

재래종 적색자두(*Prunus salicina*) 효소갈변반응 생성물의
돌연변이 억제작용

함 승 시 · 홍 은 희 · 大村 浩 久*

강원대학교 식품공학과, 日本國九州大學 食糧化學工學科*

Desmutagenicity of Enzymatically Browened
Substances Obtained from the Reaction of *Prunus salicina* (Red)
Enzyme and Polyphenols

Seung-Shi Ham, Eun-Hee Hong, and Hirohisa Omura*

Department of Food Science and Technology, Kangwon National University, Chuncheon

*Food Science and Technology Institute, Kyushu Univ., Fukuoka, Japan

Abstract

The rec-assay on *Bacillus subtilis* strains H17(Rec⁺) and M45(Rec⁻), the Ames test with modification of preincubation on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 and DNA-breaking test on double strand calf-thymus DNA were carried out using enzymatically browened substances obtained from the reaction of *Prunus salicina* (Red) enzyme and polyphenols. The spore rec-assay of enzymatic browning reaction products of pyrogallol, hydroxyhydroquinone, 3,4-dihydroxytoluene and chlorogenic acid showed non-mutagenic activity. The spore rec-assay showed a little influence of Zn²⁺ and Ni²⁺ on the action of four kinds of enzymatic browning reaction products. The enzymatic browning reaction products of polyphenols did not show DNA-breaking activity. Cu²⁺ of various metal ions influenced on DNA-breaking of enzymatic browning reaction products of pyrogallol. However, enzymatic browning reaction products of chlorogenic acid inhibited on DNA-breaking activity. Four kinds of enzymatic browning reaction products showed non-mutagenic activity on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9 mix. In the mutagenicity on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9 mix in the presence of benzo(a)pyrene which is the carcinogenic substances, four kinds of enzymatic browning reaction products showed desmutagenic activity.

서 론

식품중에 함유되어 있는 화학성분들 중에는 돌연변이원성을 갖는 화학물질도 있다는 보고가 있을 후 부터 발암성과 관련지어 가공식품을 비롯한 천연식품의 안정성에 관해서도 많은 관심을 갖게 되었다^(1,3). 長尾⁽⁴⁾는 일상식품중의 돌연변이원물질에 대하여 연구한 바 있고, Kada등⁽⁵⁾과 Lai등⁽⁶⁾은 일상 식용야채중의 항돌연변이원성에 관한 연구에서 야채의 생즙이 항돌연변이원성이 있음을 보고하였으며, humic acid⁽⁷⁾나 chlorophyllin⁽⁸⁾등도 돌연변이 억제작용이 있음이 보고되었다. 식품의 조리, 가공중에 생성되는 변이원성에 대해서는 지금까지 많은 연구가 행해져 왔으며 특히 단백질 가열분해물 또는 지질의 가열분해물 중에서 강력한 발암물질이 밝혀졌다^(9,11). 식품성분들의 상호 반응에 의해 생성되는 효소적 갈변반응 생성물에 대한

돌연변이원성에 관해서는 아직 깊이 연구된 바 없으나 成^(12,13)의 보고로보아 많은 polyphenol 화합물이 강한 돌연변이원성이 있는 것으로 나타났으나 이들 polyphenol 화합물이 효소와 반응하여 갈색화되면 변이원성이 급격히 저하되는 것으로 나타났다. 지금까지는 식품의 갈색화반응이 식품의 착색이나 영양가의 손실 및 상품가치 저하등의 측면에서 주목되어 왔으나 최근 비효소적 갈변반응인 Maillard반응의 최종 생성물인 melanoidin이 변이원성 억제작용이 있음이 밝혀졌다⁽¹⁴⁾.

본 연구에서는 효소에 의해 생성되는 갈변반응생성물 즉 과일 및 채소류에 널리 분포되어있는 polyphenol oxidase가 phenol 화합물에 작용하여 생성된 갈변물질들에 대한 변이원성을 연구하기위한 실험으로 우리나라 재래종 적색자두(*Prunus salicina*)로부터 효소를 추출하여 polyphenol 화합물과 반응시켜 얻어진 갈변반응

생성물에 대한 돌연변이원성 및 변이원성 억제작용에 관하여 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 재래종 적색자두는 시장에서 구입하여 물로 잘 씻은 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 *S. typhimurium* TA98과 TA100 그리고 *B. subtilis* H17과 M45 두 균주는 大村 박사로부터 분양 받았다.

