

Thesis Title	Effects of Administration of Matoom Juice with Stevia Extract on Preneoplastic Lesion of Colon Cancer and Level of Some Detoxification Enzymes	
Author	Miss Suthasinee Sriwanna	
Master of Science	Biochemistry	
Examining Committee		
	Assoc. Prof. Dr. Usanee Vinitketkumnuen	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Aranya Manosroi	Member
	Assoc. Prof. Dr. Porn-ngarm Limtrakul	Member

#### Abstract

*Stevia rebaudiana Bertoni* has been popularly used as a sweetener in food and beverages. It is 300 times sweeter than sucrose but it is a non-caloric sweetener. The sweetening and potential pharmaceutical effects of Stevia extract have received worldwide attention and also under consideration in Thailand. Toxicity of Stevia extract as a sweetener in Matoom (*Aegle marmelos Corr.*) juice has never been investigated in animal experiment. The present study has investigated the chronic toxicity and carcinogenic potential of various concentration of Stevia extract mixed in Matoom juice (Bael fruit juice) fed to male Wistar rats for up to 100 days on aberrant crypt foci (ACF) formation in colon, activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine amino-transferase (ALT) in serum, glutathione (GSH) content, glutathione-S-transferase (GST) activity and subunit composition (Ya, Yc, Yb and YT) in the liver and intestinal mucosa of male Wistar rats. The animals were divided into 7 groups of 8 rats in each group. Group 1, the normal control, was administered with water by gavage. Group 2, positive control, was injected s.c. with azoxymethane and administered with water by gavage. Group 3, 4, 5, 6 and 7 were fed daily by gavage with 3 ml/kg.bw. of Matoom juice,

0.2%w/v Stevia extract in Matoom juice, 1.0%w/v Stevia extract in Matoom juice, 10.0%w/v Stevia extract in Matoom juice and 10.0%w/v Stevia extract in water, respectively. All rats were sacrificed after 35 and 100 days of the treatment. The colons were expanded by injecting with 10% formalin in PBS. The blood, the livers and the small intestines were immediately removed and kept at  $-80^{\circ}\text{C}$  until used. It was found that colonic ACF formation in all rats that received Stevia extract only, Matoom juice with Stevia extract as sweetener or Matoom juice without the sweetener could not be detected at both initiation and promotion stage in comparing with the positive control. The results also showed that, there was no modification effect on serum AST and ALT by Stevia extract in Matoom juice. It means that the daily exposure of Matoom juice with Stevia extract as sweetener may be non-toxic to the liver of the rats. After 35 or 100 days treatment with Matoom juice containing Stevia extract as sweetener, GSH content, GST activity and subunit composition in the liver and intestinal mucosa were not significantly different from the normal control group. The present study demonstrated that the administration of Matoom juice that used Stevia extract as sweetener in the period of 100 days did not induce preneoplastic lesions in colons or has any carcinogenic or other adverse effects in male Wistar rats. These finding indicated that Stevia extract is a safe, non-toxic and non-carcinogenic. Thus, Stevia crude extract may be beneficial to be used as a sweetener that has no calories.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของการได้รับน้ำมะตูมที่ผสมสารสกัดหญ้าหวานต่อการเกิดรอยโรคก่อนเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ และระดับเอนไซม์กำจัดพิษบางชนิด

