



| | |
|------------|---|
| Title | 焼き処理魚肉の変異原活性に対するキャベツ汁分画液の抑制効果 |
| Author(s) | 古場, 久代; 長谷川, 幸雄; 松岡, 麻男; 左, 篤子; 原, 研治; 長富, 潔; 石原, 忠 |
| Citation | 長崎大学水産学部研究報告, v.74- 75, pp.43-50; 1993 |
| Issue Date | 1993-12 |
| URL | http://hdl.handle.net/10069/29830 |
| Right | |

This document is downloaded at: 2019-09-18T01:34:11Z

焼き処理魚肉の変異原活性に対するキャベツ汁分画液の抑制効果

古場 久代, 長谷川幸雄, 松岡 麻男, 左 篤子
原 研治, 長富 潔, 石原 忠

Antimutagenicity of the Gel-Filtrated Fractions of Cabbage Juice on the Mutagenicity of Broiled Fish Meat

Hisayo Koba,*¹ Yukio Hasegawa,*¹ Asao Matsuoka,*¹
Atsuko Hidari,*¹ Kenji Hara, Kiyoshi Osatomi,
and Tadashi Ishihara

The fish meat of yellowtail was broiled until the surface temperature come up 260°C before or after the immersing treatment in the gel-filtrated fractions of cabbage juice for 20min at room temperature, and the effect of each fraction on mutagenicity of the broiled fish was examined by a some modified Ames's method using *Salmonella typhimurium* TA 98. Cabbage juice was separated into four fractions of F-I (high MW fraction), F-II (low MW fraction) -1, 2 and 3 by a gel-filtration using Sephadex G-25. When the fish meat was broiled after the immersing treatment in each fraction, F-I, F-II-2 and F-II-3 fractions showed antimutagenic activities, especially, F-II-3 which is most low molecular weight fraction had a higher antimutagenic activity than the other fractions, and F-II-3 heated at 100°C for 20 min had also high antimutagenic activity. When the fish meat was immersed in F-II-3 after broiling, F-II-3 showed high antimutagenic activity, but no antimutagenic activity was detected when F-II-3 was heated at 100°C for 20min. These results suggested that F-II-3 has the antimutagenic activity on mutagens of charred materials produced on the surface of broiled fish and has inhibitory action on formation of mutagens in charred materials, but the former activity of F-II-3 is unstable with the heat treatment.

Key Word: 変異原 mutagen; 抗変異原活性 antimutagenic activity;
焼き魚 Broiled fish; キャベツ汁 cabbage juice.

ある種の化学物質の有する変異原性と発癌性との間には高い相関があることや¹⁾, 環境中には変異原活性を示す種々の物質が存在することが明らかにされてきた。食品中にも天然, 添加および汚染による変異原物質以外に, 食品の加工, 保蔵, 調理中に生成する変異原物質の存在が明らかにされ, 食品の安全性についての問題が提起されている。

一方, 各種の野菜, 果物等の植物性食品には変異原活性抑制因子が存在することを多くの人が報告しており, 高分子物質としてパーオキシダーゼやある種のタンパク質,²⁻⁵⁾ ポリフェノール化合物,⁶⁾ リグニン様化合物^{7, 8)} および植物繊維等,^{9, 10)} 低分子物質としてはビタミンCやシステイン等の還元剤¹¹⁻¹³⁾ の他にビタミンAやE^{12, 13)} 等が知られてい

*¹ 活水女子短期大学 (Kwassui Women's Junior College, Higashiyamate, Nagasaki 850, Japan).

る。このうち、パーオキシダーゼ,^{4,5)} リグニン様物質^{7,8)} および植物繊維^{9,10)} にはタンパク質やアミノ酸の加熱分解時に生成するヘテロサイクリックアミン系の強力な変異原物質である Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-*b*] indole) や Trp-P-2 (3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-*b*] indole) 等に対する変異原活性抑制効果があることが報告されている。しかし、タンパク質やアミノ酸由来の変異原物質に対する植物性食品中の低分子の変異原活性抑制因子についての研究や、変異原物質の生成を抑制する因子に関する研究はほとんど行われていない。著者らは前報^{14,15)} で焼きブリの変異原活性に対する野菜汁、果汁の抑制効果を調理化学的に追究する目的で、ブリ肉片を加熱調理(焼き処理)する前または後に肉片をこれらの液に浸漬し調製した検液を用い、*Salmonella typhimurium* TA98に対する変異原活性抑制効果を調べた。その結果いずれの検液にも変異原活性抑制効果が認められた。このことより、これらの汁液には焼きブリの変異原物質の活性抑制作用以外に、その生成を抑制する作用があることが推察された。

