



02 JUN 1992

MUTAGENIC POTENTIAL OF THAI FERMENTED SOY BEAN
PRODUCTS AND THEIR NITROSATED PRODUCTS

อภิธานนาการ

จาก

ร. วิทยากร วิทยะ ว. วัฒนกุล

RATIYA CHAROENSAKDI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(NUTRITION)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1991

ชื่อวิทยานิพนธ์ คักยภาพการก่อกลายพันธุ์ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักของไทย
 และ ผลิตผลจากปฏิกิริยาไนโตรเซชัน
 ผู้วิจัย รัตติยา เจริญศักดิ์
 ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์)
 คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
 แก้ว กังสดาลอำไพ, Ph.D.
 วรณี โรจนโพธิ์, Ph.D.
 ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาติ, Ph.D.
 วันที่สำเร็จการศึกษา 12 พฤศจิกายน พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

ซีอิ๊วขาว 8 ตัวอย่าง และ เต้าเจี้ยว 6 ตัวอย่าง ซึ่งผลิตในประเทศ ได้รับการประเมินคักยภาพการก่อกลายพันธุ์ โดยใช้วิธี Ames test (preincubation technique) และ ใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ทั้งในกรณี ที่มี และ ไม่มีเอนไซม์จากตับหนู (+ S-9 mix) มาช่วยกระตุ้นการออกฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์

ผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบทั้งหมดมีกรดเบนโซอิกในปริมาณไม่เกิน 1,000 ppm และ ไม่แสดงพิษต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อทั้ง TA98 และ TA100 ไม่ว่าจะทดสอบโดย มี หรือ ไม่มี S-9 mix ก็ตาม การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ ซีอิ๊วขาว และ เต้าเจี้ยว หลังจากทำปฏิกิริยากับ โซเดียมไนไตรท์ (500 mM) ในสารละลายมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.0-3.4 อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า สารประกอบที่เกิดขึ้นหลังจากการทำปฏิกิริยาไนโตรเซชันของ ซีอิ๊วขาว และ เต้าเจี้ยว ทุกตัวอย่างแสดงฤทธิ์กลายพันธุ์อย่างชัดเจนต่อ TA100 โดยที่ไม่ต้องการ S-9 mix ในการกระตุ้นให้ออกฤทธิ์ อย่างไรก็ตามฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะลดลงเมื่อเติม S-9 mix ลงไป เมื่อเลือกซีอิ๊วขาว 1 ตัวอย่างมาทำปฏิกิริยากับ ไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (0, 50, 100, 250 และ

500 mM) ในน้ำย่อยอาหารจากคนปกติ 3 ราย พบว่า ไนโตรที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 100 mM ขึ้นไปสามารถทำปฏิกิริยา กับ ซีอีวขาว แล้วก่อให้เกิดสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อ TA100 ซึ่งเมื่อวิเคราะห์สารประกอบที่เกิดหลังการทำปฏิกิริยาไนโตรเซชัน พบว่าเป็น สารประเภทไนโตรโซ

จากผลการทดลองทั้งหมด สรุปว่า ซีอีวขาว และ เต้าเจี้ยว ที่ผลิตในประเทศไทย โดยตัวผลิตภัณฑ์เองไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แต่ มีสารตั้งต้นที่สามารถทำปฏิกิริยา กับ ไนโตรที่ แล้วก่อให้เกิดสารประเภทไนโตรโซที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรง (direct mutagen) ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม base-pair substitution ผลผลิตนี้อาจจะเกิดในกระเพาะอาหารของคนได้ ถ้าในกระเพาะอาหารมีเกลือไนโตรที่ความเข้มข้นสูงกว่า 100 mM

Thesis Title Mutagenic Potential of Thai Fermented Soy Bean
Products and Their Nitrosated Products.

Name Ratiya Charoensakdi

Degree Master of Science (Nutrition)

Thesis Supervisory Committee

Kaew Kangsadalampai, Ph.D.

Wannee Rojanapo, Ph.D.

Songsak Srianujata, Ph.D.

Date of Graduation 12 November B.E. 2534 (1991)

Abstract

The mutagenic activity of Thai fermented soy bean products was studied by the preincubation technique of Ames test using *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100. Determinations were run under both in the presence and absence of rat hepatic microsomal enzymes (+ S-9 mix). The commercial products, 8 brands of soy sauce and 6 brands of soy bean paste with 2 samples each, were included in this study.

It was found that most samples contained benzoic acid less than 1,000 ppm and this level did not show any toxic effect on the tester strains. Mutagenesis assay demonstrated that all test samples were not mutagenic to both TA98 and TA100 whether tested in the presence or absence of S-9 mix. However, when soy sauce and water extract of soy bean paste were incubated with 500 mM sodium nitrite (pH 3.0-3.4) at 37° C for 3 h, the reaction

mixtures of all test samples exhibited direct-mutagenicity toward TA100. Furthermore, soy sauce incubated with nitrite in the presence of human gastric juice (pH 1.5-2.5) showed its mutagenic only when nitrite concentration was higher than 100 mM. The identity of the nitrosated products of soy sauce was presumed N-nitroso compounds.

Results from the present study indicated that Thai fermented soy bean products were not mutagenic to *S. typhimurium* tester strains TA98 and TA100. However, they did contain precursors of mutagenic nitroso compounds. The major nitrosated products should be direct mutagens and of base-pair substitution type. In addition, these results suggested that nitrosated products of soy sauce could be formed in the human stomach if the nitrite concentration was equal or higher than 100 mM.