효소액 조제

大村등⁽¹⁵⁾의 방법에 의해 자두 과육을 미리 냉각시켜 놓은 acetone에 담근 후 균질기로 마쇄한후 흡인여과하여 얻은 잔사를 acetone으로 5회 반복처리하였다. Desiccator내에서 감압건조하여 얻은 분말을 -20°C 에서 보존하면서 실험에 사용하였다. 효소액은 acetone으로 처리한 자두분말을 常法⁽¹⁶⁾에 의해 조제하였다. 즉 자두분말 0.5g에 McIlvaine 완충용액(pH6.5) 40ml로 마쇄 추출하여 흡인여과하였다. 여액을 원심분리한 후 상등액에 황산암모늄을 첨가하여 80%로 포화시켜 다시 원심분리하여 얻어진 침전을 인산완충용액(pH 7.0)으로 용해 한 다음 동일 완충액으로 투석하여 조효소액으로 사용하였다.

갈변반응 생성물 및 금속이온용액의 조제

갈변반응 생성물을 조제하는데 사용된 기질로서는 polyphenol 화합물 중 pyrogallol, 3,4-dihydroxytoluene, hydroxyhydroquinone, chlorogenic acid를 $10^{-2}M$ 용액으로 조제하여 자두 효소액과 반응시켜 갈변반응 생성물을 조제하였다. 기질용액 20ml와 효소액 5ml를 가하여 35°C 에서 반응시켜 얻어진 갈변 반응액을 증유수를 수회 갈아 주면서 투석하여 투석막위에 gum arabic을 뿌려 충분히 탈수 시킨후 동결건조하였다. 동결건조된 갈변반응 생성물을 10mg/ml 의 농도로 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하여 실험에 사용하였다. 금속이온 용액은 Pb^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} 그리고 Mn^{2+} 를 5, 10, 15, 20 mM의 농도로 조제하여 실험에 사용하였다.

Rec-assay

Kada등의 방법^(17,19)에 의하여 *B. subtilis* H17(Rec⁺) 및 M45(Rec⁻) 두 균주의 포자를 조제하였으며 같은 배지를 두분 조제하여 50°C 로 냉각시켜 1/당 10ml의

H17 및 M45 포자를 각각 가하여 잘 혼합한 후 plate 내에 10ml씩 분주하였다. H17 및 M45의 한천배지를 각각 고화시킨 배지위에 직경 8mm, 두께 1.2mm의 paper disc를 올려놓고 시료용액을 60 μl 가하여 37°C 에서 20시간 배양한 후 paper disc 주위에 생성된 생육저지대의 직경을 측정하여 변이원성을 판정하였다.

DNA 절단시험

DNA 절단시험은 Thomas등⁽²⁰⁾의 방법에 의해 실시하였으며 calf thymus DNA를 25mM NaH_2PO_4 -12.5mM Na_2HPO_4 완충용액(pH6.6)에 mg/ml의 농도로 용해하여 사용하였다. 4종류의 갈변반응 생성물 자체의 DNA절단시험은 갈변액 30 μl 와 DNA 용액 30 μl 를 37°C 에서 1, 2, 3시간 반응시켜 시간별로 DNA 절단능력을 검토하였다. 한편 금속이온들이 DNA절단에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Pb^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} 의 금속이온용액을 각 농도별 20 μl 에 시료 20 μl 와 DNA용액 20 μl 를 혼합하였고 대조로는 시료대신 증유수를 사용하였다. 0.3% bromophenol blue(BPB) 용액 10 μl 와 0.7% agarose를 1.0mM EDTA, 18mM NaCl 및 0.4mg/ml의 ethidium bromide를 함유하는 Tris-acetate 완충용액(pH6.8)에 용해하여 제작한 slabgel상에 spotting하여 나타나는 각 시료의 spot 유동성을 다음과 같이 전기영동 분석하였다. 전류는 20mV, 20mA로 조정하여 20시간 전기영동을 행하였으며 중간체와 결합된 DNA-ethidium bromide 혼합물을 장과장의 자외선 조사하에 red filter를 사용하여 사진 촬영하였다.

돌연변이원성 및 돌연변이 억제작용

1. S-9 mix의 조제 ; S-9은 Dorothy⁽²¹⁾등의 방법을 수정하여 그림1과 같이 유도물질로서 phenobarbital(PB)과 5,6-benzoflavone(BF)을 투여한 흰쥐(male Sprague-Dawely)의 간을 0.15M의 미리 냉각시켜놓은 KCl용액으로 씻은 후 원심분리하여 얻어진 상등액을 S-9으로 사용하였고 S-9 mix의 조제는 Ames등⁽²²⁾의 방법에 준했다.

