Kor. J. Food Hygiene 7 (4), 161-168 (1992)

Trp-P-1과 2-AF에 대한 산채류 생즙의 항돌연변이 효과

한규석 · 함승시* · 정의호 · 이해금
강원도 보건환경연구원 *강원대학교 식품공학과

Antimutagenic Effects of the Edible Mountain Herb Juices Against Trp-P-1 and 2-AF

Kyu-Seok Han, Seung-Shi Ham*, Eui-Ho Jeong and Hae-Keum Lee
Institute of Health and Environment, Kangweon-Do
**Department of Food Science and Technology, Kangweon National University*

ABSTRACT—On the mutagenicity induced by 3-amino-1,4-dimethyl-5-H-pyrido[4,3-b]indol (Trp-P-1) and 2-aminofluorene (2-AF), the antimutagenic effects of edible muntain herb juices were examined by the Ames assay using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. Juices prepared from aralia bud, small water dropwort, mugwort, roots of bellflower and sedum didn't have mutagenicity. Most of sample juices showed the antimutagenicity. Especially, juices prepared from aralia bud, small water dropwort and mugwort were found to possess strong antimutagenic effects. Sedum was moderatly effective and root of bellflower had little effect on mutagenicity caused by Trp-P-1 and 2-AF. The experimental results with TA98 were similar to those with TA100 in the antimutagenicity test of edible mountain herb juices. In this study, antimutagenicity on Trp-P-1 was more effective than that on 2-AF.

Keywords□edible mountain herb juices, mutagenicity, antimutagenic effect, Ames test

사람 암의 90% 이상은 물리적 환경 혹은 화학물질에 노출됨으로서 발생되며 이러한 요인의 40~60%는 식이와 관련된다고 보고있다.[4]

이와 관련하여 최근 식이와 관련된 암의 원인물질을 검색하는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 뿐만 아니라 우리가 일상 섭취하는 식품 중에서 식물성분을 중심으로 항돌연변이 물질을 탐구하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다. Kada 등[9]은 야채성분 중에 tryptophan 가열 분해 생성물과 같은 돌연변이 물질의 활성을 억제하는 효과가 있다고 보고하였으며, Lai 등[10]은 야채 추출물이 benzo(α) pyrene의 활성을 저해시킨다고 보고하였다. Ong 등[15]은 불에 탄 음식과 담배 등에 함유되어 있는 변이원물질에 대해 chlorophyllin이 강한 억제 작용을 나타낸다고 보고하였으며 Sakai 등[16]은 중국 한방약으로 사용되는 약용 식물들이 benzo(α)pyrene의 돌연변이원성을 감소시킨다고 보고하였다.

Ames[1]는 vitamin E, β-carotene, selenium, glutathione, ascorbic acid 등이 돌연변이 유발물질의 활성을 억제한다고 보고하였으며, 이[11]는 쑴바귀를 비롯한 11가지 산채생즙이 강한 항돌연변이원성이 있다고 보고하였다.

본 실험에서는 우리나라 전역에 자생하고 있는 산채류 중 국내에서는 아직 연구되지 않은 일부 산채류의 생즙을 시료로 하여 발암물질인 Trp-P-1과 2-aminofluorene에 의해 유발된 변이원성의 억제 효과를 검토하였다.

Received for publication 18 October, 1992
Reprint request: Dr. K.S. Han at the above address

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 산채는 돌나물(sedum), 두릅(aralia bud), 들미나리(small water dropwort), 도라지(root of bellflower), 쑥(mugwort)이며 강원도 산지에서 구입하여 사용하였다. 발암물질인 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)은 Wako사 제품을, 2-Aminofluorene은 Sigma사 제품을 구입하여 각각 DMSO에 녹여 실험에 사용하였으며, Rat river S9은 Maron 등[12]의 방법에 따라 조제하여 사용하였다.

사용균주인 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA 100은 일본 국립위생시험소로부터 분양받아 실험에 사용하였다.

산채류 생즙의 조제

강원도 산지에서 구입한 산채를 불순물을 제거하고 잘게 절단한 다음 가정용 녹즙기로 얻어진 추출물을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 그 상징액을 여지로 여과하고 다시 10,000 rpm에서 30분간 원심분리한 다음 그 상징액을 Nalgene Filterware(pore size : 0.20 μm)로 여과한 여액을 시료로 사용하였다.

Mutagenicity test

산채류 생즙의 변이원성을 확인하기 위하여 *Salmonella Typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 이용하였으며 Ames test의 원법을 개량한 preincubation법[13,18,19]을 적용하였다. 미리 건열 멸균된 glass cap tube에 시료를 각각 50, 100, 200, 300 μl씩 가하고 여기에 TA culture 배지에서 하룻밤 배양시킨 균 배양액 100 μl와 대사 활성물질인 S-9 mix 250 μl를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 총 700 μl가 되도록 하였다. 이것을 37℃에서 20분간 진탕 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45℃)를 2 ml씩 가하여 잘 혼합한 후 minimal glucose agar plate에 도말하고 37℃에서 48시간 배양한 후 his^+ revertant colony를 계측하여 돌연변이원성 유무를 판정하였다.

Antimutagenicity test

시료의 농도와 방법은 위와 같으며 mutagen의 농도는 plate당 Trp-P-1의 경우 TA98에 0.5 μg, TA 100에 5 μg을 첨가하였고 2-AF는 TA98과 TA100 두 균주에 모두 10 μg씩 첨가하였다. 실험에 사용된 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험을 통하여 시료의 돌연변이 억제효과를 측정하기에 적절한 농도로 결정하였다.

동일시료 동일농도에 대하여 3개의 plate를 사용하였으며 측정된 colony수의 평균값을 취하여 시료의 항돌연변이 효과를 검토하였다.

항돌연변이 효과는 발암물질의 활성에 대한 시료의 억제율(ihibition, %)로 나타내었으며, 다음식으로 산출하였다

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{M - S_1}{M - S_0} \times 100$$

M : 돌연변이원만 존재할 경우의 복귀돌연변이균수

S_0 : 자연복귀돌연변이균수

S_1 : 산채즙을 첨가하였을 때의 복귀돌연변이균수

결과 및 고찰

본 실험에 사용한 산채류의 즙에 대한 돌연변이원성 유무를 확인하기 위하여 현재 돌연변이원성 실험에 널리 이용되고 있는 Salmonella typhimurium TA98과 TA100을 사용하여 Ames test를 실시하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 균 control의 his^- revertant colony수와 각 시료를 첨가한 경우의 revertant colony수를 비교할 때 시료 생즙의 첨가량을 증가시켜도 colony수가 증가되지 않은 것으로 보아 변이원성은 없는 것으로 확인되었다. 또한 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100에 대한 시료의 Cytoxicity 유무를 판정하기 위하여 bacteria의 viability test로 이용되는 nutrient agar plate[1]를 사용하여 survival cell test[16]를 실시한 결과 300 μl의 시료 첨가시에도 균 control의 survivors와 비슷한 수치를 나타내는 것으로 보아 cytotoxicity는 없는 것으로 사료된다.

한편 산채류 생즙의 돌연변이 억제효과를 검토하기 위하여 Ames test에서 양성을 나타내며 발암물질로 잘 알려진 Trp-P-1과 2-AF를 이용하였으며, 이들 물질에 의해 유도된 변이원성에 대한 각 시료 생즙의 첨가량에 따른 억제활성을 측정하였다.

