

식품성분과 항돌연변이 활성-*in vitro* 시험계에서 현미의 돌연변이 억제 활성 및 작용 특성

김 인 호, 전 향 숙

쌀이용연구센터

1. 머리말

사회와 생활방식의 변화는 식품 소비개념에도 영향을 미쳐 종래의 영양이나 맛과 관련된 식품의 1, 2차 기능에 대한 관심보다는 건강 지향적 식생활 추세와 고령인구의 증가로 생체조절의 3차 기능이 강조되고 있다. 특정 질병의 치료를 목적으로 단기 투여하는 의약품과 비교할 때 식품은 반복해서 섭취하므로 유효화합물이 체내에 미량 도입되거나 활성이 높지 않아도 생체방어 및 조절기능을 발휘하게 된다. 이러한 기능성 인자를 탐색하여 식품에 적용하기 위해서는 1차에서 3차에 이르는 식품기능의 해석을 통하여 목적 성분을 분리, 농축하고 변이원성의 방제 등 안전성 검증과 소재의 적합성을 바탕으로 기능성 식품의 설계 및 종합적 평가가 이루어져야한다.¹⁾ 일본의 경우 1984년부터 신체 건강기능에 이로운 일상식의 개발이라는 의미로 기능성 식품(functional food), 특정보건용 식품이라는 용어와 함께 물질분리, 구조결정, 생리활성 확인 등 세부 전문분야 별로 연구가 진행되어 왔으며²⁾, 미국은 이상적인 항암 활성을 갖는 천연물의 구성을 목적으로 시작된 designer food, phytofood 개발 program 및 활성성분을 분리하여 식품에 용

용하는 방식의 의약과 접목된 nutraceuticals, pharma foods 개발 program³⁾을 통하여 체계적이고 장기적인 시도를 하고있다. 건강 식품 개발을 위한 질병의 대상도 자국민의 성인병 유발 경향을 중심으로 소화흡수계, 순환계, 생체방어 면역계, 내분비계, 세포분화 증식계, 신경계, 대사계에 이르기까지 광범위하다. 우리나라의 경우 병인별 사망원인의 변화추이는 인위적으로 통제가 가능한 전염병, 기생충성, 소화기 및 호흡계 질환에 의한 사망은 점차 감소하고, 식원병으로 분류되는 순환기계 질환과 신생물(neoplasm)에 의한 사망이 급격히 증가하고 있으며 특히 악성 신생물인 암에 의한 사망빈도가 가장 높아서⁴⁾ 항암관련 돌연변이 억제, 항산화 및 노화억제 등의 생리활성 인자를 식품으로부터 검색하는 연구가 활발히 전개되고 있다.

암의 발생 메커니즘은 정확하게 밝혀지지 않고 있으나, initiation, promotion, progression의 세 단계를 거쳐 발생하는 것으로 알려져 있으며, 발암의 initiation은 전자 친화성 발암 인자(initiator)가 생체내에서 대사적으로 활성화되어 유전자의 핵산에 비가역적으로 결합하여 정상세포의 DNA 염기 배열 순서를 변화시켜 신생물 전구세포(prene-

oplastic cell)를 형성하는 돌연변이 현상으로 설명된다. 촉진인자(promoter)는 발암인자와 독립적으로 세포막의 receptor를 매개로 유전정보의 발현 및 분화에 가역적으로 관여하여 전구세포를 신생물 세포(neoplastic cell)로 전환시키며 증식하는 과정에서 양성과 악성이 결정되고 종양(tumor)이 암(cancer)으로 변화되는 전이를 거친 후 전파되는데, 발암 환경중 30% 이상을 제공하는 식품이⁵⁾ 관여하는 단계는 initiation과 promotion이다. 그 가운데서도 식품은 생명 유지와 더불어 지속적으로 섭취되므로 잠재적 종양세포의 전이나 전파의 촉진을 억제하는 의약품과는 달리 initiation 단계부터 영향을 미친다. Initiation 단계인 돌연변이는 발암과 83% 이상의 높은 상관성⁶⁾을 나타내므로 변이원은 발암원으로 인식되고 있어 식품의 돌연변이 억제 현상을 구명하는 것은 항암 해석의 기초가 된다.

