmidt-Lorenz, 1987 Marwan and Nagel, 1986; Roland et al., 1984

สำหรับอันตรายที่จะได้รับจากกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตนั้น จากการศึกษาทดลองพบว่า ความเป็นพิษของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจัดอยู่ในประเภทพิษปานกลาง ถ้าได้รับในปริมาณน้อยจะไม่ทำให้เกิดการสะสมขึ้นในร่างกาย เนื่องจากร่างกายมีกลไกในการกำจัดความเป็นพิษของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต



รูปที่ 2 แสดงกลไกในการกำจัดความเป็นพิษของกรดเบนโซอิก

โดยกรดเบนโซอิกที่บริโภคเข้าไปจะถูก conjugated ที่ตับ เป็นส่วนใหญ่ โดยจะไปรวมกับโคเอนไซม์เอ (coenzyme A) เกิดเป็นเบนโซอิลโคเอนไซม์เอ (bensoyl coenzyme A) โดยมีเอนไซม์ซินทีเทส (synthetase) เป็นตัวเร่ง จากนั้นเบนโซอิลโคเอนไซม์เอ จะรวมกับกลัยซีน (glycine) เกิดเป็นกรดฮิพพิวริก (hippuric acid) โดยมีเอนไซม์เอซิลทรานเฟอร์เรส (acyltransferase) เป็นตัวเร่ง และถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะ โดยทั่วไปการขับถ่ายของกรดฮิพพิวริกทางปัสสาวะ ในคนจะประมาณ 1.0-2.5 กรัมต่อวัน ซึ่งจะเท่ากับกรดเบนโซอิกที่บริโภคเข้าไป 0.7-1.7 กรัม แต่ถ้าได้รับในปริมาณที่สูงมากอาจทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย อาการเลือดตกใน อัมพาต

ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตับและไตลดลงหรืออาจส่งผลถึงขั้นพิการได้ และถ้าได้รับเกิน 500 มิลลิกรัม ต่อ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อาจเสียชีวิตได้

พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)

การทดสอบพิษเฉียบพลันของสารจะใช้วิธีการหา LD₅₀ ของสารนั้นๆ LD₅₀ (Median lethal dose) เป็นค่าขนาดของสารที่ให้เข้าไปในสัตว์ทดลองแล้ว ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่งของจำนวนสัตว์ทดลองที่ได้รับสารนั้น โดยปกติค่า LD₅₀ ไม่ได้เป็นค่าที่แน่นอนตายตัวในการกำหนดความเป็นพิษของสาร เพราะสารตัวเดียวกันถ้าทำการศึกษาหาค่า LD₅₀ นี้ขึ้นอยู่กับ Species และ Strain ของสัตว์ทดลองที่เลือกใช้ อายุ เพศ และชนิดของการทดลอง จุดประสงค์ที่สำคัญของการศึกษาค่า LD₅₀ คือต้องการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลง ที่เกิดขึ้นแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) ในสัตว์ทดลอง

ตารางที่ 2 แสดงค่า LD₅₀ ของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจากการศึกษาต่างๆ

Substance	Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	References
Sodium benzoate	rat	oral	2700	Deuel et al. (1954)
	rat	Intravenous	1714 ± 124	Spector (1956)
	rabbit	oral	2000	Spector (1956)
	rabbit	Subcutaneous	2000	Spector (1956)
	dog	oral	2000	Spector (1956)
Benzoic acid	rat	oral	2000-2500	Ignat'ev (1965)
	rat	oral	3040	Bio-Fax, 1973
	mice	oral	1940-2263	McCormick, 1974; Abe et al.,1984

ตารางที่ 3 แสดงค่า LD₅₀ ของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจากการศึกษาต่างๆ U.S.National Toxicology Program acute toxicity (NTP)

Substance	Study Type	Route	Species	Result (mg/kg)	Acute Toxicity Rating
Benzoic acid	LD ₅₀	intraperitoneal	mouse	1460	No Rating
	LD ₅₀	oral	cat	2000	Slightly Toxic
	LD ₅₀	oral	dog	2000	Slightly Toxic
	LD ₅₀	oral	mouse	2370	Slightly Toxic
	LD ₅₀	oral	rat	2530	Slightly Toxic

พิษกึ่งเรื้อรัง (Subchronic Toxicity) (www.inchem.org)

เป็นการทดสอบความเป็นพิษของสัตว์ที่ได้รับในระยะก่อนข้างยาวคือ อย่างน้อย 90 วันถ้าเป็นสัตว์กัดแทะ และ 6 เดือนถ้าเป็นสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆ มีการศึกษาเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยให้หนูกินอาหารที่มีเกลือเบนโซเอต 0, 1, 2 หรือ 8% พบการตายเกิดขึ้นในกลุ่มที่ได้รับสูงสุด (ประมาณ 6290 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน) ประมาณ 50% ผลอื่นๆที่พบในกลุ่มนี้ได้แก่ น้ำหนักตัวลดลง น้ำหนักตับและไตเพิ่มขึ้น และมีความเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา (ไม่ได้ระบุอาการ) ในอวัยวะเหล่านี้

พิษเรื้อรัง (Chronic Toxicity)

การทดสอบพิษเรื้อรังของสารจะใช้วิธีการสัตว์ทดลองสัมผัสสารในปริมาณน้อย(ในปริมาณที่ไม่แสดงความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน) เป็นเวลานานตลอดชีวิตจะเกิดความผิดปกติในร่างกายอย่างไรหรือไม่ และสามารถนำข้อมูลไปใช้ในการประเมินความเป็นพิษต่อมนุษย์ มี 2 การศึกษาในหนูทดลองโดยให้กรดเบนโซอิก 1.5% ทางอาหาร (ประมาณ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน) พบว่าสัตว์ทดลองมีน้ำหนักตัวลดลงเนื่องจากกินอาหารลดลงหลังจากได้รับสารเป็นเวลา 18 เดือน มีการศึกษาหนึ่งพบว่าการตายเพิ่มขึ้น (พบหนูตาย 15 ตัวจาก 50 ตัว เทียบกับในกลุ่มควบคุมคือตาย 3 ตัวจาก 25 ตัว) และในการศึกษารุ่นที่ 4 ของสัตว์ทดลอง ไม่พบผลกระทบต่ออายุขัย อัตราการเจริญเติบโต หรือน้ำหนักของอวัยวะซึ่งถูกรายงานหลังจากให้สารขนาด 1% ในอาหาร (ประมาณ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน)

การก่อมะเร็ง (Carcinogenicity)

เป็นการทดสอบการก่อมะเร็งของสารพิษโดยดูการเกิดเนื้องอกมะเร็งในระยะยาว โดยอาจเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังได้ สำหรับโซเดียมเบนโซเอต มีการศึกษาพิษเรื้อรังในหนูทดลอง 2 การศึกษา (ให้สารสูงถึง 1400 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วันทางอาหารตลอดช่วง 18-24 เดือน และการให้สารสูงถึง 6200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วันในน้ำดื่ม) ผลการศึกษาไม่พบผลของการเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง จากทั้งสองการศึกษา

พิษต่อสารพันธุกรรม (Genetic Toxicity)

เป็นการทดสอบความเป็นพิษที่สามารถทำปฏิกิริยากับสายพันธุกรรม แล้วก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรของสารพันธุกรรม ทำให้เกิดความผิดพลาดที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม การก่อกลายพันธุ์เนื่องจากการที่ดีเอ็นเอถูกทำลายระยะแรกแล้ว การซ่อมแซมอาจถูกกระตุ้นหรือยับยั้ง การทดสอบการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับยีนอาจใช้การทดสอบในระยะสั้น โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนจานเลี้ยงเชื้อและการทดสอบโดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว กรดเบนโซอิกถูกทดสอบว่าให้ผลเป็นลบในหลายๆการศึกษาแบบ Ames test และในหนึ่งการศึกษาแบบ DNA damage assay กับ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ที่ต่างกันในการมีอยู่หรือไม่มีการกระตุ้นเมตาบอลิซึม มีเพียงหนึ่งการศึกษาแบบ Recombination assay กับ *Bacillus subtilis* H17 และ M45 ที่พบผลเป็นบวก อย่างไรก็ตามเนื่องจากการรายละเอียดของการทดลองขาดหายไป (ให้เฉพาะผลการศึกษา) ความถูกต้องของการศึกษานี้จึงไม่สามารถใช้เป็นตัวตัดสินได้ นอกจากนี้ยังไม่พบกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (Chromosome aberrations, sister chromatid exchange) ในการทดลองกับเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Chinese hamster CHL and CHO cells, human lymphoblastoid cells, human lymphocytes) โดยปราศจากการกระตุ้นทางเมตาบอลิซึม และผลการศึกษาของโซเดียมเบนโซเอตก็ให้ผลเป็นลบเช่นเดียวกัน

พิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproductive Toxicity) และพิษต่อการพัฒนาตัวอ่อน (Developmental Toxicity)

เป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารพิษที่ทำให้เกิดความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ โดยใช้สัตว์เลื้อยคุดอย่างน้อย 1 ชนิดใน 2 ชนิด การทดสอบ ตั้งแต่รุ่น พ่อ รุ่นลูก และรุ่นหลาน สังเกตลักษณะการเจริญพันธุ์ การเกิดและจำนวนลูกที่เกิดจากการผสมพันธุ์ การเกิดความผิดปกติของไขกระดูก การตกไข่และการฝังตัวของตัวอ่อนในมดลูก ไม่มีการศึกษาที่เฉพาะเจาะจงเกี่ยวกับผลของกรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอตต่อระบบสืบพันธุ์ในการศึกษาสัตว์ทดลองรุ่นที่ 4 ทั้งในหนูตัวผู้

และตัวเมีย ไม่พบผลเสียต่อการสืบพันธุ์หรือการให้นมหลังจากให้กรดเบนโซอิกทางอาหารสูงถึง 1% (ประมาณ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน)

ในการศึกษาหนูที่ตั้งครรภ์โดยให้กรดเบนโซอิกทางปากหนึ่งครั้ง (510มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ในวันที่ 9 ของการตั้งครรภ์) ไม่พบการเพิ่มขึ้นของ Resorption rate หรือ Malformations สำหรับโซเดียมเบนโซเอต มีหลายการศึกษาทางด้านการก่อลูกวิรูปในสัตว์หลายชนิด ซึ่งจากผล การศึกษาไม่พบผลเสียปรากฏให้เห็นในตัวแม่ และลูกหลานของหนู กระต่าย หรือแฮมสเตอร์ โดย การให้ทางปากสูงถึง 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วันระหว่างตั้งครรภ์

จากผลการศึกษาในสัตว์ทดลองจะให้ค่า NOEL (No observe effect level คือค่าที่มากที่สุด ที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือความผิดปกติ) จากค่าดังกล่าวสามารถนำไปคำนวณระดับความ ปลอดภัย ซึ่งในกรณีของวัตถุเจือปนอาหารจะคำนวณออกมาเป็นค่า ADI (Acceptable daily intake) คือปริมาณสารซึ่งไม่ก่อให้เกิดอันตรายเมื่อได้รับตลอดชีวิต มีหน่วยเป็นปริมาณสารต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน ซึ่งได้จากการนำค่า NOEL หารด้วย Uncertainty Factor ในที่นี้กำหนดให้ใช้ค่า safety factor = 100 (10 = ทดแทนความแตกต่างระหว่างบุคคล และ 10 = ทดแทนความแตกต่าง ระหว่างสัตว์ทดลองกับมนุษย์)

$$\text{ADI} = \text{NOEL} / \text{UNCERTAINTY FACTOR}$$

ดังนั้นคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญว่าด้วยวัตถุเจือปนอาหารขององค์การอาหารและเกษตร และ องค์การอนามัยโลกแห่งสหประชาชาติ (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)) ได้มีการกำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) ของกรดเบนโซอิกเท่ากับ 0 - 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน