

การประเมินฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปและผงเครื่องปรุงรส
ในบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปโดยใช้การทดสอบเอมส์



นางสาวอรนุช วงศ์วัฒนาเสถียร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-03-0613-6
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ASSESSMENT OF THE MUTAGENICITY OF INSTANT NOODLES
AND THEIR SEASONINGS, USING AMES TEST

Miss Oranuch Wongwattanasathien

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Food Chemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-03-0613-6

อรนุช วงศ์วัฒนาเสถียร : การประเมินฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และผงเครื่องปรุงรสในบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปโดยใช้การทดสอบแอมส์. (ASSESSMENT OF THE MUTAGENICITY OF INSTANT NOODLES AND THEIR SEASONINGS, USING AMES TEST) อ.ที่ปรึกษา : อ.ดร.ลินนา ทองยงค์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. แก้ว กังสดาลอำไพ, 91 หน้า. ISBN 974-03-0613-6.

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดน้ำร้อนจากบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปที่ทำปฏิกิริยากับเกลือไนโตรท โดยตัวอย่าง ที่ทำการศึกษประกอบด้วยบะหมี่ 3 รส ได้แก่ รสหมูสับ รสเปิดพะไล และรสต้มยำกุ้ง พบว่าสารสกัดทั้งหมดจากเส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป จากผงเครื่องปรุงรสที่บรรจุในซองบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และจากบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพร้อมผงเครื่องปรุงรส ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เมื่อทดสอบโดยวิธีแอมส์ โดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 โดยไม่เติมระบบกระตุ้นการออกฤทธิ์ แต่เมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาทำปฏิกิริยากับเกลือไนโตรทในสภาวะที่เป็นกรด (ความเป็นกรดเป็นต่าง 3-3.5) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง พบว่า แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงต่อแบคทีเรีย นอกจากนี้ พบว่าฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดของผงเครื่องปรุงรสทุกรส ทำปฏิกิริยากับเกลือไนโตรท มีจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อกรัมสูงกว่าเส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปทุกรส และสูงกว่าเส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพร้อมผงเครื่องปรุงรสทุกรส เนื่องจากผงเครื่องปรุงรสประกอบด้วยสารสกัดจากเนื้อรสต่างๆ เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสอื่นๆ เช่น คาราเมล ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับเกลือไนโตรทและแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงต่อแบคทีเรีย นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อ 1 ห่อ ที่คาดการณ์ไว้ซึ่งได้จากผลรวมของจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อ 1 ห่อของบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปและจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อ 1 ห่อของผงเครื่องปรุงรสในบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เปรียบเทียบกับจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อ 1 ห่อที่ได้จริงจากการทำการทดลองปรุงเส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพร้อมผงเครื่องปรุงรส พบว่าจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ต่อ 1 ห่อที่ได้จากการทำการทดลองมีค่าต่ำกว่าค่าที่คาดการณ์ แสดงว่า เมื่อทำการทดลองปรุงเส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพร้อมผงเครื่องปรุงรส สารสกัดที่ได้จากเส้นบะหมี่อาจมีความสามารถในการยับยั้งฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ได้ ทำให้ค่าที่ได้ลดลง

ดังนั้น จึงควรหลีกเลี่ยงการบริโภคบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปพร้อมอาหารที่มีส่วนประกอบของเกลือไนโตรท และควรบริโภคผงเครื่องปรุงรสที่บรรจุมาในซองบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปให้น้อยที่สุด และ ให้นำที่ใส่ในการลวกเส้นครั้งแรก

ภาควิชา อาหารเคมี
สาขาวิชา อาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์
ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนิสิต *อรนุช วงศ์วัฒนาเสถียร*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *ลินนา ทองยงค์*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *แก้ว กังสดาลอำไพ*

4276608533 : MAJOR FOOD CHEMISTRY

KEY WORD : INSTANT NOODLES MUTAGENICITY/ AMES TEST/NITRITE

ORANUCH WONGWATTANASATHIEN: ASSESSMENT OF THE
MUTAGENICITY OF INSTANT NOODLES AND THEIR SEASONINGS,
USING AMES TEST. THESIS ADVISOR: LINNA TONGYONK, D.Sc.
THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. KAEW KANGSADALAMPAI,
Ph.D. 91 pp. ISBN 974-03-0613-6.

The mutagenicity of three kinds of instant noodles, namely minced pork flavour, pa-lo duck flavour and sour shrimp flavour were investigated in this study. It was found that all extracts from instant noodles, from seasonings and from noodles cooked with seasonings were not mutagenic when tested on *Salmonella typhimurium* strains TA 98 and TA 100 of the Ames test in the absence of activating system. However, after being treated with nitrite in acid circumstance (pH 3-3.5) at 37 °C for 4 h, they all showed the direct mutagenicity towards the bacteria. The nitrite treated extracts from seasoning, expressed as number of revertants per gram, showed the highest mutagenicity because it was composed of meat extract, spice and other components such as caramel, which could interact with nitrite and showed direct mutagenicity towards the bacteria. Comparing between expected values calculated from summation of number of revertant colonies per package of noodle only and number of revertant colonies per package of seasoning only and actual values from experiment, it was found that expected values were higher than actual values. It was suggested that extractable material from wheat flour in the noodle could trap the mutagen precursor from interacting with nitrite during the 4-h incubation. Therefore, the consumption of instant noodles with nitrite containing food is not recommended. Also, it is suggested to consume less seasoning as possible or use homemade fresh meat stock instead. In addition, it is advised to rinse the noodle with hot water before cooking.

Department Food Chemistry

Field of study Food Chemistry and Medical Nutrition

Academic year 2001

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

Oranuch Wongwattanasathien
Linna Tongyongk
Kaew Kangsadalampai

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest gratitude and sincere appreciation to Associate Professor Dr. Kaew Kangsadalampai, my thesis co-advisor, for his invaluable guidance, supervision, kindness, devotion and encouragement throughout this study. I am also grateful to Dr. Linna Tongyonk, my advisor for her constructive compliments, supervision and encouragement.

I am very grateful to Associate Professor Dr. Oranong Kangsadalampai, for her advise and comments. My appreciation is expressed to the other members of this thesis committee, Associate Professor Thitirat Panmaung and Dr. Pranee Kiatsurayanont, for their valuable helpful suggestions and discussions.

I would like to thanks all staff members of the Department of Food Chemistry for their assistance and encouragement.

Above all, I would like to express my deepest appreciation to my parents for their love, mental support and generous help and encouragement.

Finally, special thanks to the Graduate School of Chulalongkorn University for providing the research funding for this study.

CONTENTS

	page
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	ix
LIST OF ABBREVIATIONS.....	x
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW.....	4
III MATERIALS AND METHODS.....	24
IV RESULTS.....	34
V DISCUSSION.....	55
VI CONCLUSION.....	61
REFERENCES.....	62
APPENDICES.....	76
VITA.....	91

LIST OF TABLES

Table	Page
1	Number of histidine revertants and Mutagenicity Index (MI) of extracts from instant noodles after nitrite treatment on <i>S. typhimurium</i> TA 98 (frameshift mutation) without metabolic activation38
2	Number of histidine revertants and Mutagenicity Index (MI) of extracts from instant noodles after nitrite treatment on <i>S. typhimurium</i> TA 100 (base-pair substitution) without metabolic activation45
3	Specific mutagenic activity of instant noodles expressed as revertants/gram and total mutagenic activity expressed as revertants/package with correlation from linear regression on <i>Salmonella typhimurium</i> TA 98 (frameshift mutation) and TA 100 (base- pair substitution).....52

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Chemical structure of Aminoimidazoazaarene AIAs (IQ-type, polar).....	14
2	Chemical structure of Carboline (non-IQ type, non polar).....	15
3	Pathway of formation of nitro-IQ.....	16
4	Suggested pathway for the formation of imidazoquinolines and quinoxalines.....	18
5	Experimental design of mutagenicity assay.....	26
6	Direct mutagenicity evaluation of sample using the Ames test (pre-incubation modification).....	30
7	Steps to determine the mutagenicity of nitrite treated food sample using the Ames <i>Salmonella</i> mutagenicity test (pre- incubation modification) in the absence of S-9 mix.....	33

LIST OF ABBREVIATIONS

°C	=	degree celcius
e.g.	=	exempli gratia (for example)
et al.	=	et alli (and others)
etc	=	et-cet-era (and other similar things)
g	=	gram
kg	=	kilogram
h	=	hour
μl	=	microlitre
mg	=	milligram
μg	=	microgram
ml	=	millilitre
mM	=	millimolar
min	=	minute
M	=	Molar
MW	=	Molecular Weight
ppm	=	part per million
ppb	=	part per billion
rpm	=	round per minute
sec	=	second
viz	=	videlicet (often read out as namely)
>	=	more than
<	=	less than
%	=	percentage