2. 항돌연변이원성 검색을 위한 시험계와 식품유래 돌연변이원

항돌연변이원성 시험은 돌연변이 유발능의 억제 정도로서 평가되므로 돌연변이원성 시험계가 기초가 된다. 돌연변이원성의 시험은 세균의 유전자 및 포유동물 세포의 염색체를 이용하는 시험관내 시험법(*in vitro* assay system)과 설치류를 활용한 소핵시험, 우성치사법, 초파리를 대상으로한 반성열성 치사법 및 포유동물 골수세포의 유전학적 시험 등 생체 시험법(*in vivo* assay system)으로 분류되며, 나라마다 화학물질, 식품 첨가물 및 의약품에 대하여 기본항목과, 그 시험결과 양성으로 의심될 경우 시행하는 추가시험으로 나누어 변이원성 판정의 기준으로 삼고있다. 우리나라(보사부)와 유럽(OECD)은 기본항목으로 시험관내 시험법을, 추가항목으로 생체 시험법을 채택하고 있으며, 일본(후생성)과 미국(FDA)은 기본항목으로 시험관내 시험법 외에도 소핵시험, *in vivo* DNA 부정기합성 등의 생체시험 항목을, 추가항목으로는 소핵

시험 등 생체시험을 재시행하거나 포유동물세포 형질변환 등의 시험을 요구하고 있다. 독성시험이나 생리활성 물질 검색시는 신속성과 간편성을 지닌 미생물의 유전자 돌연변이를 이용한 *Salmonella typhimurium* reversion assay⁷⁾, SOS chromotest⁸⁾, spore rec-assay⁹⁾와 포유동물 배양세포의 염색체 이상을 관찰하는 chromosome aberration test 등¹⁰⁾의 시험관내 시험법이 기본항목으로 광범위하게 사용되고 있다.

항돌연변이원성 시험에 사용하는 변이원은 크게 둘로 나누어 간접변이원(indirect mutagen)과 직접변이원(direct mutagen)으로 구분되는데, 간접변이원은 인체내에서 변이원성의 발현시 cytochrome P450 효소에 의하여 변이원성을 나타내는 돌연변이원이며 직접변이원은 효소에 의한 대사적 활성 없이도 변이원성을 나타내는 돌연변이원으로서 식품의 안전성 확보 차원에서 직접 및 간접 돌연변이 유발원을 식품으로부터 검출하는 연구가 진행되어 왔다. 그 결과 직접변이원으로 육제품의 가공 및 훈연처리시 생성되는 nitrosamine 등이, 간접변이원으로는 곰팡이독 가운데 aflatoxin B₁, 식품의 가열처리시 생성되는 Trp-p-1 (3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole), Glu-p-1 (2-amino-6-methyldipyrido [1,2- 3',2'-d]imidazole) 등의 amino acid pyrolysate와 carbo-line류, IQ(2-Amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline), MeIQ(2-Amino-3,4-dimethyl-imidazo-[4,5-f]quino-line) 등의 quinoline류 및 B[a]P(benzo[a] pyrene) 등이 식품에서 유래한 대표적인 변이원들인 것으로 검색되었다.¹¹⁾ 미국의 경우 하루 식사에서 변이원성을 나타내지 않을 경우의 40-100 revertants와 비교하여 약 22,500 revertants의 변이원을 섭취하고 있다는 보고¹²⁾가 있으며, 간편화, 서구화 추세에 있는 우리의 식생활에서도 환경오염 및 가공식품의 영향으로 자연식의 비율이 높았던 우리의 전통식과 비교하여 변이원의 섭취는 증가할 것으로 보여 식품유래 변이원의 억제를 함께 섭취하는 식품으로부터 검색하는

연구가 필요하다.

