
窒素酸化物などの生体との反応とその影響に関する化学的研究

Chemical approach to the actions and effects of nitrogen oxides on living matters

代表研究者 名古屋大学農学部教授 並木 満 夫
Prof., Dept. of Food Sci. Tech., Nagoya Univ. Mitsuo NAMIKI

協同研究者 国立遺伝学研究所変異遺伝部長 賀田 恒 夫
Head, Dept. of Induced Mutation National Inst. of Genetics Tsuneo KADA

理化学研究所副主任研究員 辻 啓 一
The Inst. of Phys. Chem. Res. Keiichi TSUJI

名古屋大学農学部教授 鵜 高 重 三
Prof., Dept. of Food Sci. Tech., Nagoya Univ. Shigezo UDAKA

The main subject of this study project has been the clarification of the chemistry of the action of environmental nitrite on living matters through interference on genetic mechanism, as well as developing effective countermeasures against it. More specifically, our interest was centered around the action of nitrites on food constituents. In the early stage of study it was found that nitrite, which is naturally present in food or added to it as a common preservative, readily reacts with sorbic acid, which is itself found in nature and is also a widely used food preservative, and develops strong mutagenic action towards bacteria.

Chemical and biological studies of this reaction under carefully controlled conditions showed that the induced biological activities were highly dependent on reaction conditions, especially pH of the reaction medium. The maximum bacterial toxic action was produced by the reaction at low pH (1.5), but the mutagenic activity was the strongest by the reaction at pH 3.5. We succeeded in isolation and identification of number of the products of the reaction and found them as C-nitro, C-nitroso and N-nitro compounds of varying biological activities. That these compounds can be readily formed under mild conditions was rather disconcerting to us since such possibilities have received only limited attention so far, in contrast to the extensively studied formation and biological action of N-nitroso compounds. In fact our results has stimulated US FDA to carry out a systematic reexamination of the simultaneous use of nitrite and sorbic acid in canned foods, which has been considered as a safe and convenient way of lowering the level of nitrite.

Though the complete picture of the course of the reaction of nitrite with sorbic acid to produce mutagens is not clear yet, it is certain that it starts with the addition of nitrogen oxides to the gamma- and delta-positions of sorbic acid, as was concluded from the product studies. Continued studies seemed to indicate that, fortunately, not many common food constituents react with nitrite to produce mutagens but piperine, the spicy constituent of pepper, is suspected to behave similar to sorbic acid.

In our optimistic view, there are operating varieties of unknown detoxification process simultaneously with the natural genetic aberration. We found that many kinds of common vegetable juices are effective in suppressing the mutagen formation from sorbic acid and nitrite. Ascorbic acid and cysteine reacts with certain kinds of the mutagenic products and inactivates them. The well-known mutagenic pyrolytic products of tryptophan, Trp P₁ and P₂, were found to be inactive in the presence of vegetable juices.

Our achievements is only the very start of a vast boundary field that awaits working into. However, we believe that the fund from the Nissan Science Foundation has been very

meaning-fully utilized to lay a base for the future developments, and wish to express our gratitude for the three year's support.

1. 研究目的

自然環境とくに食品を中心とした環境に存在する亜硝酸、NO、NO₂、N₂O₃ など窒素酸化物が突然変異誘発や発癌などの生物効果を示すことが知られているが、その生成機構・作用機構などには不明のことが多い。本研究ではとくにそれらの化合物が生体や食品の成分と反応して新しい型の変異原を生成することに着目し、その生成物の分離同定と生成機構を解明するとともにそれらの生物効果を明らかにし、さらに他成分の共存による変異原生成の抑制や促進 および生物効果の変動など、広くこの問題に関する化学的研究を行なう。これにより窒素酸化物の生物効果についての新しい問題の解明とその対応についての基礎を確立することを目的とする。

2. 研究経過と成果

本研究においては、まずこの課題の具体的な問題として、ソルビン酸 (SA と略す) と亜硝酸 (SN と略す) との反応により、変異原物質が生成する問題を取りあげ徹底的な研究をすることにした。この問題は賀田により見いだされたものであって、この両物質は今日食品添加物として世界的に広く使用されているばかりか、自然条件においても存在するものである。しかも両者の反応では今迄ほとんど問題にされていなかった C-ニトロ・C-ニトロソ化合物が生成し、それらの変異誘発作用に関するものであることから、食品の安全性の面から非常に重要な問題である。

以下各項目に分け研究経過と成果を述べる。

1) 反応条件による生物活性と反応物の変化

SA と SN の反応条件を変えて反応液の変異誘発作用と生育阻害をそれぞれ Rec-assay 法と、大腸菌の比濁法により調べてみると、それらの生物効果の生成は pH をはじめとする反応条件によって著しく変動することが分かった (表 1)。中でも反応時の pH はとくに重要である。pH が 7.0 で

の反応液は、両作用ともに陰性であった。

Rec-assay での活性は pH 6.0 ではほとんど認められないが pH 低下とともに強い活性がみられ、3.5 付近の場合に最高になって 2.0 以下では著しく弱くなる。一方、生育阻害作用の方は、反応時の pH を下げるにつれて強くなり、pH 2 以下が最も強くなる。

反応の温度と時間の影響は、加温すれば速やかに変異原が生成し、60°C では 60 分位で max. となってそれ以上では低下して来る。0°C 付近の低温では速度は遅くなるが同様な反応が進行し変異原の生成は 1~2 日後に max. になる。しかしその前駆体とみられる物質などの生成は反応開始直後から認められる。

反応物のモル比も重要な要素で変異原の生成は SA : SN = 1 : 8 の場合に最も強くなる。SA の許可濃度 (0.02M) で 1 : 1 の場合には変異活性はほとんど認められない。ただし、これは必ずしも変異原の生成が進行しないということではなく、1 : 1 又は 1 : 0.5 でも確実に生成することが後に化学分析により証明された。

2) 微生物検査法の改良

突然変異誘発作用の検定として賀田らにより開発された Rec-assay 法が用いられてきたが、微量生成物の検定のために感度を高める必要があり、さらに次のような改良法が研究開発され各種の試験に利用された。

a) Cold-incubation 法は菌をストリークした培地に薬物をのせた後プレートを 4°C に 24 h 放置し、ついで 37°C に一晩培養する。この Cold-incubation 法により約 30 倍感度が高まった。

b) 液体 S9 法は、固体培地の代わりに各種濃度の薬物を含む液体ブロス培地における Rec⁺ および Rec⁻ 株の増殖を阻害する濃度の比を求めることにより DNA 障害の強さを表わす法で定量性を高めることができた。

表 1. ソルビン酸と亜硝酸の反応条件による生育阻害作用および突然変異誘発作用の変動

pH effect		Growth Inhibition		Rec-assay
SA+SN (20 : 160 mM) 60°C, 1 h	pH 1.5	‡‡	3000 X dil.	+
	3.0	‡	2000 X	+
	3.5	‡	2000 X	‡
	4.2	‡	2000 X	‡
	5.0	+	400 X	+
	6.0	-	200 X>	-
	7.0	-	200 X>	-
Molar ratio				
SA+SN =20 :	0.4 mM	-	200 X>	-
" :	2	-	200 X>	-
pH, 3.5, " :	20	±	200 X	-
60°C, " :	80	+	1000 X	+
1 h " :	160	‡	2000 X	‡
" :	320	‡	2000 X	‡
Reaction time and Temperature				
SA+SN (20 : 160 mM) pH 3.5, 60°C	5 min	+	1000 X>	±
	30	‡	2000 X	‡
	1 h	‡	2000 X	‡
	3	+	1000 X	+
	6	+	1000 X	+
	24	+	1000 X>	+
SA+SN (5 : 40 mM) pH 3.5, 4°C	2 min	-	50 X	±
	3 h	-	50 X	+
	10	‡	500 X	‡
	24	‡‡	1000 X>	‡
	48	‡	500 X	‡
	96	‡	500 X	‡

c) 胞子法は、胞子の発芽過程は DNA 傷害に著しく敏感であることを利用したもので、 2×10^6 / ml の Rec⁺, Rec⁻ 菌の胞子を含む 10 ml のプロス寒天をシャーレに流し、4°C に 1 日放置したのち、薬物を含んだディスクを置き 37°C に 1 夜培養して生じる阻止リングの大きさを Rec⁺, Rec⁻ の株について比較する。この方法により数十倍の感度を得ることができた。

3) 反応生成物の分離検出

前記のような SA と SN の反応による著しい生物効果の出現に関連する生成物の化学的検討を行なった。まず反応液からの各種溶媒での抽出の条件を調べてみると、pH 4.0 付近で酢酸エチル抽出が最も良く、活性物質はすべて完全に移行する。この抽出物を蛍光剤入りシリカゲルの TLC を行なってみると生成物はそれぞれ特徴的な発色

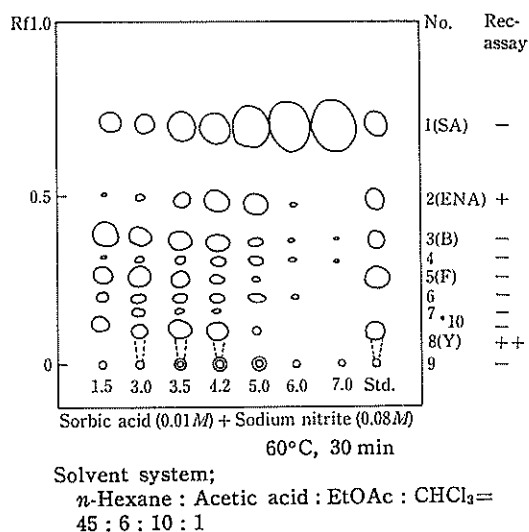


図 1. ソルビン酸と亜硝酸の反応生成物の反応時 pH による変動

上記のごとく TLC で分離確認される生成物は 10 種類以上におよぶが、この中とくに生物活性の強いもの、および生成量の著しく多いものについて主にカラムクロマトグラフィーを用いて分離精製しその化学構造を明らかにした (表 2)。

i) Ethylnitrolic acid (ENA)

研究初期に SA と SN の比較的 pH の高い反応液からエーテルで抽出される Rec-assay 活性物質として精製単離されたもので、各種機器分析の結果からこれが既知物質の Ethylnitrolic acid (ENA) と同定された。この物質は、これまで生物活性はほとんど知られていなかったもので、本研究により Rec-assay は陽性で変異原性が明らかにされた。ただし Ames TA98 などの場合は陰性であった。

ii) 1,4-Dinitro-2-methylpyrrole (Y 物質)

SA と SN を pH 3.5 で反応させたものの Dichloromethane 抽出物をカラムクロマトグラフィーで分別し強い Rec-assay 陽性を示す区分から得られた結晶で Y 物質と称した。この化合物の ^{13}C , ^1H NMR, MASS などスペクトル分析や化学反応から、これが 1 位と 3 位にニトロ基をもつ特異な構造の新しいピロール化合物であることが明らかにされた。

iii) B 物質

反応液の酢酸エチル抽出物を TLC した場合速やかに褐変化するスポットがあり、これを B (Brown) 物質と称した。この区分は、強い生育阻害活性を示したが、Rec-assay などは陰性で変異活性はみられない。TLC のスポットからかなり生成量は多く、特に pH が低い場合に多く生成し反応液の生育阻害活性の主要因子であることが分かった。この物質は不安定であり、その構造は NMR, MASS などの機器分析から別記の二つの構造式が推定されたが、決定的なデータは得られなかった。いずれにしても特異な構造をもつもので、その活性とともに興味ある物質である。

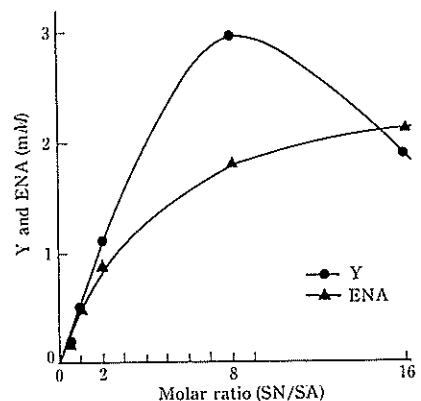
iv) F 物質およびその前駆体

以上の生成物のように生物活性はないが、TLC 上から主要生成物の一つと認められる区分を精製して得られた結晶で各種機器分析、とくに最近の

X 線結晶解析法を用いてこれが Furoxan 構造をもつ新しい化合物であることを明らかにし、F 物質と称した。また TLC で SA と SN の反応経過を追うと反応の初期に生成したのち減少してゆく生成物がみられ、この減少とともに F 物質が生成することが認められた。この区分を分離精製して得られた生成物は、さらに HNO_2 と反応させると定量的に F 物質を生成することからこれが F 物質の前駆体 (pre F) であることが明らかにされた。この生成物は注意深く HPLC を行なうと二つに分かれこれが syn-anti の二つの異性体をもつことが分かった。

以上のように主要生成物についてはその構造がほぼ明らかにされたが、いずれもかなり特異的な構造をもつ新物質であることが分かった。これらが如何なる反応機構で生成するかは化学的にも非常に興味あることであるが、また SA 類似構造をもつ他の食品成分で変異原が生成するか否かを考える上でも重要な問題である。現在この機構は不明のことが多いが、pKa は SA が 4.76, HNO_2 は 3.22 であり、酸性になると非解離型として反応する。とくに SN は、

$2\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}$, $\text{N}_2\text{O}_3 \rightleftharpoons \text{NO} + \text{NO}_2$
となり、まず SA の二重結合に N_2O_3 , NO , NO_2 が付加する反応が起きると考えられる。pre-F は、



SA 20 mM, pH 3.5, 60°C, 30 min
Effect of molar ratio on Formation and Y and ENA

図 3. Y 物質, ENA の生成に及ぼすソルビン酸と亜硝酸のモル比の影響

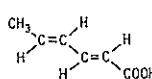
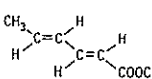
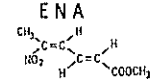
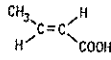
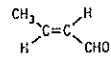

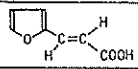
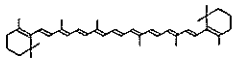
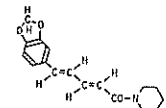
γ - δ 位に付加したものであり、これがさらに反応して ENA などを与えることも考えられるが、まだ証明されない。 α , β への付加もあるはずだが、その生成物は単離されていない。Y 物質の生成機構も不明だが、 α , β 付加から生成するとも考えられる。

なお、ここで注目すべきことは、例えば Y 物質はその構造から考えても、またこのような反応から考えても少なくとも SA に対し SN が 4 モル以上必要と推定される。したがってもし 1:1 モルで反応させた時は全く生成しないことも考え

られるが、実際には 1:1, 1:0.5 でも反応生成物の中に Y 物質や ENA が HPLC で確認されたことである。これは実際的な条件での Y 物質などの生成を検討する上にも重要な結果であろう (図 3)。

この SA と SN の反応は簡単な構造の物質の反応であるにもかかわらず、意外に複雑な化合物を容易に生成することが示されたが、その機構を明らかにするためには未同定生成物の分離同定や関連化合物の反応などを含めなお多くの化学的研究を必要とする。

表 3. ソルビン酸とその関連化合物の亜硝酸との反応による変異原性の生成

Material Compound	Structure	Product	Mutagenicity	
			Rec-assay	Ames-assay (TA 98)
Sorbic acid		ENA	+	-
		Y	++	++
		B	-	NT
		F	-	NT
		Pre-F	-	NT
Sorbic acid methyl ester		ENA	+	-
		 5-Nitro-2,4-hexadienoic acid methyl ester	++	-
Crotonic acid		N D	-	NT
Crotonaldehyde		N D	-	NT
Furfural		N D	-	NT
2-Furanacrylic acid		unknown	+	NT
Oleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	N D	-	NT
β -Carotene		unknown	\pm	NT
Piperine		unknown	++	+++
Tung oil	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\overset{\text{trans}}{\text{CH}}=\overset{\text{trans}}{\text{CH}}-\overset{\text{cis}}{\text{CH}}-\overset{\text{cis}}{\text{CH}}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ α -Eleostearic acid (Main component of tung oil)	N D	-	NT

N D ; not detected

NT ; not tested

5) ソルビン酸に関連構造をもつ化合物の亜硝酸との反応

SA は前記のごとく共役二重結合をもつ不飽和脂肪酸であり、これとSNの反応でどのような反応機構で、Y物質やENAが生成するのかまだ明らかでない。しかしSAと類似の構造をもつ物質は食品中にも生体中にもいろいろ存在しており、それらがSNと反応して同様なC-ニトロ化やC-ニトロソ化された生成物を生成し、変異原活性を示すか否かは非常に重要な問題である。表3のごとき各種の関連物質についてSAの場合と同様反応を行なって調べた結果、SAの二重結合の一つ少ないクロトン酸およびクロトンアルデヒドはいずれもみるべき反応生成物を与えず、生物活性も全く認められない。SAをメチルエステルにすると反応は変わり変異原活性もあまり強くなり、生成物も異なってくる。ENAが少し生成するがY物質は生成せず他の新しい不安定な変異原物質が生成してくる。

非共役の二重結合をもつリノール酸など普通の不飽和脂肪酸を含むキリ油やあるいはβ-カロチンの場合などでもSNにより変異原物質の生成はほとんど認められなかった。このようにY物質その他のC-ニトロ変異原化合物の生成はかなりSAの場合に特異的に起きる反応のようである。

しかし食品成分の中には、SAと似た構造をも

ち変異原を生成するものがある。我々は最近の研究で胡椒の辛味成分であるピペリンとSNを反応させると強い変異原活性をもつ化合物が生成することも見いだしており、C-ニトロ、ニトロソ変異原生成の問題は更に広く深く研究する必要がある。

6) 変異原物質の生成および作用に対する共存食品成分の影響

食品系には、当然SAとSN以外の多種多様な成分が共存しており、純粹系で反応させた場合とは異なり、複雑な変動が予想される。その中には前記のピペリンのように別な変異原を生成する場合もあるが、一方、その生成や生物効果を抑制する可能性があることが明らかにされた。

a) 生成反応に対するアスコルビン酸その他の効果

アスコルビン酸などはSNと反応するのでこの添加により変異原生成反応を抑制することが考えられる。そこでSAとSNの反応系にアスコルビン酸、各種アミノ酸を添加して微生物試験を行なってみると、アスコルビン酸はSNの1/2モルで、システインは等モルで生成反応を完全に抑制した。なおトリプトファンなどにも弱い抑制作用があることが分かった。これらの抑制効果は、反応物のポーラログラフィー、HPLC、TLCなどによる分析でも明らかに見られた。

表 4. ソルビン酸と亜硝酸との反応素液を不活性化する食品因子のスクリーニング (Spore-rec-assay 法による)

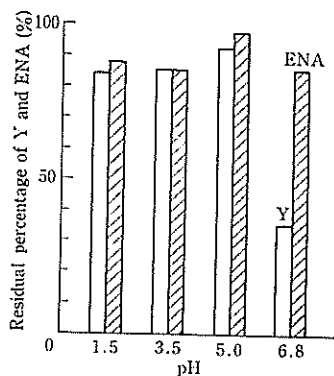
著効を示したもの		有効であったもの	
カボチャ	ホウレンソウ	ゴボウ	ナノ花
サヤエンドウ (サヤ)	キャベツ	ショウガ	ミント葉
ヤマイモ	レタス	サトイモ	ピーズ
グリーンピース	ピーマン	マンダリンオレンジ	スノーピー
ギンナン	トマト	バナナ	ブロッコリ
	ミョウガ	パインアップ	Astichoke
	ミツバ	ナシ	Aefaly sprouts
	ムラサキキャベツ	洋ナシ	Tellors-squash
	ハクサイ	サンショの葉	エン麦
	ナス	ニンジン	テオシントウ
	グリーンアスパラガス	エノキダケ	エンドウ豆
	カリフラワー	シメジ	長イモ
	青ジソ	ポーフー	
	レンコン	セリ	

b) 変異原の生物作用に対する野菜ジュースその他の抑制効果

我々は、各種の野菜ジュースなどを SA と SN の反応液やトリプトファン(Trp P など)などと共存させると、それらの変異誘発作用が抑制されることを見いだした。

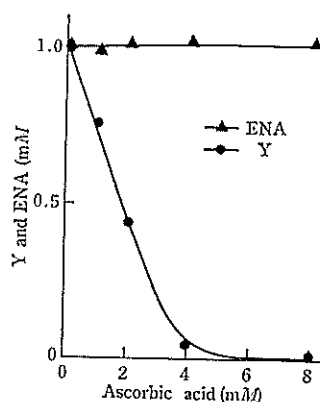
SA と SN の反応物について、Rec-assay と Ames test により試験してこの抑制効果のみられた野菜ジュースを表4にあげた。食品成分にこのような効果があることを見いだされたことは食品系の安全性の上で極めて重要な意義をもつものである、とともに、その作用機構は興味あるものがあり、新しい研究分野が展開されつつある。

そこで作用機構解明の一つの研究として、SA と SN との反応系における主要変異原生成物である Y 物質と ENA の標品を用い、ジュースおよび関連成分であるアスコルビン酸やシステインと処理した場合の変化を微生物試験と HPLC で測定して調べた。その結果 Y 物質はカボチャジュースと処理すると、著しく減少することが示され、この現象はとくに pH 6.8 の場合に限られ 5.0 以下ではみられなかった。ENA の方は殆んど変化がなかった(図4)。Y 物質はアスコルビン酸との処理でも同様に活性を失うとともに、化学的に変化することが HPLC やポーラログラフィーで明らかにされ NO₂ 基が還元されることが分か



pH Effect on Y and ENA by treatment with pumpkin juice

図4. Y 物質と ENA に対するカボチャジュース処理の影響 (高速液体クロマトグラフィーによる測定)



Additional effect of ascorbic acid on Y and ENA (1 mM, each) at pH 6.8.

図5. Y 物質と ENA に対するアスコルビン酸の添加効果

った(図5)。また同様な効果はシステインでもみられ、この場合はアスコルビン酸が無効な ENA に対しても活性を低下させることが分かった。これらの物質は野菜ジュース中にも含まれていることからジュースの効果がこれらの物質に起因することも考えられるが種々のデータからそれ以外の因子が存在することが推定された。

なお Y 物質の他にトリプトファン(Trp P₁, Trp P₂)の場合も野菜ジュースで活性低下とともに化学的にも変化していることが示された。

いずれにしてもこれらの結果は変異作用の抑制効果を初めて化学的に証明したのものとして注目された。

以上のように本研究においては窒素酸化物などの生体、食品成分との反応とその変異原性などについて主としてアスコルビン酸と亜硝酸の反応による C-ニトロ、C-ニトロ化合物の新しい変異原の生成という問題を中心に研究を展開してきた。なお、この他の生体成分の亜硝酸との反応についても研究を行なったが、とくに見るべき知見が得られなかったため、ここでは上記のごとき研究経過のみを述べた。

ここで得られた結果から

1) 従来ほとんど注目されていなかった C-ニ

トロ、C-ニトロ化合物で著しい変異原活性をもつ物質が容易に生成することを明らかにし、これにより食品系での NO₂ の反応について新しい観点からの検討を必要とすることを示した。事実この結果は、現在米国などで亜硝酸の使用法をめぐる食品添加物行政上に非常に大きな影響がある研究として注目されている。

2) 各種最新の化学的手段を用いてこの反応を詳細に調べ、多くの未知化合物を含む主要生成物の化学構造を明らかにし、それらの生成条件を示して、従来あまり知られていなかった C-ニトロ、C-ニトロ化の反応機構解明に重要知見を得た。これにより他の成分の NO₂ との反応について有力な手掛りを与えた。

3) 食品系や生体系においては、当然他の共存物質の影響があり、それらを総括して毒性などの判断をしなければならない。本研究の重要な成果の一つは、ここで行なわれた C-ニトロ、C-ニトロ他による変異原生成をはじめ、他の変異原も含めて、それらの生成に対してアスコルビン酸やシステインなどの成分および野菜ジュースなどが抑制効果を示すことを明らかにし、更には生成した変異原の作用をも抑制あるいは消去することを見いだし化学的にも証明したことである。

4) この他、本研究を通じて変異原検出法の改良や、ニトロ、ニトロ化合物の検出定量へのポーログラフイーの応用など種々の研究法の改良が行なわれ、今後のこの方面の研究の発展に寄与することが行なわれた。

本研究においてソルビン酸と亜硝酸の問題はテーマの一つの分野にすぎず、なお多くの問題が残されている。しかし、ここで行なわれたように新しい変異原の生成についての研究のみならず、その生成や生物作用についての他成分の影響を含めて問題の徹底的な追求が行なわれたことは、食品や生体系における問題を研究する上に非常に重要な研究のあり方と考える。このような研究が遂行されたことは日産科学振興財団からの3年間にわたる強力な支援があったからのことであり、その研究助成に深く感謝の意を表するものである。

発表論文

- 1) Y. Sadaie and T. Kada: Recombination-deficient Mutants of *Bacillus subtilis*, *J. Bacteriol.*, **125**, 489-500 (1976).
- 2) Y. Kito, M. Namiki and K. Tsuji: A New N-Nitropyrrole, 1,4-Dinitro-2-Methylpyrrole, Formed by the Reaction of Sorbic acid with Sodium Nitrite, *Tetrahedron*, **34**, 505, (1978).
- 3) T. Kada: "Rec-assay with *Bacillus subtilis*", in "Comparative Chemical Mutagenesis", F. J. de Serres, in press.
- 4) T. Kada, K. Morita and T. Inoue: Antimutagenic Action of Vegetable Factor(s) on the Mutagenic Principle of Tryptophan Pyrolysate, *Mutation Res.*, **53**, 351-353, (1978).
- 5) K. Morita, M. Hara and T. Kada: Studies on Natural Desmutagens: Screening for Vegetable and Fruit Factors Active in Inactivation of Mutagenic Pyrolysis Products from Amino Acids, *Agric. Biol. Chem.*, **42**(6), 1235-1238, (1978).
- 6) K. Tanaka, K. C. Chung, H. Hayatsu, T. Kada: Inhibition of Nitrosamine Formation *in vitro* by Sorbic Acid, *Fd Cosmet. Toxicol.*, **16**, 209-215 (1978).
- 7) K. Yasuo, S. Fujimoto, M. Katoh, Y. Kikuchi, T. Kada: Mutagenicity of Benzotrichloride and Related Compounds, *Mutation Res.*, **58**, 148-150, (1978).
- 8) K. Yoshikawa, H. Kurata, S. Iwahara, T. Kada: Photodynamic Action of Fluorescein Dyes in DNA in Bacteria, *Mutation Res.*, **56**, 359-362 (1978).
- 9) T. Kada: Screening of Environmental Chemical Mutagens by the Rec-assay System with *Bacillus subtilis*, "Chemical Mutagens". (Ed. A. Hollaender), Plenum, in press.
- 10) T. Osawa, Y. Kito, M. Namiki, and K. Tsuji: A New Furoxan Derivative and its Precursors Formed by the Reaction of Sorbic Acid with Sodium Nitrite, *Tetrahedron Letters*, No. 45 4399-4402 (1979).
- 11) M. Namiki, S. Udaka, T. Osawa, K. Tsuji and T. Kada: Formation of Mutagens by Sorbic Acid-Nitrite Reaction: Effects of Reaction Conditions on Biological Activities, *Mutation Res.*, in press.

講演発表

- 1) 並木満夫, 伊藤英明, 鬼頭幸男, 賀田恒夫, 辻啓一: ソルビン酸と亜硝酸の反応による微生物生育阻害作用物質の生成について, 日本農芸化学会, 昭和51年度大会(京都)講演51.4.
- 2) 並木満夫, 鬼頭幸男, 裏地達哉, 石橋春枝: ソルビン酸と亜硝酸の反応による微生物生育阻害作用

- 物質の生成について—強酸性下における反応生成物について—, 日本農芸化学会, 昭和 52 年度大会 (横浜) 講演 52.4.
- 3) 賀田恒夫: 食品中の Mutagens-Antimutagens (Carcinogens-Anticarcinogens) 反応について, 日本農芸化学会, 昭和 52 年度大会 (横浜) 52 年 4 月講演.
 - 4) 森田和良, 井上 正, 賀田恒夫, 並木満夫: 「食品中の Mutagens-Antimutagens (Carcinogens-Anticarcinogens) 反応について (第 2 報)」, 日本農芸化学会中部支部第 68 回例会, 52 年 5 月講演.
 - 5) (a) 辻 啓一, 石橋春枝, 並木満夫: 「ソルビン酸と亜硝酸の反応生成物のポーラログラフ的研究」, ポーラログラフ討論会 (第 23 回), 52 年 11 月 (大阪) 講演. (b) 石橋春枝, 大澤俊彦, 並木満夫, 辻 啓一, 同上, 第 2 報, 「低温における反応」, ポーラログラフ討論会 (第 24 回), 53 年 9 月 (仙台) 講演.
 - 6) T. Kada: Analysis of mutagens-antimatagens reactions in food and food additives by the rec-assay and reversion assay procedures, 2nd. Inter. Conf. on Environmental Mutagens. August, 1977, Edinburgh.
 - 7) 賀田恒夫, 井上 正, 森田和良, 原 雅子, 辻 啓一, 並木満夫: 「食品中における Mutagens-Antimutagens (Carcinogens-Anticarcinogens) 反応について (第 3 報)—特に 野菜因子の分離と作用」, 日本農芸化学会, 昭和 53 年度大会 (名古屋) 昭和 53 年 4 月講演.
 - 8) 石橋春枝, 大澤俊彦, 並木満夫, 辻 啓一, 並木和子, 山路みどり: ソルビン酸と亜硝酸の反応における初期生成物について, 日本農芸化学会中部支部例会 (名古屋) 昭和 53 年 6 月.
 - 9) 石橋春枝, 大澤俊彦, 並木満夫, 辻 啓一: ソルビン酸と亜硝酸の反応生成物のポーラログラフ的研究 (2) 低温における反応経路と生成物, 第 24 回ポーラログラフ及び電気分析化学討論会 (仙台), 1978. 9.
 - 10) M. Namiki, T. Osawa and K. Namiki: Antibacterial Effects Developed by the Reaction of Sorbic acid with Sodium Nitrite. ACS/CSJ Chemical Congress (Honolulu), April, 1979.
 - 11) 平松ひとみ, 石橋春枝, 大澤俊彦, 並木満夫: ソルビン酸関連物質と亜硝酸の反応による変異原物質の生成について, 日本農芸化学会大会 (東京) 1979. 4.
 - 12) 石橋春枝, 大澤俊彦, 並木満夫, 辻 啓一, 渡辺進, 平沢 清, 賀田恒夫: 食品中の Mutagen-Antimutagen (Carcinogens-Anticarcinogens) 反応について, 日本農芸化学会大会 (東京) 1979. 4.