2. 돌연변이원성 실험 ; 효소적 갈변반응 생성물의 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium* TA98 및 TA100을 이용한 Ames등의^(22,23) 실험방법을 개량한 preincubation법을 이용하였으며 대사활성이 필요한 경우 S-9 mix를 첨가하였다. 전열살균된 시험관에 시료를 각각 0.1, 0.3, 0.6, 0.9mg/plate씩 가하고 S-9 mix를 300 μl 씩 가한다음 전체량이 700 μl 되도록 0.2M 인산완충액(pH 7.4)을 가하여 37°C 에서 20분간 진탕하

Animals: Sprague-Dawley rat (Male, 7weeks, Body weight 198.1±6.2g) Induction: Phenobarbital (PB) & 5.6-Benzoflavone (BF)

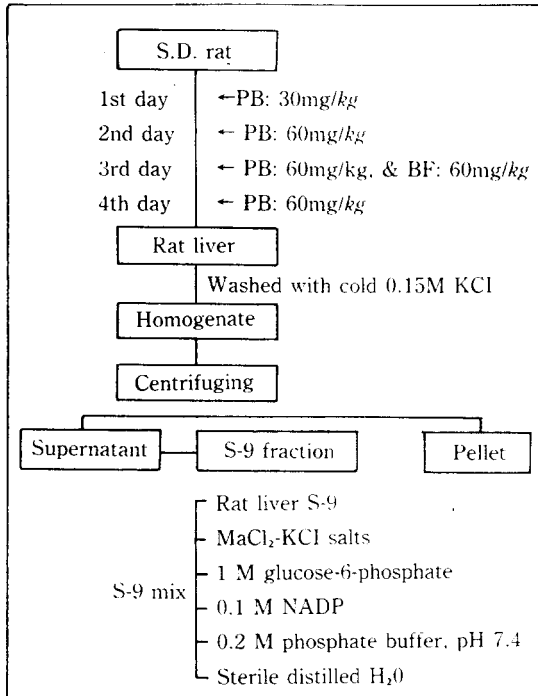


Fig. 1. Preparation of S-9 mix

면서 preincubation하였다. 여기에 이미 조제된 soft agar를 2ml씩 가하여 잘 혼합한 후 미리 만들어놓은 최소한천배지위에 일정하게 퍼서 37°C로 48시간 배양하여 생긴 his⁺ revertant colony수를 측정하였다.

돌연변이 억제작용은 발암물질인 benzo(α)pyrene을 10μg씩 시험관에 가한후 갈변반응 생성물을 0.5mg에서 2mg까지 가하고 S-9 mix를 300μl 첨가하여 Ames원법⁽²⁰⁾에 의해 실험하였으며 his⁺ revertant colony수의 감소로 나타내었다.

결과 및 고찰

Ree-assay

자두효소와 polyphenol 화합물 중 pyrogallol, 3, 4-dihydroxytoluene, hydroxyhydroquinone, chlorogenic acid를 기질로하여 반응시킨 갈변반응 생성물에 대한 포자 rec-assay를 실시한 결과는 table 1과 같이 4가지 시료 모두 갈변반응 생성물 자체로서는 *B. subtilis*의 DNA에 손상을 끼치지 않은 것으로 나타났다. 금속이온의 영향을 알아보기 위하여 Cu²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Al³⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ 그리고 Zn²⁺을 25mM

의 용액으로 조제하여 시료용액 50μl와 금속이온용액 10μl를 가하여 rec-assay를 실시한 결과 pyrogallol과 3, 4-dihydroxytoluene의 갈변반응 생성물은 Zn²⁺과 Ni²⁺의 첨가로서 DNA손상에 다소 영향을 미치는 것으로 나타났으며 hydroxyhydroquinone 갈변반응 생성물은 Mn²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺의 첨가에서, chlorogenic acid 갈변반응 생성물은 Fe³⁺, Ni²⁺의 첨가로서 DNA에 약한 손상작용을 나타내었다. 따라서 8가지 금속이온 중 Ni²⁺은 4종류의 갈변반응 생성물의 DNA손상작용에 모두 영향을 미치는 것으로 나타났다. 즉 효소적 갈변반응 생성물 자체로서는 *B. subtilis* H17과 M45 두 균주의 DNA손상에 영향을 주지 않았으며, 금속이온의 공존하에서도 갈변반응 생성물의 종류에따라 금속이온의 영향이 다르게 나타났으나 모두 약한 영향을 끼쳤다.

DNA 절단 시험

Fig.2는 갈변반응 생성물의 calf thymus DNA 절단 실험 결과로서 4종류 polyphenol 화합물의 갈변반응 생성물과 DNA를 1, 2, 3시간 반응시켜 전기영동을 실시한 것이다. Pyrogallol, hydroxyhydroquinone, 3, 4-dihydroxytoluene 그리고 chlorogenic acid의 갈변반응 생성물은 대조와 비교하였을때 모두 반응시간에 관계없이 DNA 절단능력이 없는 것으로 나타났다. 금속이온이 DNA 절단에 미치는 영향을 알아보기 위하여 rec-assay에서 사용한 8가지 금속이온을 사용하여