3. 식품유래 항돌연변이원성 물질

돌연변이 억제물질은 작용 방식에 따라 세포내 항돌연변이원성 물질(bio-antimutagen)과 세포외 항돌연변이원성 물질(desmutagen)로 구분되는데, 전자는 변이원이 DNA에 도달하는 것을 억제하거나 이미 DNA에 손상이 일어난 경우 세포의 DNA 수복 및 복제과정을 촉진하여 변이의 발생빈도를 낮춰주는 역할을 하는 물질들로서 polyphenol류 등의 항산화 성분과 산화환원효소 등이 이에 속한다. 후자는 변이원이 DNA에 장해를 일으키기 전에 세포외에서 변이원 자체를 불활성화시키거나 변이원의 세포내 흡수를 억제하는 작용 및 전구물질이 변이원성 물질로 전환되는 과정을 억제하는 물질들로서 환원력이 있는 항산화제, peroxidase 등의 효소와 식이섬유 등 생체 고분자 물질 등이 포함된다.¹³⁾ 식품에서 조사된 bio-antimutagen의 예로는 녹차에서 분리된 epigallo-catechin-gallate (EGCg)의 DNA polymerase III 역가 변화¹⁴⁾가 대표적이며, desmutagen의 경우는 양배추의 peroxidase에 의한 tryptophan pyrolysate의 불활성화¹⁵⁾와 과일, 채소류의 식이섬유에 의한 변이원의 흡수¹⁶⁾를 예로 들 수 있다. 항돌연변이원성 탐색시 이러한 돌연변이 억제물질의 작용 메커니즘을 고려함으로써 암의 예방적 해석에 기여할 수 있을 것으로 기대되며 식품성분이나 천연물 가운데 이와 같은 메커니즘을 바탕으로 항변이원성을 나타내는 물질은 Table 1과 같다.

해조류는 수용성 획분에서 변이원 tryptophane pyrolysate에 대하여 항변이원성이 나타났으며¹⁷⁾ 과채류에서는 polyphenol류, 식이섬유, 효소류(heme protein, peroxidase, NADPH oxidase 등) 및 지방산 등의 성분이 amino acid pyrolysate, aflatoxin B₁, benzopyrene, nitosamine 등 식

품유래 변이원에 대하여 억제활성이 조사^{18, 19)}되었다. 버섯류와 차에서도 tannic acid, chlorogenic acid 등의 phenolic acid와 유기용매 추출물에서 항변이원성을 나타내었고 amino acid, 단백질, vitamin, carotenoid, 지방산 및 항산화제 등 첨가물에서도 화학적 변이원과 식품 유래 변이원에 대한 항변이 활성이 보고²⁰⁾되었다. 또한 Maillard reaction product에서도 물질의 항산화성으로 인하여 항변이원성이 조사²¹⁾되었으나 이는 반응하는 당과 amino acid의 종류에 따라 다르며 고온 처리중에 형성된 중합체의 경우 변이원성을 나타낸다는 보고²²⁾도 있어 보다 구체적인 연구가 요구된다. 주식 성격의 두류, 곡류에 대하여는 항암 활성에 관한 보고²³⁾는 있으나 항변이원성 인자 등에 대한 보다 구체적인 연구는 미약하며 그 가운데서도 쌀은 식량 자원으로서의 중요성이 강조되어 다수확 및 식미제고를 위한 품종 개발과 가공적 측면에 관하여만 관심이 집중되어 왔다. 영양적으로도 탄수화물의 급원료로만 인식되어 왔을뿐 항변이원성 등 생리적 기능에 관한 연구는 활발하지 못하였다. 현미와 미강의 항암 효과²⁴⁾가 미국 NCI(National Cancer Institute)의 designer food program에서 확인되기는 하였으나 억제원인, 작용성분 등 구체적인 보고는 없으며, 항변이원성에 대해서도 곡류를 조리하였을 때 쌀의 용매 추출물에서 변이원성이 발견되지 않았다는 결과와 미강 용매추출물의 변이원성 억제²⁵⁾ 등의 단편적인 보고만 있을 뿐 억제물질의 분리와 작용방식 등 구체적인 연구는 수행되지 않았다. 따라서 비활성(specific activity) 및 함량이 높지 않다고 가정하더라도 일상적으로 지속적인 섭취를 하므로 생리적으로 기능을 발휘할 것으로 기대되고 주식으로서도 중요하다고 고려되어 필자 등은 쌀의 돌연변이 억제 활성을 여러가지 시험법으로 확인하고 활성성분의 안정성, 작용방식 및 구성성분 등을 조사하였는바 그 결과를 소개하고자 한다.