本研究では前報^{14,15)} で焼き処理魚肉の変異原活性を強く抑制したキャベツ汁を用い、主に焼きブリの変異原物質の生成抑制因子を究明するためにキャベツ汁をゲルろ過にて分画し調べた。

実験方法

ゲルろ過によるキャベツ汁の分画 新鮮なキャベツ(全体)をジューサー(ナショナル製, MT-C 22)にかけ採取した汁液を遠心分離(10,000×g, 20 min)し上清(キャベツ汁)を得た。この液を直接または凍結乾燥後少量の蒸留水に溶解し不溶物を遠心除去し、蒸留水で平衡化した Sephadex G-100 または Sephadex G-25 のカラムでゲルろ過した。溶出は蒸留水で行ない、その280nmの吸収をめやすに分画試料液を得た。なおゲルろ過の詳細は各実験結果の項に記した。

変異原活性検出試料液の調製 変異原活性を発現する試料としてブリ肉片を前報^{14,15)} に準じて処理し調製した。養殖ブリの背部筋肉を2×5×0.5cmの肉片(約5gを精秤)にし、これを260°Cで焼き処理する前または後にキャベツ分画液20mlに室温で20分間浸漬した。前者の処理を「処理後加熱」後者を「処理前加熱」と呼ぶ。各焼き処理はロースター(ナ

ショナル製 NF-730型)中央部の一定位置に1片のブリ肉片を置き、その中央部に熱電対センサーの先端部を接着させ、260°Cになるまで加熱した。焼きブリの変異原活性は、200°Cの焼き処理では非加熱の生ブリと同程度の His⁺コロニー数/plate を示し、変異原活性は検出されないこと。260°C処理では明らかに検出され、かつ変異原活性が試料液量の増加に伴い直線的に増大すること、300°C以上では肉表面が炭化し、400°C以上では変異原活性が著しく高くなりキャベツ汁等の変異原活性抑制効果の確認がし難くなることを前報¹⁴⁻¹⁶⁾ で報告した。従って本研究では焼き処理温度を260°Cに設定した。肉片は1片ごとに上記の焼き処理を行い、各回ロースターを室温まで冷却して使用した。この条件で肉片の周囲に焦げ目が現れる程度の焼き状態になる。焼き処理した肉片に15mlのジメチルスルホキシドを加え5分間ホモゲナイズし、これを37°Cの恒温水槽に24時間保温後、Whatman ろ紙No.2を用い吸引ろ過して変異原活性検出試料液(焼きブリの抽出液)を得た。対照試験は「処理後加熱」では肉片を室温にて20分間蒸留水に浸漬処理した後焼き処理(この場合単に焼き処理しても結果はほぼ同じである¹⁴⁾)、「処理前加熱」では焼き処理後に20mlの蒸留水に20分間浸漬した。

変異原活性抑制効果の検出試験方法 Ames 法¹⁷⁾ の変法¹⁸⁾ に基づき、*S. typhimurium* TA98において誘発されたヒスチジン非要求性(His⁺)への復帰突然変異菌数を指標とした。通常、焼きブリ抽出液の5, 10, 20, 50, および100 μlに前報¹⁵⁾と同様に調製したS-9 mix 0.5mlおよび前培養した菌懸濁液0.1mlを加え、ついで、ジメチルスルホキシドで総液量0.7mlにし、37°Cに20分間保温した。これにソフトアガー2mlを加え、最少アガープレートに重層した。これを37°C, 48時間培養後、プレート上のヒスチジン非要求性の復帰突然変異コロニー数(His⁺のコロニー数)を計測した。なお各濃度ごとの変異原活性抑制効果を次式により求めた。