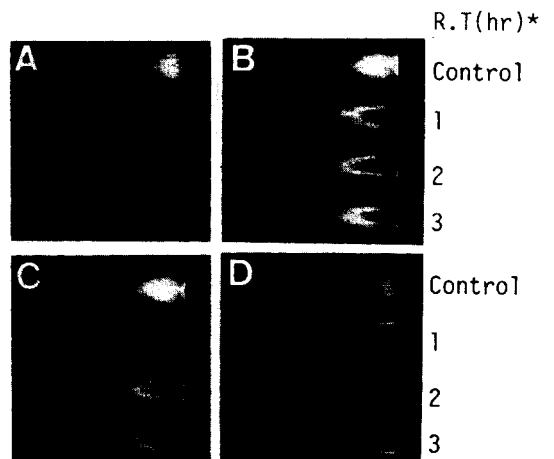


Fig. 2. Time course of the DNA-breaking action of enzymatic browning reaction products

(A) Pyrogallol BRP (B) Hydroxyhydroquinone BRP (C) 3,4-dihydroxytoluene BRP (D) Chlorogenic acid BRP * R.T.: Reaction Time

Table 1. Effects of various metal ions on the enzymatic browned substances obtained from the reaction of *Prunus salicina* (Red) enzyme and polyphenols

BRP*	Metal ion	Inhibition zone(mm)		Difference	Conclusion
		Rec ⁺	Rec ⁻		
Pyrogallol	None	0	0	0	-
	Cu ²⁺	0	0	0	-
	Fe ²⁺	0	0	0	-
	Fe ³⁺	0	0	0	-
	Pb ²⁺	0	0	0	-
	Mn ²⁺	0	0	0	-
	Zn ²⁺	0	5	5	±
	Ni ²⁺	1	4	3	±
	Al ³⁺	0	0	0	-
Hydroxyhydroquinone	None	0	0	0	-
	Cu ²⁺	0	0	0	-
	Fe ²⁺	0	0	0	-
	Fe ³⁺	0	0	0	-
	Pb ²⁺	0	0	0	-
	Mn ²⁺	0	4	4	±
	Zn ²⁺	4	8	4	±
	Ni ²⁺	2	4	2	±
	Al ³⁺	0	0	0	-
3,4-dihydroxytoluene	None	0	0	0	-
	Cu ²⁺	0	0	0	-
	Fe ²⁺	0	0	0	-
	Fe ³⁺	0	0	0	-
	Pb ²⁺	0	0	0	-
	Mn ²⁺	0	0	0	-
	Zn ²⁺	4	8	4	±
	Ni ²⁺	2	3	1	±
	Al ³⁺	0	0	0	-
Chlorogenic acid	None	0	0	0	-
	Cu ²⁺	0	0	0	-
	Fe ²⁺	0	0	0	-
	Fe ³⁺	0	2	2	±
	Pb ²⁺	0	0	0	-
	Mn ²⁺	0	0	0	-
	Zn ²⁺	0	0	0	-
	Ni ²⁺	2	3	1	±
	Al ³⁺	0	0	0	-

*BRP : Browning reaction products.

Dose of enzymatic browning reaction product is 0.5 mg/plate.

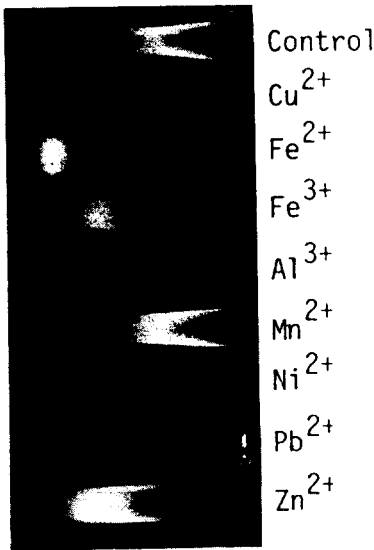


Fig. 3. Effects of various metal ions on DAN-breaking action

(A) Pyrogallol BRP
(B) Hydroxyhydroquinone BRP

DNA용액과 반응시켜 DNA절단작용을 검토한 결과 Fig.3과 같이 Cu^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} 그리고 Zn^{2+} 의 금속이온을 첨가한 경우는 DNA절단작용은 인정되지 않았으며 같은 농도의 Fe^{2+} 은 강한 DNA절단작용을 나타내었다. Fig.4와 Fig.5는 금속이온과

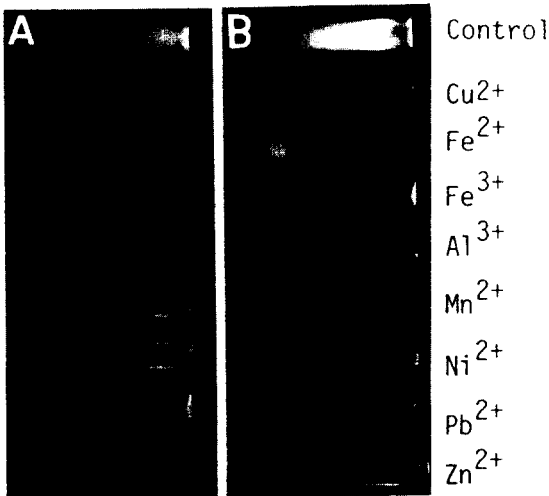


Fig. 4. Effects of various metal ions on the DNA-breaking action of enzymatic browning reaction products