Table 1. Inhibitory effect of food components on chemically-induced mutagenesis

Source	Compounds	Mutagen
Aquatic plants		
Marine algae	water insoluble fractions	tryptophan pyrolyzate
Fruits		
Apple	polymerized-polyphenol	amino acid-pyrolyzate
Fungus		
Mushrooms	ethanol extracts	AFB ₁ ^{a)} , B[α] ^{b)}
Plant leaves		
Perilla leaf	methanol	Trp-p-2 AFB ₁ , B[α]P
Persimmon-leaves	hexane fractions (1'-oxacannabinol etc.)	MNNG ^{c)} AFB ₁
Tea	phenolic compounds (tannic acid, chlorogenic acid)	nitrosamine
Vegetables		
Broccoli	heme-protein	tryptophan-pyrolyzate
Burdock	fiber lignin-like compound	amino acid-pyrolyzate amino acid-pyrolyzate
Cabbage	heme-protein (peroxidase, NADPH oxidase) fiber	tryptophan-pyrolyzate
Carrot	acetone extract	B[α]P, 2-AF ^{d)}
Cinnamon	cinnamaldehyde	UV-mutation
Garlic	methyl linoleate	AFB ₁ , MNNG
Onion	acetone extract	B[α]P, 2-AF
Raddish	phenolic compounds fiber	nitrite amino acid-pyrolyzate
Ranunculus	protoanemonin ranunculn	UV-mutation MMC ^{e)}
Vitamin		
Ascorbate(C)		NO ^{f)} MNNG, DMN ^{g)}

Source	Compounds	Mutagen
	Cobalamine(B ₁₂)	MNNG,
	Pyridoxine(B ₆)	DMN ^{h)}
	Riboflavin(B ₂)	AFB ₁
	Thiamine(B ₁)	
	Retinol (A)	amino acid-pyrolyzate
	Tocopherol(E)	amino acid-pyrolyzate
Micellaneous		
Amino acid	most amino acid (Pro, Cys, Trp)	diazo-quinone
Protein	BSA, trp-casein	B[α]P
Additives	coconut meat coconut milk coconut water flavor enhancer free glutamate inosine monophosphate	DMN
Carotenoid		DMAB ⁱ⁾
Lipid	arachidonic acid eicosapentaenoic acid docosahexaenoic acid	IQ ^{j)}
Maillard rxn. product	xylose and lysine	MNNG, quinoline, imidazole
Metal (Se)		DMAB
Soy milk	water and methanol extract	MNNG
Synthetic antioxidants	BHA, BHT, PG	IQ, MeIQ ^{k)} MeIQX ^{k)}

- a) Aflatoxin B₁
- b) Benzo[α] pyrene
- c) N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
- d) 2-Acetylfluorene
- e) Mitomycin C
- f) Nitric oxide
- g) Dimethylnitrosamine
- h) 3,2' -Dimethyl-4-aminobiphenyl
- i) 2-Amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline
- j) 2-Amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoxaline
- k) 2-Amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoxaline

4. 쌀의 돌연변이 억제효과

돌연변이 억제활성을 조사하기에 앞서 변이원성을 검색하였을 경우 배아, 배유, 미강을 모두 포함하는 현미 추출물에서 변이원성이 발견되지 않았다. 극성별 용매추출물의 항돌연변이 활성은 직접 변이원 보다는 Trp-p-1, Trp-p-2, aflatoxin B₁ 등 식품에서 유래한 간접변이원에 대하여 억제활성이 높았으며 hexane, chloroform, 물 추출물의 억제활성 62%, 76% 및 91%와 비교하여 methanol 추출물에서 억제활성 91%로 가장 높았다. 품종별로 시험한 억제활성은 직접변이원에 대하여 일품, 진미에서 억제활성이 높았으나 간접변이원에 대하여는 유의적인 차이가 없었다. 활성이 가장 높았던 현미 methanol 추출물은 시험방법별로 활성강도의 차이는 있으나 공인 시험법인 *Salmonella typhimurium* reversion assay(Fig. 1, Fig. 2)와 예도 일반적으로 사용되는 미생물계 시험법인 SOS chromotest(Fig. 2), spore recassay(Table 1)와 포유동물 배양세포의 염색체 이상을 관찰하는 chromosome aberration test(Table 2) 등의

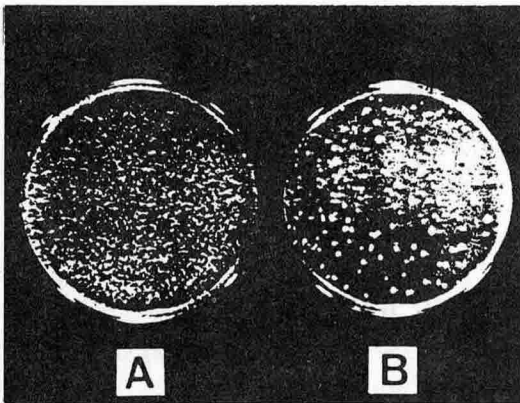


Fig.1 Photograph showing inhibitory effect of the methanol extract of brown rice on indirect mutagenesis of Trp-p-1 in the *S. typhimurium*(TA 98) reversion assay.

A : Positive control(Trp-p-1)
 B : Mutagen + methanol extract

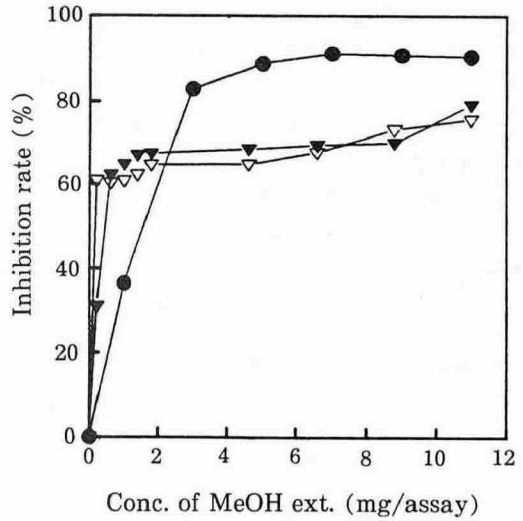


Fig. 2 Dose response relationship of the methanol extract of brown rice in chemically induced mutagenesis.

●, *S. typhimurium* reversion assay(Trp-p-1);
 ▽, SOS chromotest(AFB₁);
 ▼, SOS chromotest(Trp-p-2)

시험관내 시험법 모두에서 여러종류의 직접 및 간접 변이원에 대하여 항돌연변이 활성이 확인되었다. 또한 쌀 추출물은 산, 알칼리 및 열 안정성이 있고 떡, 미숫가루 등의 가공처리에도 활성이 저하되지 않아 체내 활성의 가능성을 간접 추론 할 수 있었다. 현미 추출물은 세포내 억제(bio-antimutagenicity) 및 세포외 억제(desmutagenicity) 특성을 모두 나타내었으며 추출물을 분리하여 구성성분을 조사하였을 경우 o-hydroxy benzyl alcohol(saligenin), octanoic acid(caprylic acid), 9, 12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid), 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid), hexadecanoic acid(palmitic acid), 1H-indole-2-carboxylic acid, 및 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate)가 주요 구성성분인 것으로 분석되어 지질과 phenol성 화합물이 역할을 하는 것으로 확인되었다. 지질은 주로 oleic acid, linoleic acid 등이 P450 효소의 작용을 억제함으로써 변이원성을

Table 2. Inhibitory effect of the methanol extract of brown rice on the mutagenesis of aflatoxin B₁ and mitomycin C by spore re- assay

	Inhibition zone(mm)		Difference
	H17	M45	
AFB ₁ ¹⁾	3	18	15
AFB ₁ + Methanol extract	4	15	11
MMC ²⁾	4	23	19
MMC + Methanol extract	5	21	16

¹⁾ AFB₁(1μg/plate) and MMC(10ng/plate) with metabolic activation were used as positive controls.

