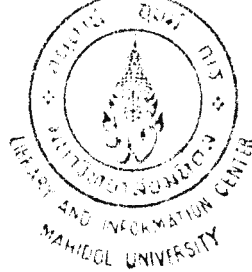


12 MAY 2000



**MUTAGENICITY OF 4-HEXYLRESORCINOL AND ITS
MODIFICATION EFFECTS ON OTHER MUTAGENS
IN TWO SHORT TERM ASSAYS**

SUPHAPHAN SOIPHET

**With compliments
of**

ศาสตราจารย์ ดร. อดิศักดิ์ น้อยสุวรรณ

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (NUTRITION)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-663-699-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
5991M
1000

43897 e.2

Copyright by Mahidol University

3936456 RANU/M : MAJOR : NUTRITION ; M.Sc. (NUTRITION)

KEY WORDS : ANTIMUTAGENICITY / MUTAGENICITY / URETHANE/
AMINOPYRENE / NITRITE / 4-HEXYLRESORCINOL /
AMES TEST / SMART

SUPHAPHAN SOIPHET : MUTAGENICITY OF 4-HEXYLRESORCINOL
AND ITS MODIFICATION EFFECTS ON OTHER MUTAGENS IN TWO SHORT
TERM ASSAYS. THESIS ADVISORS : KAEW KANGSADALAMPAI, Ph.D.,
ANADI NITITHAMYONG, Ph.D., DARUNEE BURIPAKDI LAWSON, Ph.D.
132 P. ISBN 974-663-699-5

Shrimp blackspot is an objectionable surface discoloration caused by enzymatic polyphenol oxidase formation of the precursors of insoluble polymeric pigments. It remains active during refrigeration, ice storage, and postfreeze thawing. A problem in virtually all commercial shrimp species, blackspot has a negative impact upon the commercial value and consumer acceptance of the shrimp product. Therefore, it has to be examined for quality and safety before exporting. Previous studies demonstrate that 4-hexylresorcinol presents no risk of toxicity at the levels proposed for treatment of shrimp, and the use of 4-hexylresorcinol as a processing aid to prevent melanosis in shrimp is GRAS. The main objective of this study was to determine the antimutagenicity of 4-hexylresorcinol. The methods used were two separate tests namely SMART and Ames. The former test was conducted to determine the modifying effects on both *in vivo* induction of mutation and mitotic recombination in somatic cells of *Drosophila melanogaster* (SMART assay). The second test was conducted to determine the modifying effects on the mutagen formed during aminopyrene-nitrite reaction mixture and on the final product of 4 h incubation of aminopyrene-nitrite reaction mixture using Ames assay with *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100 in the absence of metabolic activation. The results showed that 4-hexylresorcinol was not mutagenic in both SMART and Ames tests. Co-administration of 4-hexylresorcinol with urethane to the larvae reduced the frequency of induced wing spots of the flies compared with the group fed urethane. 4-hexylresorcinol pretreatment did not change the frequency of mutant spots. However, the reduction of wing spot formation in 4-hexylresorcinol pretreatment group was less than that obtained from the study on simultaneous feeding of urethane with 4-hexylresorcinol. *In vitro* working on the Ames test, it was found that 4-hexylresorcinol was antimutagenic towards the product of AP-nitrite reaction at the higher doses and could modulate the formation of the mutagenic product. It is, thus, concluded that this compound is neither a direct nor indirect mutagen. Antimutagenicity effect of 4-hexylresorcinol may be due to the induction of glutathione-S-transferase activity or the increasing amount of glutathione in phase II detoxifying system as well as inhibition of the catalytic activities of cytochrome P-450 system of phase I. The lowest dose of 4-hexylresorcinol increased number of revertants of the final reaction product when it was added along with AP and nitrite. The increase may due to the stimulation on mutagen formation during acid incubation via the mechanism of C-nitroso formation. Whereas, 4-hexylresorcinol may act as a nitrite scavenger at the higher doses.

3936456 RANU/M : สาขาวิชา: โภชนาศาสตร์; วท.ม (โภชนศาสตร์)

สุภาพรณ สร้อยเพชร : การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสาร 4-HEXYLRESORCINOL และผลการเปลี่ยนแปลงของสารนี้ต่อสารก่อกลายพันธุ์ต่างๆ โดยวิธี SHORT TERM TEST 2 แบบ(MUTAGENICITY OF 4-HEXYLRESORCINOL AND ITS MODIFICATION EFFECTS ON OTHER MUTAGENS IN TWO SHORT TERM ASSAYS). คณะกรรมการควบคุมการสอบวิทยานิพนธ์: แก้ว กังสดาลอำไพ, Ph.D., อาณาดี นิตธีรรมย, Ph.D., ครุณี บุรีภักดี ลอว์สัน, Ph.D., 132 หน้า. ISBN 974-663-699-5

จุดคำที่เปลือกกึ่งเป็นจุดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสีผิวของกึ่ง โดยมีสาเหตุจากเอ็นไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเป็นตัวตั้งต้นของการเกิดเม็ดสี โดยจะทำปฏิกิริยากับสิ่งที่ยังเหลืออยู่ระหว่างการแช่เย็น, การเก็บแช่ในน้ำแข็ง และหลังจากการถูกทำให้ละลาย ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อการค้ากึ่ง คือจุดคำมีผลกระทบต่อราคาและการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค จึงต้องมีการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยก่อนการส่งออก จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสาร 4-HEXYLRESORCINOL (4-HR) ไม่ได้แสดงความเป็นพิษในปริมาณสารที่ใส่ในกึ่ง และปริมาณที่เติมลงในขบวนการผลิตเพื่อป้องกันการเกิดจุดคำในกึ่ง โดยปริมาณที่เติมเป็นที่ยอมรับว่าไม่เป็นอันตราย (GRAS) งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาถึงฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ของสาร 4-HR ซึ่งทำการทดลอง 2 วิธี คือ SMART และ Ames test ในการทดลองแบบแรกต้องการศึกษาถึงผลการเปลี่ยนแปลงการเหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์และการรีคอมบิเนชันในโซมาติกเซลล์ในแมลงหวี่ *Drosophila melanogaster* (วิธี SMART) ซึ่งจะทำการทดลองโดยให้ได้รับสารพร้อมกันและโดยการให้สาร 4-HR ก่อนในช่วงแรก (PRETREATMENT) รวมถึงการทดลองแบบที่สองต้องการศึกษาว่าสารนี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสารอะมิโนพิรินกับเกลือโซเดียมไนไตรทโดยตรง และต่อผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายที่ได้จากอะมิโนพิรินที่ทำปฏิกิริยากับไนไตรทไปแล้ว 4 ชั่วโมง โดยใช้ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในวิธี Ames test ที่ไม่มีระบบกระตุ้นสารพิษ ผลการทดลองสรุปได้ว่า สาร 4-HR ไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในการทดลองทั้งในวิธี SMART และ Ames test การทดสอบโดยให้สารนี้ร่วมกับสาร URETHANE ในช่วงที่เป็นหนอน พบว่าลดความถี่ของคนที่ผิดปกติ (MUTANT SPOTS) ในแมลงหวี่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเฉพาะสาร URETHANE และการทดสอบให้ได้รับสาร 4-HR PRETREATMENT พบว่าสารนี้ไม่ได้ไปเพิ่มความถี่ของคนที่ผิดปกติ แต่อย่างไรก็ตามการลดลงการเกิดคนที่ผิดปกติจากการให้สาร 4-HR PRETREATMENT พบว่าลดได้น้อยกว่าในการทดลองที่ให้ได้รับสารพร้อมกันของ URETHANE กับสาร 4-HR ส่วนผลการทดลองโดยวิธี Ames test พบว่าที่ความเข้มข้นสูง (10 µg/plate) สาร 4-HR มีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ของผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายของอะมิโนพิรินที่ทำปฏิกิริยากับไนไตรท และยังพบว่ามีผลลดการเกิดการก่อกลายพันธุ์ของสารก่อกลายพันธุ์ชนิดตรงด้วย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สาร 4-HR ไม่ได้มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งชนิดตรงและชนิดอ้อม ส่วนฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ของสารนี้อาจเกิดเนื่องจากการกระตุ้นเอ็นไซม์กลูตาไทโอน-S-ทรานส์เฟอเรส หรือโดยการเพิ่มปริมาณกลูตาไทโอนที่ระบบการทำลายสารพิษในวิภาคที่ 2 และไปยับยั้งการทำงานของระบบไซโตโครมพี-450 ในวิภาคที่ 1 และพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสาร 4-HR จะเพิ่มฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดปฏิกิริยาของสารอะมิโนพิรินกับเกลือไนไตรท ซึ่งการเพิ่มนี้อาจเนื่องจากการกระตุ้นการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดเลียนแบบกระเพาะอาหาร โดยผ่านกระบวนการเกิด C-nitroso ขณะเดียวกันสาร 4-HEXYLRESORCINOL อาจที่จะทำปฏิกิริยาโดยการจับไนไตรทไว้ที่ความเข้มข้นสูง