(A) 3,4-dihydroxytoluene BRP
(B) Chlorogenic acid BRP

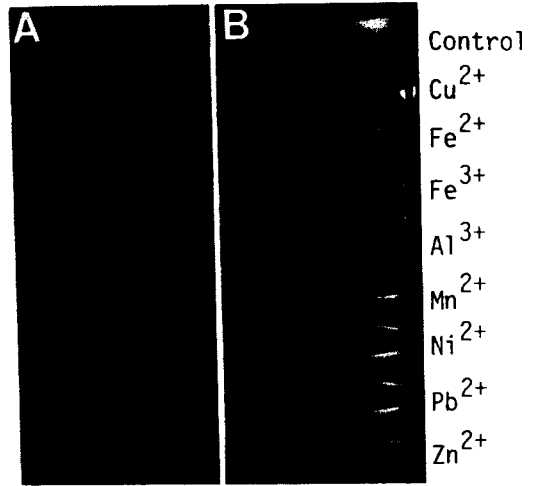


Fig. 5. Effects of various metal ions on the DNA-breaking action of enzymatic browning reaction products

(A) 3,4-dihydroxytoluene and *Prunus salicina* enzyme
(B) Chlorogenic acid and *Prunus salicina* enzyme

갈변반응 생성물을 DNA와 반응시켜 전기영동한 사진으로 3,4-dihydroxytoluene 갈변반응 생성물과 hydroxyhydroquinone 갈변반응 생성물은 8가지 금속이온의 영향을 전혀 받지않아 DNA가 절단되지 않았다. Chlorogenic acid의 갈변반응 생성물은 대조에서는 Fe^{2+} 에서 DNA가 절단되었으나 chlorogenic acid 갈변반응 생성물과 DNA용액 그리고 금속이온을 반응시켰을 경우는 Fe^{2+} 에서 절단이 일어나지 않았다. 따라서 chlorogenic acid 갈변반응 생성물은 DNA 절단을 억제하는 효과를 나타내었다. pyrogallol 갈변반응 생성물의 경우는 Cu^{2+} 에 의해 약한 DNA 절단 효과를 나타내었다. Fig.6은 Cu^{2+} 과 Fe^{2+} 을 5, 10, 15, 20mM의 농도로 DNA용액과함께 3시간 반응시켜 전기영동한 경우로서 각 농도별 Cu^{2+} 용액은 DNA를 절단하지 않았으며 Fe^{2+} 은 5mM 농도에서 약한 DNA절단작용을 나타내었으며 10, 15, 20mM에서는 DNA가 완전히 절단되는 것을 알 수 있었다. Fig.7과 Fig.8은 Cu^{2+} 과 Fe^{2+} 의 농도별로 4가지 갈변반응 생성물과 DNA용액을 반응시켜 전기영동한 사진으로서 hydroxyhydroquinone 갈변반응 생성물과 3,4-dihydroxytoluene갈변반응 생성물은 Cu^{2+} 과 Fe^{2+} 의 영향을 받지 않아 대조와 같게 나타났으며 pyrogallol갈변반응 생성물은 Fe^{2+} 의 영향을 받지 않았지만 Cu^{2+} 의 영향을 받아 Cu^{2+} 의 농도가 높아짐에따라 DNA절단을 인정 할 수 있었다. Chlorogenic acid의 갈변반응 생성물의 경우 대조에서는 Fe^{2+} 자체에 의해 DNA절단작용을 강하게 나타내었으

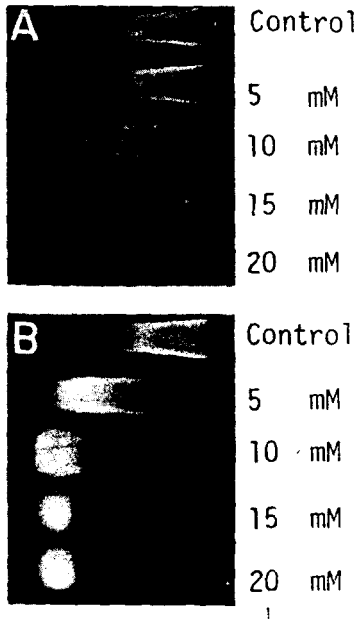


Fig. 6. Effects of concentrations of CuSO₄ and FeSO₄ on DNA-breaking action
(A) CuSO₄, (B) FeSO₄.