変異原活性抑制効果(%) = [(A-B) / A] × 100
Aは対照試験であり、すなわち蒸留水に肉片を浸漬して焼き処理した場合の各濃度ごとの復帰突然変異コロニー数、Bはキャベツ分画液に浸漬した肉片を用いた場合の各濃度ごとの復帰突然変異コロニー数である。ただし、A, Bは各々自然突然変異コロニー数を予め差し引いた数値である。なお、1回の実

験につき、各3プレートを用いて実験し、その平均値で算出した。

実験結果

キャベツ汁の濃度による変異原活性抑制効果の比較 焼き処理魚肉の変異原活性におよぼすキャベツ汁の濃度の影響を「処理後加熱」実験で調べた。キャベツ汁の原液とこれを蒸留水で2, 4倍に希釈したキャベツ汁の各々20mlにブリ肉片を20分間浸漬し、ついで260°Cの焼き処理後、常法により焼きブリ抽出液を調製した。なお対照試験はキャベツ汁の代りに蒸留水を用いた。これらの抽出液の10, 20, 50, 100 μ lを用い常法のAmes法の変法¹⁸⁾によりHis⁺のコロニー数/plateを計測し、その結果をFig. 1に示した(括弧内の数値は先に示した式より算出した変異原活性抑制効果である)。抽出液量の増加にともない対照試験ではHis⁺のコロニー数/plateの増加がみられるが、キャベツ汁原液に浸漬した場合はその変異原活性は強く抑制(変異原活性抑制効果75~89%)された。このことは前報^{14, 15)}の結果と一致していた。また2倍希釈試料でも強い変異原活性抑制効果(50~67%)を示したが、4倍希釈ではその効果(22~27%)はかなり低下した。

キャベツ汁の高分子画分と低分子画分の変異原活性抑制効果の比較 約90gのキャベツから得たキャベツ汁50mlをSephadex G-100のカラム(3.6×50cm)でゲルろ過した結果をFig. 2に示した。フラクションNo.11~27を高分子画分(F-I)、それ以後の溶出部(No.28~67)を低分子画分(F-II)とし、これを凍結乾燥後、各々25mlの蒸留水に溶解し試料液とした。その20mlを用い、常法によりブリ肉片を「処理後加熱」して得た抽出液を5, 10, 20, 50および100 μ l用い、各濃度ごとのHis⁺のコロニー数/plateを計測して変異原活性を調べ、その結果をFig. 3に示した(括弧内の数値は前記の式より算出した変異原活性抑制効果である)。キャベツ汁分画液で処理した場合には両試料とも対照試験に比べ明らかにHis⁺のコロニー数は減少しており、いずれの濃度においても高分子画分より低分子画分で処理した試料の方が低い変異原活性を示した。すなわちその変異原活性抑制効果は高分子画分(24~40%)より低分子画分(58~66%)が高い傾向を示した。この傾向は数回の実験において一致し再現性が確認された。

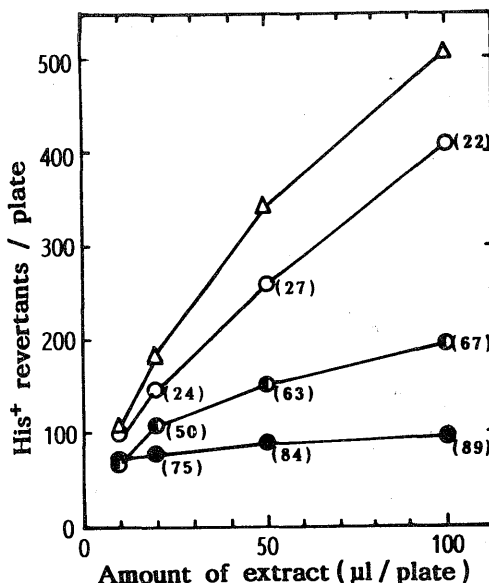


Fig. 1. Effect of cabbage juice on mutagenicity of charred materials produced on the surface of broiled yellowtail toward *S. typhimurium* TA 98.

The fish meat (2×5×0.5cm) was immersed in 20ml of distilled water (Δ) and cabbage juice for 20min at room temperature respectively, and then broiled until surface temperature of the fish meat come up 260°C using a roaster. After homogenization with 15ml of dimethylsulf oxide for 5min, the homogenats were standing for 24h at 37°C, and then filtered through in vacuo.

The antimutagenic activity of the filtrate is assayed by a some modified Ames's method¹⁷⁾, using *S. typhimurium* TA 98.

