ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดที่รับประทานได้บางชนิด หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท โดยใช้การทดสอบเอมส์

นางสาว รุจิเรข ชนาวิรัตน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารเคมี
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1097-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20973421

THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED EXTRACTS FROM SOME EDIBLE FRIED INSECTS, USING AMES TEST

Miss Rujirek Chanavirat

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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 2002

ISBN 974-17-1097-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดที่รับประทานได้บางชนิดหลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท โดยใช้การทดสอบเอมส์
โดย	นางสาว รุจิเรข ชนาวิรัตน์
สาขาวิชา	อาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ลินนา ทองยงค์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะเภสัชศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.บุญยงค์ ตันติสิระ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร. ลินนา ทองยงค์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. แก้ว กังสดาลอำไพ)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ธิติรัตน์ ปานม่วง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รุจิเรข ชนาวิรัตน์ : ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดที่รับประทานได้บางชนิด หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท โดยใช้การทดสอบเอมส์. (THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED EXTRACTS FROM SOME EDIBLE FRIED INSECTS, USING AMES TEST) อ.ที่ปรึกษา : ดร. ลินนา ทองยงค์, 96 หน้า. ISBN 974-17-1097-6.

สารสกัดจากแมลงทอด 10 ชนิด ได้แก่ แมลงตับเต่า แมลงจิโปม ดักแด้ไหม จิ้งหรีด แมลงกินูน ตั๊กแตนปาทังก้า แมลงมัน แม่เป้ง แมลงดานา และแมลงกระชอน ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เมื่อทำการประเมินศักยภาพการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอมส์ โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 (การเลื่อนของเบส) และ TA100 (การแทนที่ของเบส) อย่างไรก็ตามสารสกัดจากแมลงทอดทั้ง 10 ชนิด มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) โดยไม่ต้องมีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และเมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 พบว่าสารสกัดจากแมลงทอด 2 ชนิดเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ คือ แมลงจิโปม และแมลงกระชอน

การศึกษาผลของเส้นใยที่สกัดจากใบตำลึงต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ (เติมเส้นใยใบตำลึงเมื่อปฏิกิริยาไนโตรเซชันดำเนินไปแล้ว 2 ชั่วโมง) และการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ (เติมเส้นใยใบตำลึงตั้งแต่เริ่มต้นปฏิกิริยาไนโตรเซชัน) ของสารสกัดจากแมลงทอด 3 ชนิด ทำปฏิกิริยากับไนไตรท ซึ่งคัดเลือกจากสารสกัดแมลงทอดที่ให้ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงสุด 2 ชนิด ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 หรือ/และ TA100 คือ แมลงจิโปม แมลงกระชอน (ทำการทดสอบสายพันธุ์ TA98 และ TA100) และแมลงตับเต่า (ทำการทดสอบเฉพาะสายพันธุ์ TA98) พบว่า เส้นใยใบตำลึงไม่สามารถลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดแมลงจิโปมทอด และแมลงกระชอนทอด เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 และแมลงตับเต่าทอด เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 แต่พบแนวโน้มว่าเมื่อปริมาณเส้นใยใบตำลึงมากขึ้น ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ลดลง และพบว่าเส้นใยใบตำลึงไม่สามารถลดการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดแมลงจิโปมทอดและแมลงกระชอนทอด เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 และสารสกัดแมลงตับเต่าทอด เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ซึ่งจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลของเส้นใยใบตำลึงที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ และการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอด 3 ชนิด ทำปฏิกิริยากับไนไตรทไม่ชัดเจน ขึ้นอยู่กับชนิดของสารก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้น สภาวะที่ใช้ในการศึกษาและชนิดของเส้นใยอาหาร

ภาควิชาอาหารเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2545 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

4376606333 : MAJOR FOOD CHEMISTRY

KEY WORD: FRIED INSECTS/ NITRITE TREATED EXTRACTS/ MUTAGENICITY

RUJIREK CHANAVIRAT : THE MUTAGENICITY OF NITRITE TREATED EXTRACTS FROM SOME EDIBLE FRIED INSECTS, USING AMES TEST. (ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดที่รับประทานได้บางชนิด หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท โดยใช้การทดสอบเอมส์) THESIS ADVISOR : LINNA TONGYONK, D.Sc., [96] pp. ISBN 974-17-1097-6.