유발하는 N-OH-Trp-p-2의 형성을 억제하거나 지질 과산화물이 N-OH-Trp-p-2와 반응하여 aryl hydroxyamine과 지질의 복합체를 형성하는 작용에 의하여²⁶⁾, 페놀 화합물의 경우는 항산화 작용으로 산화에 의한 변이원의 대사적 활성을 억제하는 작용에 의하여 독성을 감소시키는 것으로 알려져 있어 쌀에 존재하는 항변이원성 물질도 이와 같은 역할에 의하여 활성을 나타내는 것으로 추측된다. 다양한 식품성분을 대상으로 항돌연변이 활성의 검색이 시도되어 왔지만 활성의 가능성이 나타난 시료를 대상으로 적합한 시험방법의 적용, 변이원의 선택, 시험방법간의 비교를 통한 명확한 결과의 판정 및 억제 기전과 물질의 분리 동정이 계속되어야 할 것이다.

Table 3. Effect of the methanol extract of brown rice on the chromosome aberration of mitomycin C¹⁾

Test materials	Frequencies of aberrant cells(No.)							Normal cells (No.)	Total cells (No.)
	Chromatid			Chromosome					
	gap	brk. ²⁾	exch. ³⁾	gap	brk. ²⁾	exch. ³⁾			
negative control (DMSO)	2						98	100	
positive control (MMC)	27	6	18	5	3	1	40	100	
MMC+ methanol extract									
0.15g/assay	22	4	15		4	0	50	100	
0.25g/assay	27	2	16	5	3	1	44	100	
0.50g/assay	19	3	14	6	2	0	58	100	
1.00g/assay	28	2	14	5	2	0	49	100	
2.00g/assay	22	2	11	4	2	0	59	100	

¹⁾ MMC(25μg/assay) were used as positive control.

²⁾ brk.,; breakage

³⁾ exch.,; exchange

5. 금후의 과제

돌연변이억제는 궁극적으로 항암 활성의 구명을 위한 기초단계이므로 발암의 initiation뿐만 아니라 잠재적 종양세포를 암세포로 전환시키는 promotion에 대한 억제효과를 EBV(Epstein barr virus) 활성화 시험법 등으로 분석하고 이미 형성된 암세포에 대한 쌀 추출물의 억제효과도 조사하여 억제 메커니즘의 유기적인 해석과 이해가 수행되어야 한다. 나아가 항종양 효소계를 생산하는 세포(phase II cell) 등 새로 개발된 *in vitro* 시험법으로 항변이, 항암활성 물질을 보다 정확히 판정하고 동물 및 임상실험 등 *in vivo* system을 통하여 체내에서의 활성을 확인하여야 한다. 또한 항암 활성 물질을 분리 정제하고 식품에의 응용을 모색하며 효과를 높이기 위한 식품의 영향 등에 대하여도 지속적인 연구를 진행하여 항암활성을 갖는 이상적인 식품의 구성을 실험적 근거를 바탕으로 구체적으로 제시하고 단기적 치료를 목적으로 하는 의약품과 비교하여 일상적이며 장기적으로 섭취하는 식품의 (항)변이원성 및 항암에 대한 지속적인 연구가 있어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 千葉英雄, 荒井綜一.: 機能性食品. 化學と生物., 6(1);34 (1988)
- 露木英男.: 食品の本質と機能を与える. *New Food Industry.*, 36(7);31 (1991)
- Haumman, B., F.: Designing manipulating foods to promote health. *Inform.* 4(4);344 (1993)
- 통계청 : 94년 사망원인 통계; (1995)
- Hathcock, J. N.: *Mutagens in cooked foods, Nutritional toxicology*, Vol.II, 157-165. Academic Press, Inc., Orlando (1987)
- Ames, B. N., Kammen, H. O. and Yamasaki, E.: Hair dyes are mutagenic. In identification of variety of mutagenic ingredients. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 72(6); 2423 (1975)
- Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detection carcinogens and mutagens with *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mut. Res.* 31; 347 (1975)
- Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R. and Hofnung, M.: SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Acad. Sci.*, 79;59 (1982)
- Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y.: *In vitro* and host-mediated rec assay procedures for screening chemical mutagens, and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mut. Res.*, 16;165 (1972)
- Wolff, S. Sister: chromatid exchange. *Ann. Rev. Genet.*, 11;183 (1977)
- Pariza M. W. Mutagens in heated foods. *Food Technol.*, 36;53 (1982)
- Hatch, F. T. and Felton, J. S.: Toxicologic strategy for mutagens formed in foods during cooking. status and needs. Genetic Toxicology of the Diet. Proceedings of a Satellite Symposium of the Fourth International Conference on Environmental Mutagens, Knudsen, I.(Ed.), 109-131, New York (1985)
- Kata, T., Inoue, T. and Shirasu, Y.: Antimutagens and their modes of action. Shankel, D. H. et al.(Eds.), 181-196, *Plenum.*, New York (1986)
- Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki S., Matsuzaki, T. and Hara, Y.: Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens, a case of green tea factor.