나 chlorogenic acid갈변반응 생성물을 가하여 반응시킨 결과 DNA절단이 억제되는 결과를 얻었다.

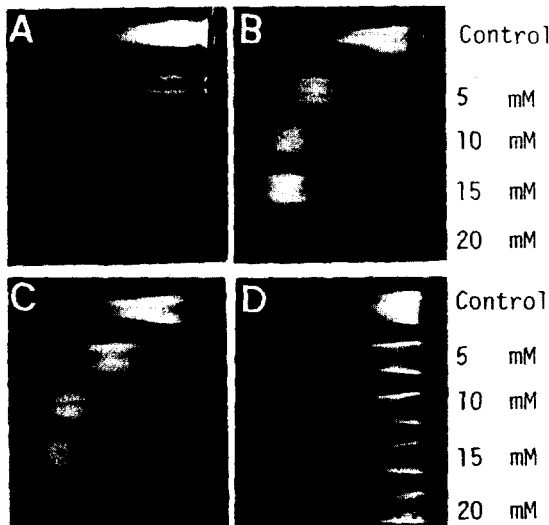


Fig. 7. Effects of CuSO₄ concentrations on the DNA-breaking action of enzymatic browning reaction products
(A) Pyrogallo BRP (B) Hydroxyhydroquinone BRP
(C) 3,4-dihydroxytoluene BRP
(D) Chlorogenic acid BRP

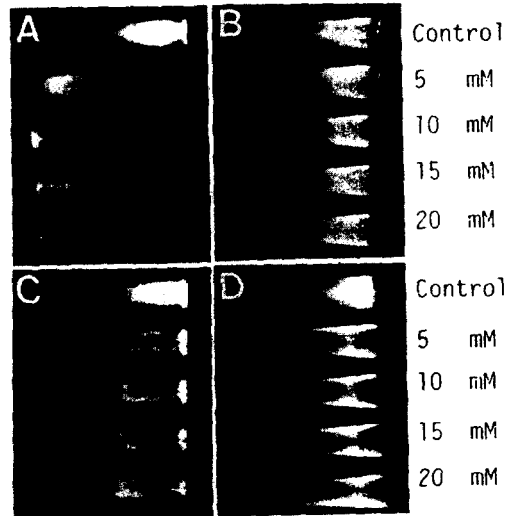


Fig. 8. Effects of FeSO₄ concentrations on the DNA-breaking action of enzymatic browning reaction products

(A) Pyrogallo BRP (B) Hydroxyhydroquinone BRP
(C) 3,4-dihydroxytoluene BRP
(D) Chlorogenic acid BRP

돌연변이원성 및 돌연변이 억제작용

Fig.9는 S-9 mix를 첨가한 *S. typhimurium* TA98에 대한 4종류 갈변반응 생성물의 돌연변이원성 실험 결과로서 시료의 농도를 각 plate당 0.1, 0.3, 0.6 그

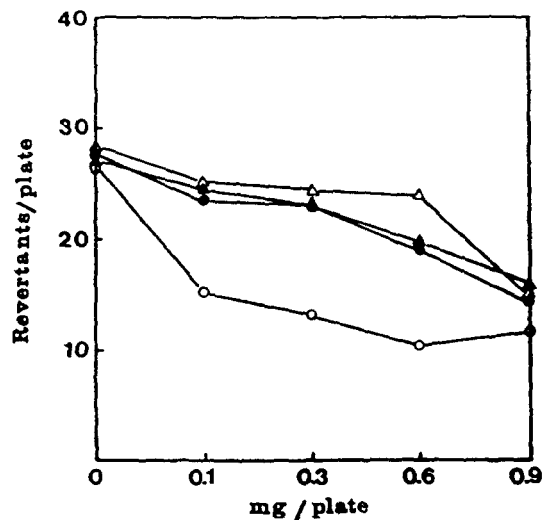


Fig. 9. Mutagenicity of the enzymatic browning reaction products on *Salmonella typhimurium* TA 98 with S-9 mix
(—●—): Pyrogallo BRP, (—○—): Hydroxyhydroquinone BRP, (—▲—): 3,4-dihydroxytoluene BRP, (—△—): Chlorogenic acid BRP.