The extracts from giant water bug, true water beetle, mole cricket, short tailed cricket, scarab beetle, house cricket, bombay locust, long-horned grasshopper, red ant, and silk worm pupae did not have mutagenicity when they were tested by using *Salmonella typhimurium* strain TA98 (detects frameshift mutagens) and TA100 (detects base-pair substitute mutagens) of the Ames test. However, they were mutagenic after being reacted with nitrite in an acidic condition (pH3 – 3.5) without activating system, toward *S. typhimurium* strain TA98 and only 2 extracts from short tailed cricket and mole cricket showed direct mutagenicity toward *S. typhimurium* strain TA100.

Antimutagenicity (added fiber 2 hour after nitrosation reaction) and antimutagen formation (added fiber before nitrosation reaction) of ivygourd fiber on the 3 nitrite treated extracts, short tailed cricket, mole cricket and true water beetle, selected from the samples that exhibited the two highest mutagenicity on *S. typhimurium* strain TA98 or/and TA100 were investigated. It was found that ivygourd fiber could not diminish the mutagenicity of nitrite treated sample extracts from short tailed cricket, and mole cricket on *S. typhimurium* TA98 and TA100 and that from true water beetle on *S. typhimurium* TA98. However, higher amount of fiber trended to reduce the mutagenicity of those sample extracts. Antimutagen formation of ivygourd fiber was not revealed from the reaction between nitrite and extract from short tailed cricket or mole cricket on *S. typhimurium* TA98 or TA100 and extract from true water beetle on *S. typhimurium* TA98. The results of this study indicate that antimutagenicity and antimutagen formation of ivygourd fiber is not clear, depending on type of mutagens, conditions of study and type of dietary fiber.

Department Food Chemistry — Student's signature Rujirek Chanavirat

Field of study Food Chemistry and Medical Nutrition — Advisor's signature Linna Tongyonk

Academic year 2002 — Co-advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลงได้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คำแนะนำ การดูแลและช่วยเหลือระหว่างการวิจัยจากอาจารย์ดอกเตอร์ลินนา ทองยงค์ รองศาสตราจารย์ดอกเตอร์แก้ว กังสดาลอำไพ และอาจารย์ประจำภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดา มารดา พี่ตุ๊กตา และน้องกุ้ง สำหรับกำลังใจมากมายที่ส่งมาให้ระหว่างการศึกษาตลอดหลักสูตร และขอขอบคุณคุณนิรมล อังสุมาลี ที่เป็นเพื่อนพี่ และที่ปรึกษาที่แสนดี คุณอัจฉราพร ลิมป์ประเสริฐกุล คุณพรพรรณ โรหิตรัตน์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาอาหารเคมี และเจ้าหน้าที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ทบวงมหาวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดขอนแก่น ที่ให้โอกาสมาศึกษาตลอดหลักสูตรในครั้งนี้ซึ่งจะนำไปสู่การปฏิบัติงานที่ดีขึ้น ต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....ง