- Mut. Res.*, 150;127 (1985)
15. Inoue, T., Morita, K. and Kada, T. : Purification and properties of plant desmutagenic factor for the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Agric. Biol. Chem.* 45;345 (1981)
 16. Kada, T., Kato, M., Aikawa, K. and Kiriyaama S. : Adsorption of pyrolysate mutagens by vegetable fibres. *Mut. Res.*, 141;149 (1984)
 17. Ohkawa, I. and Suzuki, T. : Antimutagenic effects of various marine algae used as foodstuffs in Japan. *J. Food Hyg. Soc. Japan.*, 34(2);120 (1993)
 18. Shinohara, K., Kuroki, S., and Miwa, M. : Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.*, 52 (6);1369 (1988)
 19. Morita, K., Nishijima, Y. and Kata, T. : Chemical nature of a desmutagenic factor from Burdock. *Agric. Biol. Chem.*, 49(4); 925 (1985)
 20. Gruter, A., Friederich, U. and Wurgler, F. E. : Antimutagenic effects of mushrooms. *Mut. Res.*, 231;243 (1990)
 21. Kim, S. B., Hayase, F. and Kato, H. : Desmutagenic effects of melanoidines against amino acid and protein pyrolyzates, amino-carbonyl reaction in food and biological systems-Proceedings of the 3rd International Symposium on the Maillard Reaction., 383-391, Kodensha (1986)
 22. Shane, B., Troxdair, A., Mcmillin, D. and Henry, C. : Comparative mutagenicity of nine brands of coffee to *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 102 and TA 104. *Environ. Mol. Mutagen.* 11(2);195 (1988)
 23. Serchell, K. : Soybean Isoflavones. Metabolism and Physiology. In First International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease, Clinical Mass Spectrometry. Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH. (1994)
 24. Duxbury, D. : Fiber, form follows function, *Food Processing.*, 54(3);44 (1993)
 25. Suwa, Y., Kobayashi, T., Kiyota, N. and Yoshizumi, H. : Antimutagenic agent and method of inactivating the mutagenicity of food and beverages by using said agent. European Patent Application., EP0124891A2. (1984)
 26. deWaziers, I. and Decloitre, F. : Effect of glutathione and uridine-5'-diphospho-glucuronic acid on the mutagenicity of tryptophan pyrolysis products(Trp-p-1 and Trp-p-2) by rat-liver and intestine S₉ fraction. *Mut. Res.*, 139(1);15 (1984)