An aliquot of the filtrate was mixed with 0.1ml of TA 98 bacterial suspension, 0.5ml of S-9 mix. Total volume was adjusted to 0.7ml with dimethylsulfoxide. After the mixture has been preincubated for 20min at 37°C, 2ml of soft agar was added, and the mixture was poured onto a histidine-deficient Vogel-Borner agar medium in Petri dish (15×100mm). The plate was incubated at 37°C for 48 h, and the number of occurring revertants was counted. Experiments were performed in triplicate. (Δ), control; (\bullet), cabbage juice; (\circ), cabbage juice was diluted with distilled water (1:1); (\circ), cabbage juice was diluted with distilled water (1:3). Numbers in parentheses indicated as percentage of antimutagenicity.

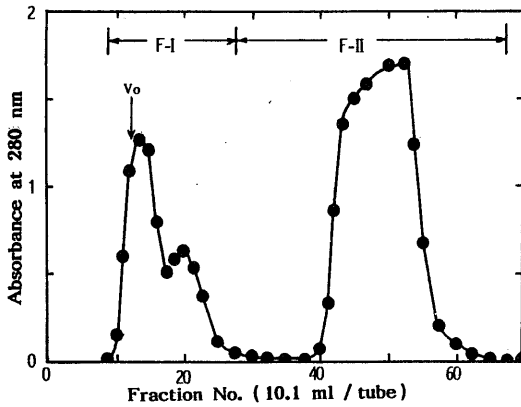


Fig. 2. Gel-filtration of cabbage juice (50ml) on a Sephadex G-100 column (3.6×50cm).

Elution was carried out with distilled water and absorbance at 280nm (●) was measured. Pooled fractions (F-I and F-II) were lyophilized and dissolved in 25ml of distilled water respectively.

低分子画分細分画試料の変異原活性抑制効果の比較
前項の実験で高分子画分より低分子画分で処理した試料の方が高い変異原活性抑制効果を示した。そこで低分子画分を細分画して調べた。620gのキャベツから350mlのキャベツ汁を得た。これを凍結

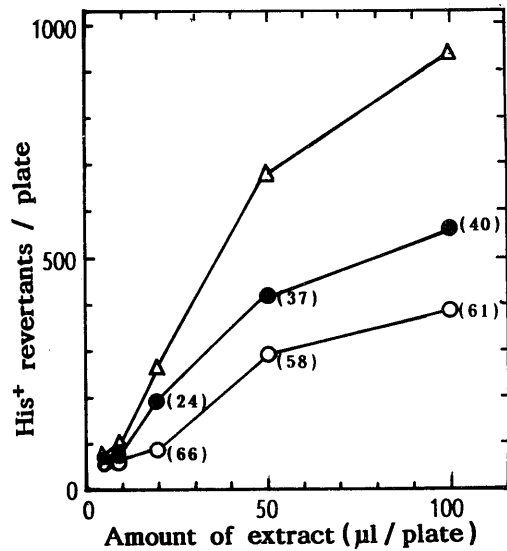


Fig. 3. Effect of F-I and F-II on mutagenicity of charred materials produced on the surface of broiled yellowtail toward *S. typhimurium* TA 98.

The fish meat (2×5×0.5cm) was immersed in 20ml of distilled water (△), F-I (●) and F-II (○) for 20min at room temperature, respectively. Other experimental methods were the same as those described in Fig.1.

Numbers in parentheses indicated as percentage of antimutagenicity.

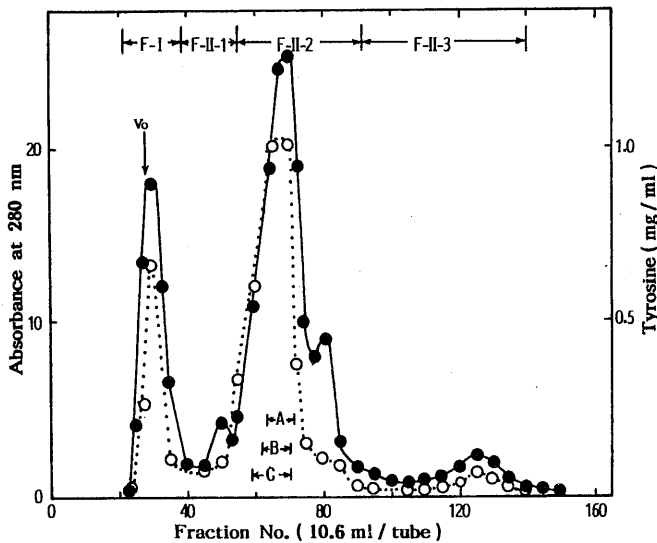


Fig. 4. Gel-filtration of the cabbage juice on a Sephadex G-25 column.