Table 1. Mutagenic effects of Edible Mountain Herb juices in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100

Samples	Dose (μl/plate)	Revertants/plate	
		TA98	TA100
돌나물	50	25	123
(Sedum)	100	26	119
	200	19	121
	300	22	127
두릅	50	20	120
(Aralia bud)	100	26	141
	200	29	138
	300	24	140
둘미나리	50	24	117
(Small water dropwart)	100	18	119
	200	20	114
	300	19	120
도라지	50	20	109
(Root of bell flower)	100	29	119
	200	27	123
	300	24	122
쑥	50	24	124
(Mugwort)	100	32	128
	200	30	138
	300	30	139
Test strain control		20	117

Fig. 1, 2는 Trp-P-1과 2-AF에 의해 유도된 변이원성에 대한 쑥 생즙의 억제효과를 나타낸 것으로 Trp-P-1에 의해 유발된 변이원성에 대하여 TA98과 TA100 두 균주 모두에서 50 μl의 낮은 농도에서도 90% 이상의 억제효과를 나타내었으며 100 μl의 시료 첨가시에는 거의 100%의 억제효과를 나타내었다.

2-AF에 의해 유발된 변이원성에 대하여는 TA98에서 시료의 첨가량을 50 μl, 100 μl, 200 μl, 300 μl로 증가시킬 때 각각 65%, 88%, 97%, 97%의 억제효과를 나타내었으며, TA100에서는 100 μl의 시료를 첨가할 때 거의 100%의 억제효과를 보여 변이원성에 대한 강한 억제활성을 나타내었다.

두릅생즙의 돌연변이 억제효과는 Fig. 3, 4에서와 같이 Trp-P-1에 대하여 TA98에서 50 μl의 시료 첨가시 90% 이상의 억제효과를 나타내었으며 시료의

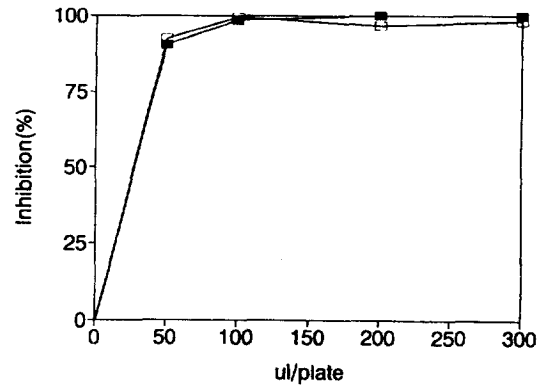

Fig. 1. Antimutagenic effects of mugwort juice on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

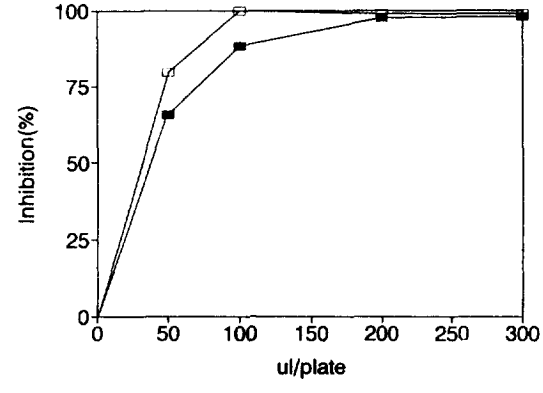

Fig. 2. Antimutagenic effects of mugwort juice on the mutagenicity induced by 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

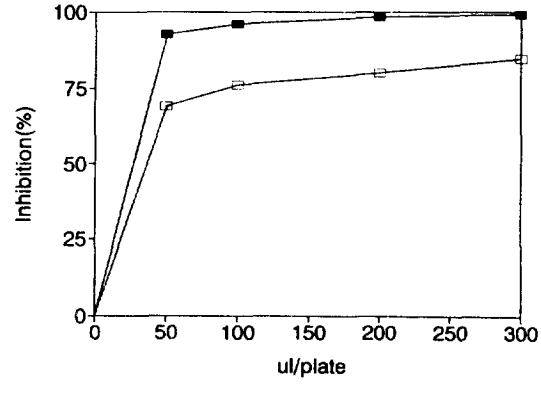

Fig. 3. Antimutagenic effects of aralia bud juice on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

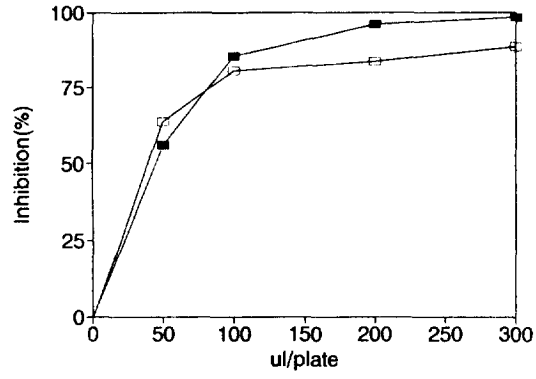

Fig. 4. Antimutagenic effects of aralia bud juice on the mutagenicity induced by 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

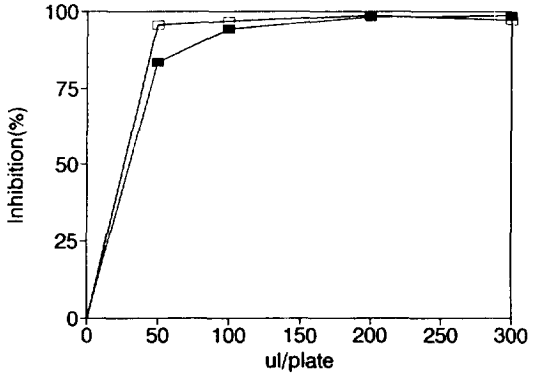

Fig. 5. Antimutagenic effects of small water dropwort juice on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

첨가량을 증가시킴에 따라 억제율도 점차 증가하여 300 μl의 시료 첨가시 거의 100%의 억제효과를 보였다. TA100을 이용한 실험에서는 50 μl의 생즙 첨가시 억제율이 69%였으며, 300 μl의 시료 첨가시 84%의 억제효과를 나타내었다. 2-AF에 대해서도 Trp-P-1의 경우와 거의 같은 억제효과를 나타내어 TA98에서 시료를 50 μl, 100 μl, 200 μl, 300 μl로 증가시킴에 따라 55%, 85%, 96%, 98%로 억제효과가 증가하였으며 TA100에서는 300 μl의 시료 첨가시 88%위 억제효과를 나타내었다.

Fig. 5, 6은 들미나리의 돌연변이 억제효과를 나타낸 그림으로 Trp-P-1에 대하여 50 μl의 낮은 첨가량에도 TA98에서 84%, TA100에서 95%의 억제효과를 나타내었으며 첨가량의 증가에 따라 억제율

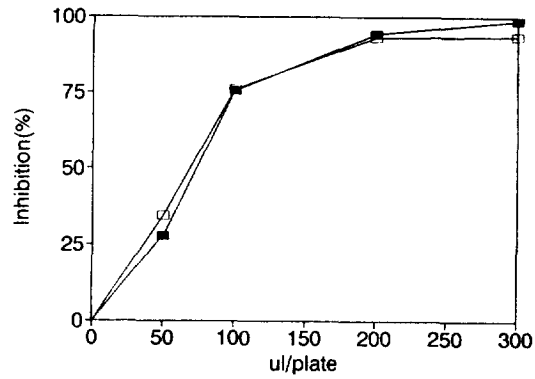

Fig. 6. Antimutagenic effects of small water dropwort juice on the mutagenicity induced by 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA 100 (□—□).

도 점차 증가하여 300 μl의 시료 첨가시에는 TA98에서 98%, TA100에서 97%의 억제효과를 나타내었다.

2-AF에 대하여는 저농도에서부터 고농도까지 비교적 점차적인 억제효과의 증가를 보여 최고 300 μl의 시료 첨가시 TA98에서 98%, TA100에서 93%의 억제효과를 나타내었다. 들미나리의 경우 Trp-P-1에 의해 유발된 돌연변이에 대해서는 생즙시료 100 μl만 첨가하여도 거의 최대 억제효과를 나타내었으며, 2-AF에 의해 유발된 돌연변이에 대해서는 생즙 200 μl를 첨가하여야 최대 억제효과를 나타내었다.

Fig. 7, 8은 변이원성에 대한 돌나물즙의 억제효과를 나타낸 그림이다. Trp-P-1에 의해 유도된 변이원성의 억제활성은 TA98 균주를 사용한 경우 50 μl의 생즙 첨가시 5%의 억제효과를 나타내었으나 100 μl를 첨가할 때 60%로 억제효과가 현저히 증가하였으며 300 μl를 첨가할 때 억제율이 90%로 증가하였다. TA100에서도 시료의 첨가량을 50 μl, 100 μl, 200 μl, 300 μl로 증가시킴에 따라 억제율이 각각 32%, 60%, 80%, 98%로 증가하였다.

한편 2-AF에 의해 유발된 변이원성에 대해서는 Trp-P-1의 경우보다 다소 약하였지만 시료의 농도 증가에 따라 돌연변이 억제율이 점차 증가하였으며 특히 50 μl~200 μl 범위에서는 시료첨가량에 따른 억제율의 증가가 완만하였고, 300 μl의 시료 첨가시 TA98에서는 64%, TA100에서는 72%의 억제효과를 나타내었다.

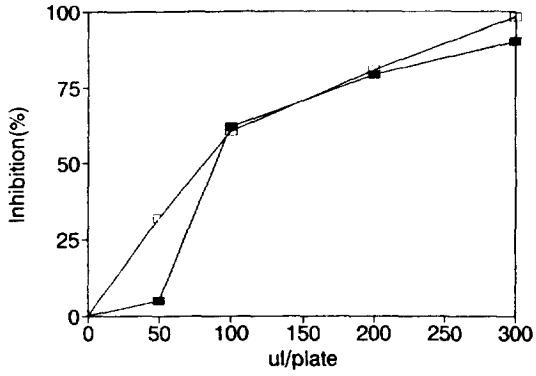

Fig. 7. Antimutagenic effects of sedum juice on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□--□).

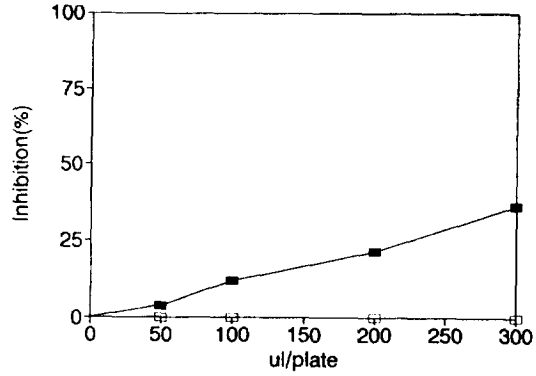

Fig. 9. Antimutagenic effects of bellflower juice on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

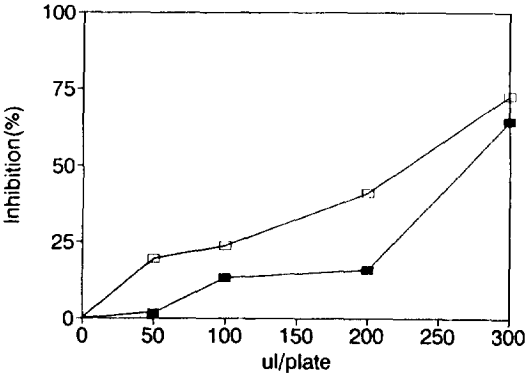

Fig. 8. Antimutagenic effects of sedum juice on the mutagenicity induced by 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□--□).

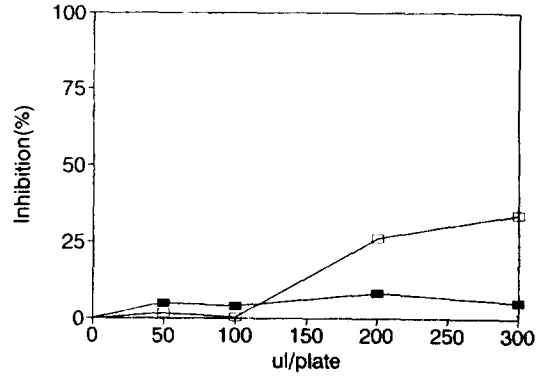

Fig. 10. Antimutagenic effects of bellflower juice on the mutagenicity induced by 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 (■—■) and TA100 (□—□).

Fig. 9, 10은 도라지즙의 돌연변이 억제효과를 나타낸 것으로 Trp-P-1에 의해 유발된 변이원성에 대하여 TA100에서는 시료의 농도증가에도 전혀 억제효과가 나타나지 않았으며 TA98에서는 300 μl의 시료를 첨가하였을 때 36%의 억제효과를 보였다.

2-AF에 의해 유발된 변이원성에 대한 도라지즙의 억제효과 실험에서는 TA98에서 시료 첨가량을 증가시켜도 거의 억제효과가 나타나지 않았으며, TA 100의 경우에는 300 μl의 시료를 첨가하여도 억제효과는 34%에 불과하였다.

이상의 실험결과에서 보는 바와 같이 산채즙의 첨가량과 억제율간에는 확실한 용량반응관계(dose-response relationship)를 나타내고 있으며 특히 두릅, 들미나리, 쑥의 경우에는 용량-반응관계가 전형적인 포화곡선(saturation curve)을 보이고 있다. 따라서 각 시료의 억제효과가 50%에 달하는 산채즙의 첨가량을 Fig. 1~Fig. 10에서 환산해 보면 Table 2와 같다. 표에서 보는 바와 같이 산채즙의 돌연변이 억제효율은 2-AF보다 Trp-P-1에 의해서 유발된 변이원성에 대하여 보다 효과적이었으며, *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 사이에는 유의적 차이를 보이지 않았다.

본 실험에 사용된 산채즙의 항돌연변이 효과를 50% 억제율을 나타내는 시료의 첨가량으로 평가해 보면 Trp-P-1에 의해 유발된 변이원성의 경우에는 쑥, 들미나리, 두릅의 순으로 가장 효과가 컸으며 다음은 돌나물의 순이었고 도라지의 경우는 돌연변이 억제효과가 매우 약하였다. 한편 2-AF에 의해

Table 2. The applied amount of the juices for representing 50% inhibition on the mutagenicities induced by Trp-P-1 and 2-AF (unit: μl/plate)

Samples	Trp-P-1		2-AF	
	TA98	TA100	TA98	TA100
Sedum	86	78	271	228
Aralia bud	25	33	36	42
Small water dropwort	28	25	73	68
Root of bellflower	>300	>300	>300	>300
Mugwort	25	25	33	28

유발된 변이원성에 대해서는 쑥, 두릅, 들미나리의 순으로 돌연변이 억제효과가 컸으며 다음은 돌나물의 순이었고 도라지는 억제효율이 매우 낮았다.

이[11]는 냉이, 민들레, 수리취, 질경이 등 11종의 산채류 생즙에 대하여 돌연변이 억제효율을 조사한 결과 부추, 민들레, 냉이, 수리취, 씀바귀 그리고 질경이가 benzo(α)pyrene, Trp-P-1, 2-AF, 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO)에 의해 유발된 변이원성에 대해 억제활성이 가장 컸다고 보고하였으며, Ito 등[8]에 의하면 양파, 가지, 호박 그리고 양배추의 생즙 및 가열즙이 7,12-dimethyl benzo(α)anthracene (DMBA)에 의해 유발된 돌연변이원성을 억제하는 활성을 갖고 있으며 이것은 양파나 가지에 존재하는 SH 화합물이 glutathion transferase의 활성을 증가시키는 때문이라고 보고하였다. Ohta 등[14]은 Cinnamon 껍질의 성분인 cinnamaldehyde는 4-NQO에 의해 유발된 변이원성에 대해 억제활성을 갖는다고 보고하였으며, Lai 등[10]은 식물체의 주요성분인 chlorophyll이 3-methyl cholanthene(3-MC)와 benzo (α)pyrene이 변이원성을 억제시킨다고 보고한 바 있다.

본 실험에 사용한 산채즙의 증류수 희석액의 흡수스펙트럼으로부터 얻은 분광학적 특성은 Table 3과 같다.

50% 돌연변이 억제효과를 나타내는 각 시료첨가량과 몇몇 파장에서의 시료의 흡광도와의 상관관계를 검토해 보면 254 nm와 280 nm에서 상관계수가 각각 −0.661, −0.670으로 다소의 상관성을 나타내는 반면 chlorophyll의 특성파장인 660 nm에서는 상관계수가 −0.148로 억제율과의 상관성이 거의 없었다. 이와 같은 결과로 보아 본 실험에 사용한 시료의 돌연변이 억제효과는 시료 중에 혼재되었을지도 모르는 chlorophyll의 영향은 아니라고 생각되며, 반면에 254 nm와 280 nm에서의 흡광도와 돌연변이 억제효과 사이에는 어느 정도의 상관성을 나타내는 것으로 생각된다.

항돌연변이원성을 나타내는 식물성분으로는 비타민 C, β-catorene, cysteine, polyphenols, peroxidase, fibers, 리그닌 유사화합물 등이 알려져 있으며,[17] 또한 효소적 갈변반응 생성물들이 항돌연변이 효과에 관한 지금까지의 연구보고[2,3,5,6,7]들은 Trp-P-1, benzo(α)pyrene, 2-AF 등에 의해 유발된 변이원성에 대하여 상당한 억제효과를 보여주고 있다. 이와 같은 연구결과로 보아 산채 생즙의 경우도 이러한 요소들이 어느 정도 복합적으로 항돌연변이 효과에 영향을 미친 것으로 추정할 수도 있지만 새로운 인자의 존재 가능성도 고려되어야 할 것으로 판단된다.

Table 3. Spectroscopic characteristic of prepared sample solution

Samples	100×dilution		20×dilution				50% inhibition volume (μl)
	254 nm	280 nm	440 nm	520 nm	620 nm	660 nm	
Mugwort	1.141	0.932	0.319	0.128	0.046	0.026	25
Small water dropwort	0.452	0.307	0.173	0.078	0.036	0.024	28
Aralia bud	1.651	1.049	0.903	0.351	0.113	0.046	25
Sedum	0.490	0.407	0.572	0.348	0.237	0.192	86
Root of bellflower	0.150	0.144	0.022	0.016	0.012	0.012	>300

*50% inhibition volume: Sampl volume (μl) representing 50% inhibition on the mutagenicity induced by Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98

따라서 항돌연변이 효과가 강한 산채류를 선별하여 돌연변이 억제활성을 나타내는 물질의 분리 및 동정 그리고 이들 물질을 이용한 임상실험 등 보다 구체적인 연구가 심도있게 이루어져야 할 것으로 생각된다.

국문요약

Salmonella Typhimurium TA98과 TA100 두 균주를 이용한 Ames assay를 실시하여 산채류 생즙의 돌연변이원성과 돌연변이 억제효과를 검토하였다. 돌연변이 유발물질로는 Trp-P-1과 2-AF가 사용되었다.

쑥, 들미나리, 두릅, 돌나물 및 도라지의 생즙은 돌연변이원성을 나타내지 않았다. 산채류 생즙의 항돌연변이원성 효과는 쑥, 들미나리, 두릅이 가장 강하였으며 다음은 돌나물이었고, 도라지는 거의 항돌연변이효과를 나타내지 않았다.

이와 같은 결과는 TA98과 TA100을 이용한 실험에서 유사한 결과를 보였으며, 돌연변이 물질로 Trp-P-1을 사용하여 실험한 결과가 2-AF를 사용한 실험결과에 비하여 돌연변이 억제효과가 강하게 나타났다.

참고문헌

1. Ames, B.N.: Dietary carcinogens and anticacinogens: Oxygen radicals and degenerative diseases, *Science,* **221**, 1256-1264 (1983).
2. Baik, C.W.: Antimutagenic effect of browning products reacted with polyphenol oxidase extracted from apple by using SOS chromotest, *Korean J. Food Sci. Technol.,* **22**(6), 618-624 (1990).
3. Baik, C.W.: Antimutagenic effect of browning products reacted with polyphenol oxidase extracted from Apple, *Korean J. Food Sci. Technol.,* **22**(6), 625-631 (1990).
4. Doll, R. and Peto, R.: The cause of cancer: Quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the united states today, *J. Natl. Cancer Inst.,* **66**, 1191 (1981).
5. Ham, S.S.: Mutagenicity of enzymatic browing mixture on *S. typhimurium, Res. Bull. Kangweon Nat. Univ. Korea,* **17**, 56-62 (1982).
6. Ham, S.S.: Desmutagenicity of enzymatic browing reaction products which obtained from prunus salicina(yellow) enzyme and polyphenol compounds, *J. Korean Agri. Chem. Soc.,* **31**(1), 38-45 (1987).
7. Ham, S.S. and Lee, D.S.: Screening of enzymatic browing mixture by the rec-assay system with *B. subtilis* and DNA-breaking test, *Res. Bull. Kangweon Nat. Univ. Korea,* **19**, 43-49 (1984).
8. Ito, Y., Maeda, So. and Sugiyama, T.: Suppression of 7, 12-dimethylbenzo(α)-anthracene-Induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells by vegetable juices, *Mutation Research,* **172**, 55-60 (1986).
9. Kada, T., Morita, K. and Inoue, T.: Antimutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of trytophan pyrolysate, *Mutation Res.,* **53**, 351-353 (1978).
10. Lai, C.H., Butler, M.N. and Matney, T.S.: Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content, *Mutation Res.,* **77**, 245-250 (1980).
11. 이재훈: 산채류 생즙의 항돌연변이원성에 관한 연구, 강원대학교 석사학위논문 (1989).
12. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutation research,* **113**, 173-215 (1983).
13. Matsushima, T., Sungimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A. and Sawamura, M.: Factors modulating mutagenicity in microbial test, in; K. H. Norpoth and R.C. Cancer(Eds.), Short-term test system for detecting carcinogens, springer, Berling, 273-285 (1980).
14. Ohta, T., Watanabe, K., Moriya, M. and Shirasu, Y.: Analysis of the antimutagenic effect of cinnamaldehyde on chemically induced mutagenesis in *E. coli, Mol. Gin. Ginet.,* **1982**, 309-315 (1983).
15. Ong, T.M., Whong, W.Z., Stewart, J. and Brockman, H.E.: Chlorophyllin, a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures, *Mutation Res.,* **73**, 111-115 (1986).
16. Sakai, Y., Nagase, H., Ose, Y., Sato, T., Kawai, M. and Mizuno, M.: Effects of medicinal plant extracts from Chinese herbal medicines on the mutagenic activity of benzo(α)pyrene, *Mutation Res.,* **206**, 327-334 (1988).

17. Shinohara, K., Juroki, S., Miwa, M., Kong, Z.L. and Hosoda, H.: Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits, *Agric. Biol. Chem.*, **52**(6), 1396 (1988).
18. Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y.: Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives, *Cancer Letter*, **1**, 91-96 (1975).
19. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M.: Mutagenicities of N-nitrosamines on Salmonella, *Mutation Res.*, **48**, 121-130 (1977).