리고 0.9mg을 첨가한 경우 변이원성은 없었으며 오히려 시료농도의 증가에 따라 his⁺ revertant colony수의 감소를 나타내므로서 변이원성이 억제되는 것으로 나타났다. Fig.10은 TA100에 대한 변이원성 결과로서 TA98과 같은 결과를 나타내었다. 즉 농도증가에 따라 변이원성의 억제효과를 나타내었다. 4종류의 효소적 갈변반응 생성물에 대한 rec-assay, DNA절단실험, 그리고 Ames test를 실시한 결과 돌연변이원성이 없는 것으로 나타났다. 따라서 효소적 갈변반응 생성물에 의한 돌연변이 억제효과를 검토하기 위하여 발암물질인 benzo(α)pyrene을 사용하여 변이원성 억제효과를 실험하였다. Fig.11과 Fig.12는 benzo(α)pyrene과 갈변반응 생성물을 각 plate당 0.5, 1, 1.5 그리고 2mg을 첨가하여 Ames test를 실시한 결과로서 *S. typhimurium* TA98과 TA100두 균주 모두 0.5mg 첨가에서 benzo(α)pyrene만을 첨가하였을 경우보다 급격히 colony의 수가 감소 되었고 농도 증가에 따라 점차 감소하는 것으로 나타났다. 자두에서 추출한 polyphenol 산화효소와 4종류의 polyphenol 화합물을 반응시켜 얻어진 갈변반응 생성물은 변이원성이 없음을 물론 변이원성 억제작용이 강한 것으로 인정되었다.

요 약

채래종 적색 자두 (*Prunus salicina*)에서 효소를 추

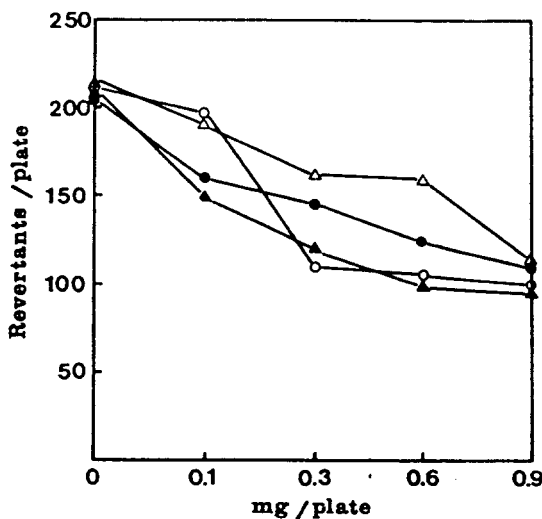


Fig. 10. Mutagenicity of the enzymatic browning reaction products on *Salmonella typhimurium* TA 100 with S-9 mix
 (—●—): Pyrogallol BRP, (—○—): Hydroxyhydroquinone BRP, (—▲—): 3,4-dihydroxytoluene BRP, (—△—): Chlorogenic acid BRP

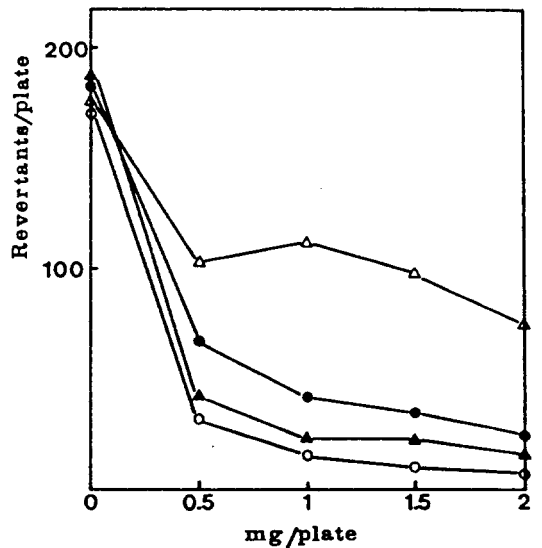


Fig. 11. Desmutagenicity of the enzymatic browning reaction products on *Salmonella typhimurium* TA 98 with S-9 mix
 (—●—): Pyrogallol BRP, (—○—): Hydroxyhydroquinone BRP, (—▲—): 3,4-dihydroxytoluene BRP, (—△—): Chlorogenic acid BRP

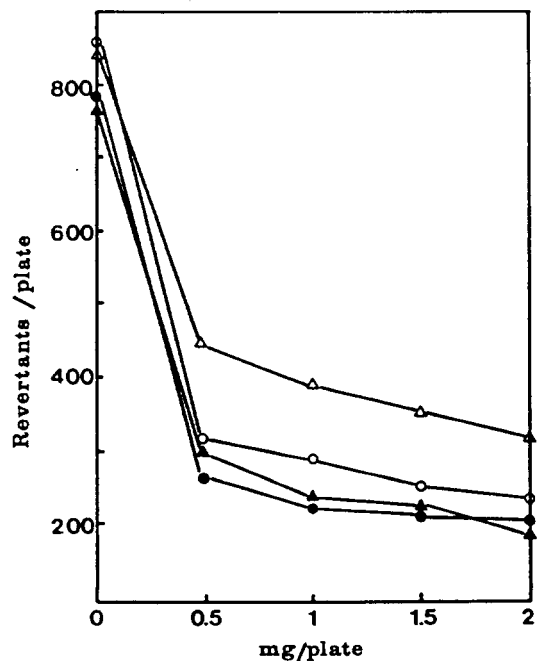


Fig. 12. Desmutagenicity of the enzymatic browning reaction products on *Salmonella typhimurium* TA 100 with S-9 mix
 (—●—): Pyrogallol BRP, (—○—): Hydroxyhydroquinone BRP, (—▲—): 3,4-dihydroxytoluene BRP, (—△—): Chlorogenic acid BRP

출하여 4종류의 polyphenol 화합물과 반응시켜 얻어진 갈변반응 생성물에 대하여 *Bacillus subtilis* H17과 M45를 이용한 rec-assay와 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 이용한 Ames test, 그리고 calfthymus DNA를 이용하는 DNA절단시험을 이용하여 돌연변이원성과 돌연변이 억제작용을 조사하였다. 포자 rec-assay에서는 pyrogallol, hydroxyhydroquinone, 3,4-dihydroxytoluene, chlorogenic acid의 갈변반응 생성물은 모두 DNA손상능력이 없었으며 8가지 금속이온 중 Zn^{2+} 과 Ni^{2+} 의 첨가로 고초균 DNA손상에 약한 영향을 나타내었다. DNA절단시험결과 4종류 갈변반응 생성물 모두 DNA절단작용이 없었으며 금속이온의 영향에 있어서는 pyrogallol 갈변반응 생성물이 Cu^{2+} 의 영향을 받아 Cu^{2+} 의 농도가 증가함에 따라 강한 절단작용을 나타내었으며 3,4-dihydroxytoluene과 hydroxyhydroquinone갈변반응 생성물은 금속이온의 영향을 전혀 받지 않았다. 또한 chlorogenic acid갈변반응 생성물은 DNA 절단을 억제하는 효과를 나타내었다. Ames test에서는 4가지 갈변반응 생성물 모두 변이원성은 없었으며 benzo(α)pyrene을 사용한 변이원성 억제작용 실험결과 benzo(α)pyrene의 활성을 강하게 억제하는 것으로 나타났다.

문 헌

- Aeshbacher, H.U. and Wurzner, H.P.: *Toxicology letters*, 5, 139 (1980)
- Nagao, M., Takahashi, Y., Fujino, T., Yamaizumi, Z. and Sugimura, T.: *Mutation Res.*, 68, 117 (1973)
- Nagao, M., Takahashi, Y., Wakabayashi, K. and Sugimura, T.: *Mutation Res.*, 88, 147 (1981)
- 長尾美奈子 : 日常食品中の 突然變異原物質, 變異原と 毒性, 4, 20 (1981)
- Kada, T., Morita, K. and Inoue, T.: *Mutation Res.*, 53, 351 (1978)
- Lai, C.N., Butler, M.N. and Matney, T.S.: *Mutation Res.*, 77, 245 (1980)
- Takahiko, S. Youki O and Hisamitsu N.: *Mutation Res.*, 167, 173 (1986)
- Tong-man Ong, Wen-zong Whong, John Stewart and Hecman E.: *Mutation Res.*, 173, 111 (1986)
- Yoshida, D., Nishigawa, H. and Matsumoto, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 43, 1969 (1979)
- Yoshida, D. and Matsumoto, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 43, 1153 (1979)
- Sugimura, T., Nagao, Mo., Kawachi, T., Yahagi, T., Seino, Y., Okamoto, T., Shudo, K., Kosuge, T., Tsuji, K., Wakabayashi, K., Iitaka, Y., and Itai, A.: *Proc. Japan Acad.*, 53, 58 (1977)
- Ham, S.S.: *Res. Bull. Kangweon Natl. Univ., Korea*, 17, 57 (1982)
- Ham, S.S., Lee, D.S.: *Res. Bull. Kangweon Natl. Univ., Korea*, 19, 43 (1984)
- Kim, S.B.: *Food Sci.*, 19, 3 (1986)
- 大村浩久・尊田民喜 : 營養と食糧, 23, 367 (1970)
- 大村浩久・尊田民喜 : 營養と食糧, 22, 497 (1969)
- Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y.: *Mutation Res.*, 16, 165 (1972)
- Kada, T., Hirano, K. and Shirasu, Y.: *Chemical mutagens*, 6, N.Y., plenum press, (1980)
- Kada, T., Hirano, K., Hagiwara, T., Chta, Y. and Matsumoto, T.: *Mutation Res.*, 97, 339 (1982)
- Thomas, M. and Davis, R.: *J. Mol. Biol.*, 91, 315 (1975)
- Dorothy, M.M., Ames, B.N.: *Mutation Res.* 113, 173 (1983)
- Ames, B.N., McCann, J. and Yamazaki, E.: *Mutation Res.*, 31, 347 (1975)
- Ames, B.N., Marow, D.M.: *Mutation Res.*, 113, 123 (1983)

(1987년 1월 17일 접수)