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ช

สารบัญภาพ.....ญ

บทที่ 1 บทนำ.....1

2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....31

4 ผลการวิจัย.....46

5 อภิปรายผลการศึกษา.....56

6 สรุปผลการศึกษา.....61

รายการอ้างอิง.....62

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.....73

ภาคผนวก ข.....83

ภาคผนวก ค.....85

ประวัติผู้เขียน.....96

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แมลงที่นิยมบริโภคบางชนิด และช่วงเวลาที่บริโภค	5
2	ปริมาณไฮโดรไซยาไนด์ และเซฟวิน (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม) ในแมลงบางชนิดที่ชาวอีสานนิยมบริโภค	6
3	ปริมาณสารอาหารในแมลงชนิดต่างๆ (กรัมต่อน้ำหนักแมลงสด 100 กรัม)	7
4	ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ในแมลงชนิดต่างๆ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแมลงสด 100 กรัม)	8
5	ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในแมลงจิโปม และแมลงกระชอน (กรัมต่อน้ำหนักแมลงอบแห้ง 100 กรัม)	9
6	คุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษา	29
7	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อและค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และสายพันธุ์ TA100 ที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากแมลงทอด 10 ชนิด ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ	47
8	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อและค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอด 10 ชนิด หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์ ภายใต้สภาวะกรด (พีเอช 3 – 3.5) โดยใช้เชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ	48
9	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อและค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอด 10 ชนิด หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์ ภายใต้สภาวะกรด (พีเอช 3 – 3.5) โดยใช้เชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ	50
10	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และสายพันธุ์ TA100 ที่ได้จากแมลงทอด 1 กรัม ทำปฏิกิริยากับสารละลายไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์ ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ เรียงลำดับจากน้อยไปมาก	52
11	จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อ และค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของการศึกษาการยับยั้งฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอด 3 ชนิด ปริมาณ 105.26 มิลลิกรัมแมลงทอดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ทำปฏิกิริยากับสารละลายไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์	54

เมื่อเติมเส้นใยใบตำลึงปริมาณต่างๆ ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ โดยใช้เชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ สายพันธุ์ TA100

12 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อ และค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของการศึกษา.....55
การยับยั้งการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอด 3 ชนิด ปริมาณ 105.26 มิลลิกรัมแมลงทอดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ทำปฏิกิริยากับไนไตรท เมื่อเติมเส้นใยใบตำลึงปริมาณต่างๆ ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ โดยใช้เชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ สายพันธุ์ TA100

13 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อและค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของเชื้อ *S.*.....83
typhimurium สายพันธุ์ TA98 ที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากตั๊กแตนปาทังก้าที่ซื้อจากสะพานพระพุทธยอดฟ้าจุฬาโลกมหาราช และตลาดคลองเตย ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ

14 จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ต่อจานเลี้ยงเชื้อและค่าดัชนีการกลายพันธุ์ของเชื้อ *S.* 84
typhimurium สายพันธุ์ TA100 ที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากตั๊กแตนปาทังก้าที่ซื้อจากสะพานพระพุทธยอดฟ้าจุฬาโลกมหาราช และตลาดคลองเตย ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 3 – 3.5) และไม่มีระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ

15 ค่าการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติในระดับปกติของ *S. typhimurium* แต่ละสายพันธุ์.....93
ที่ใช้ในการทดสอบเอมส์ สำหรับระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ

16 ชนิดและปริมาณสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานสำหรับเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์.....94
TA98 และ สายพันธุ์ TA100

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	แผนการศึกษา	34
2	ขั้นตอนและวิธีการสกัดสารก่อกลายพันธุ์จากแมลงทอดโดยสรุป	35
3	การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธ์ของสารสกัดจากแมลงทอด โดยการทดสอบเอมส์	38
4	การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธ์ของสารก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจากสารสกัดแมลงทอดทำปฏิกิริยากับไนไตรท โดยการทดสอบเอมส์	39
5	ขั้นตอนและวิธีการศึกษาผลของเส้นใยใบตำลึงกับการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดเมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท	43
6	ขั้นตอนและวิธีการศึกษาผลของเส้นใยใบตำลึงกับการเปลี่ยนแปลงการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดเมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท	44
7	แมลงดานา	73
8	แมลงตับเต่า	74
9	แมลงกระชอน	75
10	จิโปม	76
11	จิ้งหรีด	77
12	แมลงกินูน	78
13	ตั๊กแตนอีสาน	79
14	แมลงมัน	80
15	แม่เป้ง	81
16	ดักแด้ไหม	82

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย