



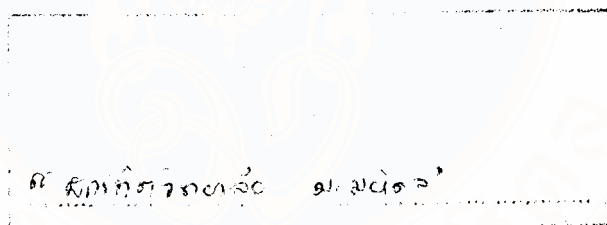
07 FEB 1995

NUTRITIONAL AND TOXICOLOGICAL ASPECTS OF SOME FOOD
COLORS: EFFECTS ON *IN VITRO* PROTEIN AND STARCH
DIGESTIBILITIES AND THE MUTAGENIC POTENTIAL USING
AMES TEST

SUPEN ASAWATRERATANAGUN

๒

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



IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1994

ชื่อวิทยานิพนธ์ ปัญหาทางโภชนาการ และพิษวิทยา ของสีผสมอาหาร: ผลต่อการ
ย่อยโปรตีน และแป้งในหลอดทดลอง และการประเมินฤทธิ์
ก่อกลายพันธุ์ โดยใช้เอมส์เทสต์

ผู้วิจัย สุเพ็ญ อัสวศิริรัตนกุล

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

แก้ว กังสดาลอำไพ, Ph.D.
อรอนงค์ กังสดาลอำไพ, Ph.D.
ประไพศรี ศิริจักรวาล, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 11 ตุลาคม พ.ศ. 2537

บทคัดย่อ

สารสกัดของสีธรรมชาติ 6 ชนิด คือ กระเจี๊ยบ คำฝอย อัญชัน เคย
น้ำตาลไหม้ ถ่านกาบมะพร้าว และ สีผสมอาหารสังเคราะห์ 7 ชนิด คือ ปองโซ 4
อาร์, คาร์ตราซีน, เอริโทรซิน, ซันเซ็ด เยลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ, อินดิโกคาร์มีน,
บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ, คาร์ตราซีน ผสม อินดิโกคาร์มีน อัตราส่วน 1:1
ถูกนำมาศึกษาถึงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา
ของสีผสมอาหาร กับไนไตรท์, ผลต่อความสามารถ ในการย่อย ของโบไวเนสซีรัม
อัลบูมินในหลอดทดลอง โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ pepsin ตามด้วย trypsin
และ chymotrypsin วิเคราะห์หา กลุ่มอะมิโนที่ปลดปล่อยออกมาด้วย 2,4,6
trinitrobenzenesulfonic acid, และผลต่อความสามารถในการย่อยแป้งใน
หลอดทดลองโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ α -amylase วิเคราะห์หากกลุ่มมอลโทส
ที่ปลดปล่อยออกมาด้วย 3,5-dinitrosalicylic acid

ผลการทดลองแสดงถึง สีธรรมชาติ และสีสังเคราะห์ ที่ใช้ในการทดสอบ
ทั้งหมดสามารถลดการย่อยของโบไวเนสซีรัมอัลบูมินและแป้งอย่างมีนัยสำคัญ
ในการทดสอบที่มีการเพิ่มเกลือไนไตรท์พบว่า การย่อย ของโบไวเนสซีรัม อัลบูมิน

และแป้งลดลงกว่าเดิม อย่างมีนัยสำคัญ การยับยั้งการย่อย โปรตีน และแป้งอาจขึ้นอยู่กับ องค์ประกอบของสารเคมี ในสีผสมอาหารธรรมชาติ และสีผสมอาหารสังเคราะห์ ได้แก่ ตัวยับยั้งเอ็นไซม์ย่อยโปรตีนและแป้ง แทนนิน สารฟีนอลอื่น ๆ และ สารโมเลกุลเล็ก หรือ ไอออน ที่สามารถยับยั้ง การทำงาน ของเอ็นไซม์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก สีผสมอาหาร ทำปฏิกิริยา กับเกลือไนไตรท์ อาจแสดงฤทธิ์คล้ายตัวยับยั้ง ที่จะลดการย่อย ของโบไวโนซีรัมอัลบูมิน และแป้ง อย่างไรก็ตาม กลไกการยับยั้ง ยังไม่ทราบแน่นอน

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสีธรรมชาติกับไนไตรท์ทั้งหมด มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ direct mutagen ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ทั้งสายพันธุ์ TA98 และ TA 100 ซึ่งแสดงว่าเกิดการกลายพันธุ์ทั้งแบบ frameshift และ base-pair substitution ผลิตภัณฑ์ที่เกิด จากปฏิกิริยาของสีผสมอาหารสังเคราะห์กับไนไตรท์ ที่ใช้ในการทดสอบบางตัว คือ ปองโซร์ 4 อาร์ เออร์โรซิน และ ซันเซต เยลโลว์ เอฟ ซี เอฟ แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 เฉพาะ ปองโซร์ 4 อาร์ ที่ แสดงฤทธิ์ก่อกลาย พันธุ์ต่อสายพันธุ์ TA100 ด้วย

Thesis Title Nutritional and Toxicological Aspects of Some Food Colors:
Effects on *In Vitro* Protein and Starch Digestibilities and The
Mutagenic Potential Using Ames Test

Name Supen Asawatreratanagun

Degree Master of Science (Nutrition)

Thesis Supervisory Committee

 Kaew Kangsadalampai, Ph.D.

 Oranong Kangsadalampai, Ph.D.

 Prapaisri Sirichakwal, Ph.D.

Date of Graduation 11 October B.E. 2537 (1994)

Abstract

The effects of six natural food colors namely, *Clitoria tematea* Linn. (อัญชัน), *Hibiscus sabdariffa* Linn. (กระเจี๊ยบ), *Pandanus amaryllifolius* Roxb. (เดย), *Carthamus tinctorius* Linn. (คำฝอย), Caramelized coconut sugar (น้ำตาลไหม้), Carbon black from coconut skin (ถ่านกาบมะพร้าว) and seven synthetic food colors namely, Ponceau 4 R, Erythrosine, Brilliant Blue FCF, Indigo Carmine, Sunset Yellow FCF, Tartrazine, Tartrazine with Indigo Carmine 1:1 were studied after being interacted with nitrite the apparent *in vitro* digestibilities of bovine serum albumin (BSA) and starch as well as on their mutagenic potential. The determination of amino group with 2,4,6 trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) after an *in vitro* hydrolysis of pepsin followed with trypsin and chymotrypsin, the determination of maltose with 3,5-dinitrosalicylic acid after an *in vitro* hydrolysis of α -amylase were performed.

Most of natural food colors and synthetic food colors significantly decreased the digestion of BSA and starch. Being added with nitrite, BSA and

starch were poorly digested. The inhibitory actions may depend on the properties of food color components e.g. protease and amylase inhibitors, tannins, other phenolic substances and the inhibition of enzymatic activity by specific small molecules and ion. Nitrosated products of food colors also decreased BSA and starch digestibilities. Nevertheless, the mode of action of food colors and nitrite on BSA and starch digestion were required further investigation.

The nitrosated products of natural food colors contained direct mutagens indicated by the revertants of *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100. It was interpreted that some direct mutagens of frameshift and base-pair substitution were formed during nitrosation. Some synthetic colors such as ponceau 4 R, erythrosine and sunset yellow FCF were mutagenic to TA 98. Only ponceau 4 R was mutagenic to TA 100 after nitrite treatment.