Cabbage juice (350ml) was lyophilized and dissolved in 75ml of distilled water. After centrifugation, the supernatant was applied to a Sephadex G-25 column (4×60cm) and eluted with distilled water. Pooled fractions (F-I, F-II-1, F-II-2 and F-II-3) were lyophilized and dissolved in 55ml of distilled water, respectively. L-ascorbic acid and L-cysteine were applied to the same column, respectively. (●), absorbance at 280nm; (○), Folin reaction by Lowry's method (tyrosinmg/ml); (A), L-ascorbic acid; (B), L-cysteine; (C), positive fractions for phenol-H₂SO₄ reaction.

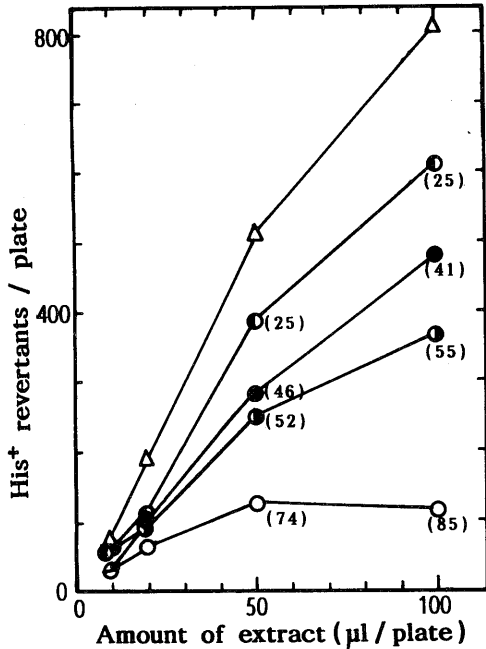


Fig. 5. Effect of F-I (●), F-II-1 (◐), F-II-2 (◑), and F-II-3 (○) on mutagenicity of charred materials produced on the surface of broiled yellowtail toward *S. typhimurium* TA 98.

Experimental methods were the same as those described in Fig.1. Numbers in parentheses indicated as percentage of antimutagenicity.

乾燥後75mlの蒸留水に溶解し、その遠心 (10,000×g, 20min) 上清液をSephadex G-25のカラム (4.0×60cm)でゲルろ過し Fig. 4の結果を得た。フラクションNo23~42を高分子画分 (F-I)とし、それ以後の溶出部を3分画 (F-II-1, 2, 3)した。各画分を凍結乾燥後、各々55mlの蒸留水に溶解した。その20mlを用い常法によりブリ肉片を「処理後加熱」して得た焼きブリ抽出液の変異原活性を調べ Fig. 5の結果を得た。変異原活性抑制効果はF-II-3で処理した試料が最も高く、F-II-1は高分子画分 (F-I)のそれよりも低かった。F-IおよびF-II-3についてはさらに数回実験し、Fig. 5の結果を再確認した。なお、Fig. 4には280nmの吸収以外にLowry法による600nmの吸収 (チロシン量に換算)、フェノール硫酸法による糖の検出位置、およびアスコルビン酸とシステインを単独に流した場合の溶出位置を示した。

F-II-3画分の熱処理による変異原活性抑制効果

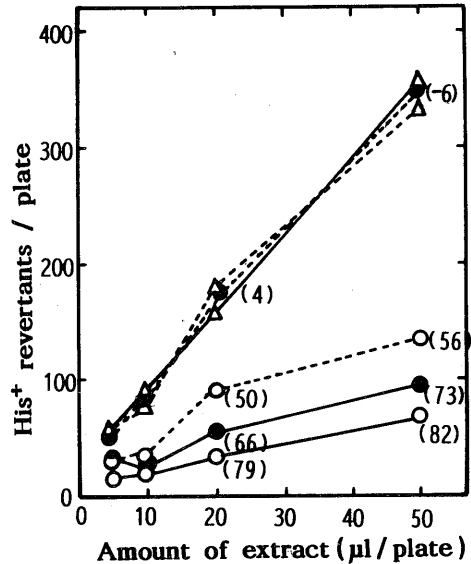


Fig. 6. Effect of F-II-3 on mutagenicity of charred materials produced on the surface of broiled yellowtail toward *S. typhimurium* TA 98.

The fish meat was broiled before (.....) or after (—) immerse in F-II-3 which was with (●) or without (○) heat-treatment at 100°C for 20min. (△), control. Other experimental methods were the same as those described in Fig.1. Numbers in parentheses indicated as percentage of antimutagenicity.

の変化 F-II-3画分を20分間煮沸処理後、液量をもとにもどし、変異原活性抑制効果に及ぼす熱処理の影響を調べた。なお本項では「処理後加熱」と「処理前加熱」の両処理法で実験し、その変異原性を Fig. 6に示した。「処理後加熱」の場合、すなわちブリ肉片をF-II-3画分に浸漬後260°Cの焼き処理を行った試料からの焼きブリ抽出液ではF-II-3の加熱、非加熱にかかわらず、両試料とも高い変異原活性抑制効果を示した。一方「処理前加熱」の場合、すなわちブリ肉片を260°C焼き処理後にF-II-3画分に浸漬して得た焼きブリ抽出液では、F-II-3を非加熱の場合には「処理後加熱」ほどではないが高い変異原活性抑制効果を示したのに対し、熱処理したF-II-3に浸漬した場合には、その活性はほぼ完全に消失した。

考 察

焼き魚について従来いわれているような変異原物質の生成がキャベツ汁中に存在する変異原活性抑制

制物質によって抑制されたり, また生成した変異原物質が除去されれば, 魚肉の加工にとって有益な知見となりうる。従ってキャベツ汁中の変異原活性抑制因子を見いだすことを目的とし, キャベツ汁を Sephadex G-100 により高分子と低分子画分に2分画, または Sephadex G-25 により低分子画分を3分画し, ブリ肉片を焼き処理する前または後に各分画液に浸漬して変異原性に及ぼす影響を調べた。なお, ブリ筋肉中には遊離ヒスチジンが多量含まれていることが知られている^{19, 20)}。従って, 焼き処理後の変異原活性検出試料液には遊離ヒスチジンが含まれており, これによる Ames 法での変異原活性検出試験への影響が考えられる。しかし, 本研究は焼き処理したブリ肉片の変異原活性の強弱を他の魚類や他の食品と比較したものではなく, 焼き処理したブリ肉の変異原活性に対するキャベツ汁の抑制効果を試料中のヒスチジン含量に関しては同一条件下で比較した実験であるため, 試料中のヒスチジンによる影響は考慮しなかった。

「処理後加熱」で調製した焼きブリ抽出液の変異原活性抑制効果は高分子より低分子画分で処理した方が高かった。また低分子画分を3分画した場合には, 最も遅く溶出した F-II-3 画分で処理した試料が強い変異原活性抑制効果を示した。上記の「処理後加熱」の結果より, (1)低分子画分には焼き処理魚肉の変異原物質の生成抑制因子が存在すること, (2)F-II-3 の中のある種の成分が260°Cの焼き処理により強い変異原活性抑制物質に変化し, この物質が結果的に後処理効果をもたらしていること, (3)焼き処理過程で生成する変異原物質に対して, 焼き処理前の浸漬時に吸着した成分が残存していて変異原活性を抑制したことなどが考えられる。一方, F-II-3 の非加熱試料と煮沸処理した試料を用い, 「処理後加熱」と「処理前加熱」で調製した焼きブリ抽出液の変異原活性抑制効果を調べた。その結果, F-II-3 画分を熱処理していない場合には, 「処理後加熱」「処理前加熱」の両焼きブリ抽出液で変異原活性抑制効果が認められた。しかし, F-II-3 を熱処理すると「処理後加熱」の焼きブリ抽出液では高い変異原活性抑制効果が認められたにもかかわらず, 「処理前加熱」の焼きブリ抽出液ではその効果は認められなかった。このことは, ブリ肉片のみを焼き処理した場合に生成する変異原物質を不活性化作用は F-II-3 を100°Cで熱処理すると消失することを意味している。タンパク質やアミノ酸の加熱分解時に生成する変異

原物質(発癌性物質)としては, トリプトファン由来の Trp-P-1, Trp-P-2,^{21, 22)} グルタミン酸由来の Glu-P-1 (2-amino-6-methyl dipyrro [1,2-*a* : 3', 2'-*d*] imidazole), Glu-P-2 (2-amino dipyrro [1, 2-*a* : 3', 2'-*d*] imidazole),^{12, 13)} タンパク質由来の 2-amino- α -carboline²⁴⁾ や焼魚や焼肉由来の IQ (2-amino-3-methylimidazo [4,5-*f*] quinoline) や MeIQ^{23, 25)} (2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-*f*] quinoline) 等が知られている。ブリ肉片を260°Cで加熱処理した過程では上記のような変異原物質が生成していることが考えられ, F-II-3 中にはこれらの変異原物質の変異原活性を抑制する作用以外にこれらの変異原物質の生成を抑制する作用があると考えられるが, 詳細は明らかではない。これまでタンパク質やアミノ酸の加熱分解時に生成した変異原物質の活性を抑制する因子に関する研究は非常に多いが,^{2-10, 26, 27)} 加熱分解時の変異原物質の生成を抑制する因子に関する研究はほとんどない。本研究の結果, F-II-3 には後者の因子が存在することも推察され, この因子の同定に興味もたれる。一方, 本実験と前報¹⁵⁾の結果より「処理後加熱」は変異原物質の生成を抑制する好手段であることが示唆された。このことは, 調理加工方法の工夫により変異原物質の生成を抑制できる可能性があることを示唆しており, この点をさらに化学的に立証するため, 今後トリプトファン, グルタミン酸等のアミノ酸や単一タンパク質に F-II-3 を作用させた後に加熱分解するモデル実験による詳細な研究が必要であろう。最近, Shinohara ら²⁶⁾ がホーレン草の40%エタノール抽出物の透析内液を Sephadex G-100でゲルろ過し, 低分子画分に, Trp-P-2 に対する強い変異原活性抑制効果があることを報告している。この実験は著者らの「処理前加熱」実験に相当するものであり, 非加熱の F-II-3 を用いた「処理前加熱」試料で, 高い変異原活性抑制効果が検出された結果と類似しており, 興味深い結果である。植物性食品の低分子変異原活性抑制因子としてはニトロソアミン類に対するビタミンC,^{11, 12)} システイン¹¹⁾等の還元剤やフェノール化合物¹²⁾の効果の他, ビタミンAやEにも効果があると推察されている。¹²⁾ またペンツピレンの変異原活性をクロロフィルやクロロフィリンが抑制することも報告されている。^{28, 29)} しかしタンパク質やアミノ酸由来の変異原物質に対する植物性食品由来の低分子化合物による抑制効果については先の Shinohara ら²⁶⁾の報告があるのみで非常に少ない。

従って変異原活性抑制因子の同定も行われていない。Fig. 4 に示したようにアスコルビン酸やシステインはF-II-2画分の位置に溶出した。従ってF-II-3にはこれらの物質は存在しないと推察した。またビタミンA, Eやクロロフィルは脂溶性物質であるためF-II-3画分に含まれている可能性は非常に少ない。実験結果には示さなかったがF-II-3画分はニンヒドリン反応に陰性であった。従ってタンパク質, ペプチドおよびアミノ酸等がこの画分に存在することは考えられない。しかし, F-II-3画分は図示したようにLowry法に陽性であった。従ってこの画分には低分子のフェノール化合物が含まれていることが推察される。今後この画分の変異原活性抑制因子を単離同定すると同時に, 植物性食品中の分布をあきらかにする。

なお, F-II-3画分はSephadex G-25の分画範囲を越え, 標準物質として使用したアスコルビン酸やシステインよりかなり遅れて溶出した。このことより, F-II-3画分はSephadex G-25と吸着を起こして溶出したとも考えられ, F-II-3画分の成分が確実に低分子物質であるとは断言できないが, 本実験ではこれ以上検討していない。

文 献

- 1) M. Nagao, T. Sugimura, and T. Matsushima : *Annu. Rev. Geneti.*, **12**, 117-159 (1978).
- 2) K. Morita, M. Hara, and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1235-1238 (1978).
- 3) T. Kada, K. Morita, and T. Inoue : *Mutation Res.*, **53**, 351-353 (1978).
- 4) T. Inoue, K. Morita, and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 345-353 (1981).
- 5) M. Yamada, M. Tsuda, M. Nagao, M. Mori, and T. Sugimura : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **90**, 769-776 (1979).
- 6) K. Shinohara, S. Kuroki, M. Miwa, Z. L. Kong, and H. Hosoda : *Biol. Chem.*, **52**, 1369-1375 (1988).
- 7) K. Morita, T. Kada, and M. Namiki : *Mutation Res.*, **129**, 25-31 (1984).
- 8) K. Morita, Y. Nishijima, and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 925-932 (1985).
- 9) T. Kada, M. Kato, K. Aikawa, and S. Kiriyama : *Mutation Res.*, **141**, 149-152 (1984).
- 10) M. Takeuchi, M. Hara, T. Inoue, and T. Kada : *Mutation Res.*, **204**, 263-267 (1988).
- 11) T. Osawa, H. Ishibashi, M. Namiki, and T. Kada : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **95**, 835-841 (1980).
- 12) 大澤俊彦 : 日食工誌, **37**, 311-319 (1990).
- 13) 太田邦夫, 山本 正, 杉村 隆, 菅野晴夫 : 癌の科学, 第2巻, 環境と発癌, 第1版, 南江堂, 東京, pp.162-163(1979).
- 14) 古場久代, 長谷川幸雄, 松岡麻男, 中里富美子, 左 篤子, 大町睦子 : 活水論文集, **26**, 13~24 (1983).
- 15) 古場久代, 長谷川幸雄, 松岡麻男, 中里富美子, 左 篤子, 久木野睦子, 塩田教子 : 日本家政学会誌, **39**, 1105~1110 (1988).
- 16) 長谷川幸雄, 古場久代, 松岡麻男, 中里富美子, 左 篤子, 大町睦子, 塩田教子 : 活水論文集, **28**, 1~8 (1985).
- 17) B. N. Ames, J. MacCann, and E. Yamazaki : *Mutation Res.*, **31**, 347-364 (1975).
- 18) 矢作多貴江 : 蛋白質・核酸・酵素, **20**, 1178-1189 (1975).
- 19) 玉瀬喜久雄, 北田善三, 溝淵脩彦, 佐々木美智子 : 食衛誌, **25**, 525-529 (1984).
- 20) M. Sakaguchi and M. Murata : *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 685-689 (1986).
- 21) K. Takeda, T. Ohta, K. Shudo, T. Okamoto, K. Tsuji, and T. Kosuge : *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2145-2146 (1977).
- 22) T. Kosuge, K. Tsuji, K. Wakabayashi, T. Okamoto, K. Shudo, Y. Iitaka, A. Itai, T. Sugimura, T. Kawachi, M. Nagao, T. Yahagi, and Y. Seino : *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 611-619 (1978).
- 23) T. Sugimura : *Mutation Res.*, **150**, 33-41 (1985).
- 24) D. Yoshida, T. Matsumoto, R. Yoshimura, and T. Matsuzaki : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **83**, 915-920 (1978).
- 25) H. Kasai, Z. Yamaizumi, K. Wakabayashi, M. Nagao, T. Sugimura, S. Yokoyama, T. Miyazawa, N. E. Spingarn, J. H. Weisburger, and S. Nishimura : *Proc. Japan Academy*, **56B**, 278-283 (1980).

- 26) K. Shinohara, Z. L. Kong, T. Fukuda, and K. Iino : *Nippon Syokuhin Kogyo Gakkaishi*, **38**, 242-248 (1991).
- 27) 上田成子, 桑原祥浩, 平位信子, 佐々木弘子, 菅原龍幸 : *日食工誌*, **38**, 507-514 (1991).
- 28) L. Terwel and J. C. M. van der Hoeven *Mutation Res.*, **152**, 1-4 (1985).
- 29) C. N. Lai, M. A. Butler, and T. S. Matney *Mutation Res.*, **77**, 245-250 (1980).