ชื่อผู้เขียน น.ส. สุธาสินี ศรีวรรณะ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. อุษณีย์ วิจิตรเขตค่านวน	ประธานกรรมการ
รศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย	กรรมการ
รศ. ดร. พงงาม ล้อมตระกูล	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana, Bertini*) เป็นพืชสมุนไพรให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลทรายถึง 300 เท่าแต่ไม่ทำให้มีการเพิ่มปริมาณแคลอรีในร่างกายซึ่งนิยมนำมาใช้เป็นสารให้ความหวานในอาหารและเครื่องดื่มในหลายประเทศ เนื่องจากการนำหญ้าหวานมาใช้ทดแทนน้ำตาลจำเป็นต้องมีหลักฐานสนับสนุนว่ามีความปลอดภัยเพียงพอที่จะใช้บริโภคในชีวิตประจำวันโดยไม่ก่อให้เกิดพิษภัยในภายหลัง ซึ่งกำลังได้รับความสนใจจากหลายประเทศทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย การทดลองนี้ได้ศึกษาถึงความเป็นพิษของการใช้สารสกัดหญ้าหวานผสมในน้ำมะตูมในสัตว์ทดลองเป็นเวลา 35 วันและ 100 วัน โดยศึกษาผลต่อการเกิดเซลล์ที่ผิดปกติ (Aberrant crypt foci: ACF) ในลำไส้ใหญ่ในชั้นเริ่มต้นและระยะส่งเสริมของการเกิดมะเร็ง การทำงานของเอนไซม์แอสปาเตทอะมิโนทรานส์เฟอเรส (aspartate aminotransferase: AST) และเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานส์เฟอเรส (alanine aminotransferase: ALT) ในซีรัม วัดระดับกลูตาไธโอน (glutathione) การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอเรส (glutathione-S-transferase: GST) และระดับองค์ประกอบย่อยของไอโซเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอเรสแต่ละชนิด (Ya, Yc, Yb และ YT) จากตับและเยื่อบุลำไส้เล็กของหนูขาวเพศผู้ การศึกษาแบ่งหนูออกเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว โดยกลุ่มที่ 1 ได้รับการป้อนน้ำ (กลุ่มควบคุมปกติ) กลุ่มที่ 2 (กลุ่มควบคุมบวก) ได้รับการป้อนน้ำและฉีดสารเอโซไซมีเทน (azoxymethane: AOM) เข้าได้ผิว

หนึ่งเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์ลำไส้ที่ผิดปกติ กลุ่มที่ 3 ได้รับการป้อนน้ำมะตูม กลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ได้รับการป้อนสารสกัดหญ้าหวานในน้ำมะตูมเข้มข้น 0.2%, 1.0% และ 10.0% ของน้ำหนักสารสกัดหญ้าหวานต่อปริมาตรของน้ำมะตูมตามลำดับ กลุ่มที่ 7 ได้รับการป้อนสารสกัดหญ้าหวานในน้ำกลั่นความเข้มข้น 10.0% ของน้ำหนักสารสกัดหญ้าหวานต่อปริมาตรน้ำกลั่นโดยป้อนในปริมาตร 3 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัมทุกวันเป็นเวลา 35 หรือ 100 วัน หลังจากนั้นฆ่าหนูแล้วนำส่วนของลำไส้ใหญ่มาตรวจวิเคราะห์การเกิด ACF นำเลือดมาเตรียมซีรัมสำหรับตรวจการทำงานของเอนไซม์แอสปาเตทอะมีโนทรานส์เฟอเรสและเอนไซม์อะลานีนอะมีโนทรานส์เฟอเรส นำตับและเยื่อบุลำไส้เล็กมาเตรียมหัตถ์โตซอล ตรวจวัดระดับกลูตาไรโอน การทำงานของเอนไซม์กลูตาไรโอนเอสทรานส์เฟอเรสและระดับองค์ประกอบย่อยของไอโซเอนไซม์กลูตาไรโอนเอสทรานส์เฟอเรสแต่ละชนิด จากผลการทดลองพบว่าการป้อนน้ำมะตูมซึ่งใช้สารสกัดหญ้าหวานเป็นสารหวานแก่หนูขาวไม่สามารถกระตุ้นการเกิด ACF ในลำไส้ใหญ่ทั้งระยะเริ่มต้นและระยะส่งเสริมของการเกิดมะเร็งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวก การทำงานของเอนไซม์ AST และ ALT ในซีรัมไม่มีความแตกต่างหรือเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าการให้น้ำมะตูมซึ่งใช้สารสกัดหญ้าหวานเป็นสารหวานทุกวันเป็นระยะเวลา 35 หรือ 100 วันไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อดังของหนูทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหลังจากการได้รับสารสกัดหญ้าหวานในน้ำมะตูมเป็นเวลา 35 หรือ 100 วัน ระดับกลูตาไรโอน การทำงานของเอนไซม์กลูตาไรโอนเอสทรานส์เฟอเรสและระดับองค์ประกอบย่อยของไอโซเอนไซม์กลูตาไรโอนเอสทรานส์เฟอเรสแต่ละชนิดในตับและเยื่อบุลำไส้เล็กไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมปกติ การศึกษาครั้งนี้แสดงว่าการให้สารสกัดหญ้าหวานในน้ำมะตูมติดต่อกันเป็นระยะเวลา 100 วันไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดรอยโรคก่อนการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และไม่มีผลก่อให้เกิดความเป็นพิษอื่นๆ ในหนูขาว จึงสามารถนำหญ้าหวานมาใช้เป็นสารให้ความหวานซึ่งไม่เพิ่มปริมาณแคลอรีได้อย่างปลอดภัยได้