**Zeitschrift:** Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux

de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 92 (2001)

Heft: 1

Artikel: Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der

Milchwirtschaft verwendeten Bakterien. Teil 1, Milch, Milchprodukte und

Milchinhaltsstoffe

**Autor:** Sieber, Robert / Boekel, Martinus A.J.S. van

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-981900

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 28.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

# Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien

#### Teil 1. Milch, Milchprodukte und Milchinhaltsstoffe

Robert Sieber, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM) Liebefeld, Bern

Martinus A.J.S. van Boekel, Food Science Group, Wageningen University, Wageningen

Eingegangen am 2. Juli 2000, angenommen am 19. Dezember 2000

#### **Einleitung**

Viele mutagene Substanzen, die sich in verschiedenen In-vitro- und In-vivo- Modellen als stark mutagen und auch als kanzerogen erwiesen haben (siehe dazu 1), können in der Nahrung des Menschen vorkommen. Es sind natürliche Pflanzen- inhaltsstoffe, mikrobielle Stoffwechselprodukte, Stoffe, die bei der Zubereitung, Konservierung und Lagerung von Lebensmitteln entstehen, Umweltkontaminanten und Pestizidrückstände (2, 3) (Abb. 1)¹. In Ziegenmilch kann nach dem Verfüttern der pyrrolidinenthaltenden Pflanze Senecio jacobaea eine mutagene Aktivität auftreten (5). Im weiteren war die Milch, die von mit aflatoxinhaltigen Baumwollsamen gefütterten Kühen gewonnen wurde, mutagen² (7). Dass der Mensch täglich mutagene Aktivitäten zu sich nimmt, zeigt die Arbeit von Augustsson et al. (8). Dabei wurde über den Verzehr von Fleisch eine mittlere tägliche Aufnahme von 862 Revertanten berechnet.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Von diesen mutagenen Substanzen sind Glu-P1, Glu-P2, IQ, MeIQ und PhIP als in Tierversuchen dickdarmkrebsverursachende Substanzen bekannt (4).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Aflatoxin B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> im Futter werden im Stoffwechsel der Kuh zu Aflatoxin M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> umgewandelt und als solche in die Milch ausgeschieden (6).

## Abbildung 1 Einige, im Text erwähnte mutagene Substanzen

Name	Abkürz.	Formel	Ursprung	
Pyrolysatprodukte des Tryptophans: 3-Amino-1,4-dimethyl- 5 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i> ]indol	Trp-P1	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> OH <sub>3</sub>	Verarbeitung von Lebensmit- teln (Fleisch) (3)	
3-Amino-1-methyl-5 <i>H-</i> pyrido[4,3- <i>b</i> ]indol	Trp-P2	CH3 NH2		
2-Amino-3-methylimi- dazo-[4,5-IQf]-chinolin		NH <sub>2</sub>	Verarbeitung von Lebensmit- teln (Fleisch) (3)	
N-Methyl-N'-nitro- N-nitrosoguanidin	MNNG	NO <sub>2</sub> NHC(:NH)N (NO)CH <sub>3</sub>	synthetisch	
Benzo[a]pyren	B[a]P		Umwelt und Verarbeitung von Lebensmit- teln	
2-Amino-6-methyl- dipyrido [1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i> ]- imidazol	Glu-P1	CH <sub>3</sub>	Glutaminsäure- Pyrolysat (3)	
2-Amino-dipyrido [1,2-a:3',2'-d]-imidazol	Glu-P2	NH2		
2-Amino-3,4-dimethyl- imidazo[4,5-f]chinolin	MeIQ	NH2 OH3	Verarbeitung von Lebensmit- teln (3)	
2-Amino-1-methyl- 6-phenylimidazol [4,5-b]pyridin	PhIP	CH3 NH2	Verarbeitung von Lebensmit- teln	
4-Nitrochinolin 1-oxid	NQO		synthetisch	
Aflatoxin B <sub>1</sub>	AFB		mikrobiell	

Neben den mutagen wirkenden Substanzen kommen in Lebensmitteln auch antimutagen wirkende Substanzen oder Aktivitäten vor. Nach *Bronzetti* (9) bezeichnet der Begriff antimutagen die Eigenschaft einer Substanz, die Anzahl an spontanen oder induzierten Mutationen zu reduzieren. Es werden zwei Typen unterschieden: die Desmutagene und die Bioantimutagene. Bei den Desmutagenen wird eine Interaktion des Mutagens mit der DNA verhindert, und bei den Bioantimutagenen werden die Wirkungen eines Mutagens reduziert, indem die induzierten Änderungen der Zelle rückgängig gemacht werden. Als antimutagene Nahrungsmittelbestandteile werden β-Carotin, Vitamin E und C, Glutathion, Vanillin, Zimtaldehyd, Chlorophyll, Diallylsulfid, Selen und Magnesium erwähnt. Ihre antimutagene Wirkung besteht meist darin, dass sie als Antioxidantien oder als Nitritfänger, also als Desmutagene wirken (9). Die Mechanismen, die den Organismus vor mutagenen Substanzen schützen, wurden von de Flora (10) zusammengestellt.

Für verschiedene Lebensmittel wie Gemüse und Früchte, Propolis, Apfelsaft, Tee, Bier und andere alkoholische Getränke (9, 11–20) wurde bereits eine antimutagene Wirkung nachgewiesen. Diese Arbeit fasst die entsprechende Literatur für Milch, Milchbestandteile, Sauermilchprodukte und Milchsäurebakterien zusammen.

### Nachweis einer antimutagenen Wirkung von Lebensmitteln und Lebensmittelbestandteilen

Für den Nachweis mutagener oder antimutagener Eigenschaften einer Substanz werden Kurzzeitmutagenitätstests wie der Ames-Test verwendet (21, 22). Ein histidinabhängiger Salmonella (S.) typhimurium-Stamm (empfindlich auf Frameshift-Mutagene oder Basenpaar-Substitution-Mutagene) wird durch mutagene Substanzen histidinunabhängig. Damit kann er auf einem Mangelnährboden wachsen. Die Anzahl der Kolonien wird mit der Anzahl auf der Kontrollplatte verglichen. Eine Substanz wird als mutagen bezeichnet, wenn sich die Mutationsrate gegenüber der Kontrolle verdoppelt (3). Um den Säugetierstoffwechsel von Substanzen zu simulieren, kann bei diesem Test auch eine mikrosomale Fraktion von Rattenleberhomogenaten (S-9-Fraktion) eingesetzt werden. Eine antimutagene Wirkung wird durch eine Verminderung der Anzahl von Revertantenkolonien dargestellt. Experimentell werden die Zellsuspensionen von S. typhimurium mit dem zu prüfenden Agens und dem Mutagen inkubiert. Die antimutagene Wirkung wird als prozentuale Hemmung der Mutationsrate angegeben<sup>3</sup>. Ein weiterer Test ist der E. coli-DNA-Reparatur-Test (23).

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Hemmung in % =  $[1 - (x - b)/(y - b)] \times 100$ 

x = Anzahl der mutageninduzierten his<sup>+</sup>-Revertanten bei Anwesenheit der antimutagen wirkenden Substanz oder Bakterien.

y = Anzahl der mutageninduzierten his<sup>+</sup>-Revertanten bei Abwesenheit der antimutagen wirkenden Substanz oder Bakterien (positive Kontrolle).

b = Anzahl der spontanen his<sup>+</sup>-Revertanten in Abwesenheit der antimutagen wirkenden Substanz oder Bakterien (negative Kontrolle).

Die Mutagenität einer Substanz ist eine Form der Genotoxizität und korreliert mit dieser (24). Letztere wird mit Hilfe des Schwester-Chromatid-Austausch-Tests nachgewiesen, wobei diese mit einem Säugetierzellsystem, beispielsweise Hamsterzellen, durchgeführt wird.

#### Milch

Eine antimutagene Wirkung von Magermilch und Vollmilch gegenüber der pfefferinduzierten Mutagenese wurde von Hosono et al. (25) nachgewiesen. Halbentrahmte UHT-Milch zeigte beim Test mit S. typhimurium TA98 und TA100 gegenüber<sup>4</sup> den direkten Mutagenen NQO, 2-Nitrofluoren und den drei Substanzen Quercetin, AFB und B[a]P, die erst nach metabolischer Aktivierung wirken, eine antimutagene Wirkung von 40, 20, 54, 47 und 65 % (26). Eine Hemmung liess sich auch mit Magermilch bei der von B[a]P-induzierten Mutagenese mit S. typhimurium TA98 nachweisen und betrug bei 100 µl Probe im Inkubationsmedium 54 %, bei 200 µl 57 % und bei 500 µl 75 % (27). Milch weist gegenüber Terasi<sup>5</sup> eine antimutagene Wirkung von etwa 29 % auf (29). Die antimutagene Wirkung von Magermilch und gesäuerter Magermilch (mit Milchsäure auf pH 5,0) gegenüber erhitzten Taucos<sup>6</sup> war signifikant nicht verschieden (30). Während der Lagerung von 28 Tagen bei 4°C veränderte sich die antimutagene Wirkung von unfermentierter, mit L. gasseri ergänzter Milch gegenüber Trp-P1 nicht (31).

Demgegenüber wies ein japanisches Milchprodukt, das durch Eindampfen von Milch auf 1:10 konzentriert wurde, eine starke mutagene Wirkung auf (32). Nach Aktivierung der mikrosomalen S-9-Fraktion stellten *Green* et al. (33) eine mutagene Wirkung von kommerziell erhältlicher sterilisierter Milch (1 s bei 135°C und anschliessend 20 min bei 117°C) fest. Keine mutagene Wirkung wiesen dagegen *Sekizawa* und *Shibamoto* (34) in pasteurisierter (30 min bei 65°C) und ultrahocherhitzter (2 s bei 120 und 140°C) Milch sowie in Dichlormethanextrakten von stark erhitzter (5 h bei 100, 135, 150°C) Milch nach. Diese Ergebnisse bestätigten eingehende Untersuchungen von *Berg* et al. (35) mit sterilisierter Milch (10, 20, 30 und 40 min bei 117°C) wie auch mit UHT-Milch, in einer Pfanne angebrannter Vollmilch, Magermilch und laktosefreier Magermilch. Maillard-Reaktionsprodukte können antimutagen (36–39), aber auch mutagen (29, 40, 41) wirken.

In verschiedenen Untersuchungen wurden Milch, Joghurt oder mit Milchsäurebakterien fermentierte Milch mit Aceton oder Ethylacetat extrahiert<sup>7</sup>. Solche Extrakte von Magermilch verhinderten die mutagene Wirkung von NQO und 2-

<sup>5</sup> Terasi ist eine indonesische Würze aus fermentierten Fisch und Garnelen mit starker mutagener Wirkung (28).

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> «Gegenüber» meint in diesem Falle eine durch diese Substanzen induzierte Mutagenität.

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Tauco ist in Indonesien ein traditionelles fermentiertes Lebensmittel aus gelben Sojabohnen, das nach dem Erhitzen eine mutagene Wirkung aufweist.

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Mit einer solchen Extraktion werden apolare Komponenten gewonnen. Ob es sich dabei um die volle antimutagene Wirkung von Milch und Joghurt handelt, ist fraglich.

Aminofluoren nicht (42). Dagegen zeigte ein Acetonextrakt von Magermilch eine schwache antimutagene Wirkung gegenüber MNNG und 3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenol (DMAB): zwischen 10 bis 21 % bei der tiefsten und 34 bis 36 % bei der höchsten verwendeten Konzentration dieses Acetonextraktes (43, 44). Acetonextrakte von Magermilch, die mit Milchsäure versetzt oder mit aus Joghurt gewonnenen Bakterienzellen oder Milchsäure und Zellen versetzt wurden, unterschieden sich in der antimutagenen Wirkung gegenüber MNNG und DMAB bei der höchsten eingesetzten Konzentration nicht von unbehandelter Milch (44).

#### Sauermilchprodukte

Joghurt

Zehn Joghurtproben von sieben verschiedenen Herstellern, darunter eine mit Lactobacillus (L.) acidophilus und Bifidobakterien, jedoch nicht Buttermilch, Kefir und Dickmilch, waren antimutagen gegenüber nitriertem Rindfleischextrakt. Zwei Joghurtproben, die nacherhitzt wurden, zeigten keine und zwei Proben mit L. acidophilus/Bifidusbakterien nur eine geringe antimutagene Wirkung. Joghurt, hergestellt mit L. delbrueckii ssp. bulgaricus und Streptococcus (Str.) thermophilus war stärker antimutagen als L. acidophilus und Bifidobakterien enthaltende Sauermilchprodukte (45). Eine mit Str. thermophilus oder L. bulgaricus fermentierte Milch wirkte gegenüber 2-(2-Furyl)-3-(5nitro-2-furyl)acrylamid (AF-2) und NQO wie auch gegenüber den Fecesextrakten von Affen, Katze und Hund antimutagen (46). Der Chromosomen-Aberrations- wie auch der Mikronukleus-Test zeigten starke antiklastogene Wirkung, wenn Joghurt gleichzeitig mit der mutagenen Substanz Busulfan an Hamster verabreicht wurde (47).

Versuche mit verschiedenen, durch Milchsäurebakterien fermentierte Milchen

Eine antimutagene Wirkung gegenüber NQO und dem Wasserextrakt von Hundefeces wurde mit Str. faecalis, Str. lactis und L. bulgaricus gesäuerter Milch beobachtet, nicht aber mit Milchsäure (48). Gegenüber erhitzten Taucos zeigte mit L. acidophilus-Stämmen fermentierte Milch eine antimutagene Wirkung (30). Sämtliche Milchproben, die mit 71 verschiedenen Milchsäurebakterien-Stämmen (Lactobacillus, Streptococcus, Lactococcus (Lc.), Bifidobacterium) fermentiert wurden, zeigten in vitro gegenüber Trp-P2 (49) und MNNG (50) antimutagene Wirkungen, die vom eingesetzten Stamm abhängen (Tabelle 1). So wies beispielsweise die mit L. acidophilus-Stämmen LA102 und LA112 vergorene Milch eine Inhibitionsrate von 3 resp. 10% gegenüber Trp-P2 (49) und von 26 und 31% gegenüber MNNG (50) auf. Während der Inkubation nahm die Hemmungsrate bis zu einer Inkubationszeit von 18 h zu (49, 50). Milch, die mit L. acidophilus LA106 (51) oder mit zwei Bifidobakterien-Stämmen (Bifidobacterium (B.) bio Danone 173010, B. sp. CIRDC Danone 163040) und L. helveticus (Danone 119028) (26) vergoren wurde, hemmte in unterschiedlichem Masse die mutagene Wirkung von AFB (79%) (51)

Tabelle 1
Antimutagene Wirkung von mit verschiedenen Milchsäurebakterien fermentierter Milch gegenüber Trp-P2 (49) und MNNG (50)<sup>1</sup>

Milch, fermentiert mit	$n^2$	Prozentuale Hemmung verschiedener Stämme <sup>3</sup> gegenüber		
		Trp-P2	MNNG	
L. helveticus	7	26, 39, 50, 6, 47, 13, 27	35, 40, 52, 40, 24, 16, 30	
L. delbrueckii ssp. bulgaricus	10 40, 33, 19, 17, 40, 31, 18, 16, 46, 33		15, 40, 32, 35, 58, 27, 24,	
			27, 23, 40	
L. acidophilus	12	39, 3, 35, 17, 21, 82, 40, 27,	54, 26, 54, 28, 37, 77, 46,	
	29, 41, 28, 10		56, 58, 40, 31, 31	
L. casei ssp. casei	2	33, 15	61, 57	
L. casei ssp. rhamnosus	2	60, 36	56, 23	
L. salivarius ssp. salivarius	1	24	47	
L. plantarum	2	8, 15	27, 28	
L. salivarius ssp. thermophilus	22	7, 38, 20, 6, 25, 26, 15, 25,	44, 32, 36, 42, 35, 27, 28, 29	
		22, 15, 20, 7, 14, 11, 5, 33,	28, 37, 34, 38, 34, 38, 25, 44,	
		27, 25, 40, 32, 47, 12	43, 42, 39, 45, 43, 32	
L. salivarius ssp. salivarius	1		51	
Str. bovis	1	44	41	
Lc. raffinolactis	1	31	39	
Lc. lactis ssp. lactis	4	47, 76, 77, 27	44, 43, 41, 42	
Lc. lactis ssp. diacetylactis	1	41	38	
Lc. lactis ssp. cremoris	4	14, 14, 10, 3	39, 35, 35, 44	
B. longum	1 -	19	24	
B. sp.	2	34, 5		
Enterococcus faecalis	2	14, 5		
Enterococcus faecium	2	7, 17		

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Der verwendete Antimutagenitätstest unterscheidet sich in diesen beiden Arbeiten dadurch, dass bei den Versuchen mit Trp-P2 noch zusätzlich ein angereichertes Mikrosomenpräparat und der Sal. typhimurium-Stamm TA98 (49) und in der anderen Arbeit (50) der Sal. typhimurium-Stamm TA100 eingesetzt wurden.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Anzahl der eingesetzten Stämme

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> In beiden Studien wurden mit wenigen Ausnahmen die gleichen Milchsäurebakterienstämme verwendet: die Resultate der gleichen Stämme entsprechen sich in den beiden Kolonnen.

L. = Lactobacillus; Str. = Streptococcus; Lc. = Lactococcus; B. = Bifidobacterium

wie auch diejenige von NQO (60%), 2-Nitrofluoren (25 bis 50%), B[a]P (40 bis 60%), AFB (30 bis 40%) und Quercetin (unter 40%) (26). Eine mit Bifidobacterium sp. bio (Stamm Danone 172010) fermentierte Milch zeigte eine dosisabhängige Hemmung der durch B[a]P-induzierten Mutagenese (27). Milch, einzeln mit drei B. longum-Stämmen fermentiert, wirkte gegenüber Trp-P1 und Trp-P2 antimutagen (52). Viili, eine mit Lc. lactis ssp. cremoris fermentierte, zähflüssige Milch, erniedrigte die mutagene Wirkung von nitrosiertem Rindfleischextrakt um 40%, aber auch eine nicht fadenziehende fermentierte Milch zeigte dieselbe Wirkung (53). Milchen, die einzeln mit verschiedenen, aus Dadih (indonesische Sauermilch) isolierten Milchsäurebakterien (L. casei ssp. casei, Leuconostoc paramesenteroides, Enterococcus faecalis ssp. liquefaciens, Lc. lactis ssp. lactis) fermentiert wurden, hemmten die durch Terasi- oder durch Terasi-Starter-induzierte Mutagenität (29). Ebenso wurde die mutagene Wirkung von MNNG, Nitrovin und 5-Nitro-2-Furylacrylsäure durch mit Enterococcus faecium fermentierte Milch mit 20 bis 40% gehemmt (54).

Eine stärkere antimutagene Aktivität gegenüber Trp-P2, MNNG, B[a]P, AF-2 und AFB wies eine Milch auf, die mit verschiedenen Milchsäurebakterien in Gegenwart von Saccharomyces cerevisiae vergoren wurde, als die mit einem einzelnen Milchsäurebakterienstamm wie B. longum, L. delbrueckii ssp. lactis, L. delbrueckii ssp. bulgaricus, L. acidophilus oder Str. salivarius ssp. thermophilus und Saccharomyces cerevisiae vergorene Milch (55). Sauermilch, die mit den Joghurtkulturen L. bulgaricus und Str. thermophilus sowie mit L. acidophilus und B. bifidum hergestellt wurde, zeigte nach 30-minütiger Belüftung mit Stickstoff gegenüber der mutagenen Substanz Ethylmethansulfonat eine verminderte Genkonversion und Frequenz von Punktmutationen, nicht aber gegenüber Methylmethansulfonat (56).

#### Zeitverlaufsstudien

Nach zwölfstündiger Fermentation von Milch mit *L. helveticus* war deren antimutagene Aktivität gegenüber NQO von 12 auf 50 % und nach 24 Stunden auf 62 % angestiegen, dagegen war sie beim Einsatz eines proteasenegativen Stammes mit 13 bis 20 % nach 12 Stunden und 20 bis 40 % nach 24 Stunden deutlich tiefer, obwohl sich Wachstumsraten, Säureproduktion und die Stoffwechselaktivität zwischen diesen beiden Stämmen nicht unterschieden hatten. Diese Versuche weisen darauf hin, dass möglicherweise die proteolytische Aktivität der Milchsäurebakterien und die dadurch entstandenen Peptide für die erhöhte antimutagene Wirkung von fermentierten Milchprodukten verantwortlich sind (57). In Milch erreichte das Wachstum von *B. longum* nach 18 Stunden 10 % koloniebildende Einheiten/ml und nach 24 Stunden eine antimutagene Wirkung von 75 % gegenüber Trp-P1. Dagegen war beim Stamm PS der keine Polysaccharide bildete, die maximale Wirkung nach 24 Stunden erreicht, das stärkste Wachstum aber erst nach 36 Stunden, während der polysaccharidbildende Stamm PS dafür 48 Stunden benötigte. Die antimutagene Wirkung aller drei Stämme gegenüber Trp-P2 war etwas geringer als gegenüber Trp-P1 (52).

#### Extraktion des antimutagenen Prinzips mit Aceton oder Ethylacetat

Wie die Milch wurden auch Joghurt oder mit Milchsäurebakterien fermentierte Milch mit Aceton oder Ethylacetat behandelt. Der Einsatz dieser beiden Lösungsmittel geht auf Vorversuche von Rao et al. (58) zurück, die fanden, dass Aceton- oder Ethylacetatextrakte von fermentierter Milch antimutagene Aktivität aufwiesen. Acetonextrakte von Joghurt zeigten bei beiden eingesetzten S. typhimurium-Stämmen TA100 und TA97 gegenüber MNNG eine gleich starke antimutagene Wirkung, während gegenüber dem Mutagen DMAB der Stamm TA100 stärker gehemmt wurde als TA98, und gegenüber Methyl- und Ethylmethansulfonat sowie AFB wiesen sie mit dem Testsystem S. typhimurium TA100 keine, gegenüber 1,2,7,8-Diepoxyoctan nur eine schwache und gegenüber DMAB, Trp-P2 und NQO dagegen eine starke antimutagene Wirkung auf (44), was für NQO die Befunde von Bodana und Rao (42) bestätigten. Mit Saccharomyces cerevisiae D7 (Trp+- und Ile+-Gen-Revertanten) waren Acetonextrakte von Joghurt gegenüber NQO zweimal und gegenüber MNNG 25-mal stärker antimutagen als Milch (44). Aceton- und Ethylacetatextrakte von mit L. bulgaricus und Str. thermophilus vergorener Magermilch verhinderten die mutagene Wirkung von 4-Nitrochinolin-N-oxid und ω-Aminofluoren stärker als solche von Magermilch, die nur mit Str. thermophilus fermentiert wurde (42). Der Acetonextrakt von mit L. helveticus CH65, L. acidophilus B62FO4, Str. salivarius ssp. thermophilus CH3, L. delbrueckii ssp. bulgaricus 191R vergorener Magermilch (43) sowie von mit Str. thermophilus CH3-fermentierter Milch (59) verminderte die mutagene Wirkung von MNNG und DMAB in Abhängigkeit der eingesetzten Menge des Extraktes (43) resp. reduzierte die durch MNNG-induzierte DNA-Schädigung (59).

Joghurt (44) wie auch mit *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 191R oder *Str. salivarius* spp. *thermophilus* vergorene Milch (43) wurden vor der Acetonextraktion und der Gefriertrocknung von pH 4 auf pH 3, 7,6 oder 13 eingestellt und die Hemmung der DMAB und MNNG-induzierten Mutagenese miteinander verglichen. Die aus Joghurt extrahierte MNNG-spezifische Aktivität war gegenüber einer pH-Einstellung unempfindlich, während die DMAB-spezifische Aktivität bei einem pH-Wert von 3 am stärksten war (44). Die bei pH 7,6 aus *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* vergorener Milch isolierte MNNG-spezifische Aktivität war deutlich schwächer als diejenige bei pH 3 und 13, während die pH-Einstellung die Hemmung gegenüber DMAB nicht beeinflusste (43).

Der in Wasser gelöste Acetonextrakt der Milch, die mit den drei oben erwähnten B. longum-Stämmen fermentiert wurde, zeigte eine geringere Hemmung gegenüber Trp-P1 als der in DMSO gelöste Acetonextrakt. Dabei fiel der Stamm PS<sup>+</sup> auf, dessen antimutagene Wirkung in dem in Wasser gelösten Acetonextrakt deutlich geringer war als bei der mit diesem Stamm fermentierten Milch. Es wird von den Autoren vermutet, dass diese Wirkung teilweise dem von diesem Stamm gebildeten, aber nicht durch Aceton extrahierten Polysaccharid zugesprochen werden muss. So

zeigte eine Polysaccharidlösung von 60 µl eine 89 %ige Hemmung der Mutagenität von Trp-P1 (52).

#### In-vivo-Versuche

Mit L. acidophilus LA-2 fermentierte Milch wurde sechs Versuchspersonen verabreicht und deren Kot mit dem Ames-Test getestet. Vor dem Verzehr betrug im Mittel die Anzahl der His+-Revertanten pro 100 g Kot 151,3±100,2 und nach dem Verzehr  $42,5\pm12,5$ . Dies entspricht einer statistisch signifikanten (p < 0,01) Verminderung der Mutagenität um 71,9% (Bereich 19,4 bis 90,6%). Eine Analyse der bakteriellen Zusammensetzung der Darmflora zeigte eine signifikante Zunahme im Kot an Laktobazillen und Bifidobakterien (60). Lidbeck et al. (61) verabreichten elf Versuchspersonen gebratene Hamburger und in einer ersten Phase Lc. cremorisfermentierte Milch sowie in einer zweiten Phase L. acidophilus-fermentierte Milch. Am dritten Tag der zweiten Phase wurde über die Feces und Urin eine um 47 % geringere Ausscheidung an mutagenen Substanzen festgestellt als am gleichen Tage der ersten Phase. Bei zehn gesunden Versuchspersonen, die gekochtes Hackfleisch verzehrten, war während des Verzehrs von mit Bifidobakterien gesäuerter Milch die Mutagenität in Urin tiefer als vor oder nach der Versuchsperiode (62). Da diese Resultate an wenigen Versuchspersonen gewonnen wurden, sind jedoch weitere Studien an Menschen erforderlich, die diese positiven Resultate bestätigen werden.

#### Käse

Käse hemmt die Wirkung von mutagenen Substanzen<sup>8</sup> aus mit Nitrit behandelten Vicia faba um 44%. Wurde der Käse mit Leichtpetrol oder Leichtpetrol und Chloroform oder zusätzlich zu letzteren mit Methanol und Wasser extrahiert, erhöhte sich die Hemmung der mutagenen Wirkung auf 88 bis 91% und erreichte damit den Wert des Kaseins (88%). Käse scheint ein sehr wirkungsvoller Inhibitor der oben erwähnten Mutagenität zu sein, denn 62,5 mg gefriergetrockneter entfetteter Käse (entsprechend 150 mg Käse) hemmten die mutagene Wirkung von 62,5 mg gefriergetrockneten nitrierten Favabohnen (entsprechend 320 mg frische Bohnen). Die antimutagene Wirkung von Käse ist praktisch pH-unabhängig (65).

Unter neun Käsen wiesen Camembert, Blauschimmelkäse, Emmentaler, Gruyère und Pont l'Evèque gegenüber dem Trp-P1 eine stärkere antimutagene Wirkung auf als Cheddar, Gouda, Edamer und Parmesan. Camembert und Blauschimmelkäse erreichten bei einer Menge von 150 und 250 µl Käsesuspension<sup>9</sup> eine 100 %ige Hemmung, während es bei den anderen Käsen bei einer solchen von 350 µl Käse-

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Bei dieser mutagenen Substanz soll es sich nach *Piacek-Llanes* und *Tannenbaum* (63) um N-Nitrosoharnstoff und nach *Yang* et al. (64) jedoch um 4-Chlor-6-methoxy-2-hydroxy-1-nitroso-indolin-3-on-oxim handeln.

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Für die Herstellung dieser Käsesuspension wurden 2g Käse in 98g destilliertem Wasser homogenisiert (67).

suspension die folgenden Werte ergab: Cheddar 69,8, Gouda 64,6, Edam 61,1, Parmesan 74,7, Emmental 89,3, Gruyère 100 und Pont-l'Evèque 93,0% (66). Bei Camembert zeigte sich eine mit der Reifung ansteigende antimutagene Wirkung gegenüber dem Trp-P1. Bei einer Käsekonzentration von 1% stieg diese von 18,5% nach der ersten Woche auf 64,4% nach der vierten Woche an, bei einer Käsekonzentration von 2% war diese bei Beginn der Reifung bereits 91,1% und erreichte nach drei Wochen Reifung 100%. Diese Wirkung wird verschiedenen, während der Reifung entstandenen Hydrolyseprodukten des Kaseins wie auch den als Starterkulturen verwendeten Milchsäurebakterien zugeschrieben (67).

Verschiedene Käse wurden mit einer Mischung von Methanol-Wasser extrahiert und auf einer Ionenaustauschersäule gereinigt. Mit Salmonella typhimurium-Stämmen wurde die mutagene Wirkung sowie mit den rec- (Bacillus subtilis rec+ und rec-) und umu (biochemische Prophagen-Induktions)-Methoden die Genotoxizität dieses «Käseextraktes» ermittelt. Bei Gorgonzola, Pecorino Romano, Parmesan, Roquefort, Blauschimmelkäse, Stilton und Fourme d'Ambert war eine hohe Mutagenität (über 1000 revertante Kolonien) und Genotoxizität feststellbar, während sie für Gruyère, Cantal, Edamer, Neufchatel und Limburger mässig und für Rahmund Hüttenkäse sowie Amsterdam, Camembert, Brie, Münster, Cheddar, Gouda und Emmentaler nicht vorhanden waren. Dabei hemmten Myristin- und Ölsäure die Mutagenität des «Käseextraktes», was mit der Interferenz der Fettsäuren bei der Aufnahme des Mutagens in die Zelle erklärt wird (68).

#### Kasein

Auch Kasein zeigt eine antimutagene Wirkung. Im Salmonella/Mikrosomen-Test erzeugte Natriumkaseinat bei 10 mg/Platte gegenüber der durch NQO (5 nmol/Platte)-induzierten Mutagenität eine Hemmung von etwa 40 % und gegenüber dem nitrosierten 4-Chlorindol (2 nmol/Platte) eine solche von etwa 70 % (23). Kasein (35, 65) wie auch ein Kasein/Laktose-Modellsystem (35) reduzierten die Mutagenität von NQO und MNNG, ebenso diejenige von N-Nitroso-Verbindungen (65) und von B[a]P (27). Gegenüber erhitztem Tauco war Natriumkaseinat nur schwach antimutagen und war bei gleicher Proteinmenge geringer als diejenige von Milch, gesäuerter oder fermentierter Milch (30). Nach Vis et al. (69) war Natriumkaseinat gegenüber MNNG im E. coli-Flüssig-Suspension-Test antimutagen. Gewisse Gewürze wie Pfeffer können gegenüber einem auf Streptomycin angewiesenen Stamm von S. typhimurium mutagen wirken. Mit Hilfe eines solchen Kurzzeitmutagenitätstests konnte von Hosono et al. (25) eine antimutagene Wirkung des Gesamtkaseins nachgewiesen werden. Unter den einzelnen Proteinen zeigte das β-Kasein die stärkste antimutagene Wirkung, gefolgt vom Rinderserumalbumin, Gesamtkasein und von α<sub>s1</sub>-Kasein, während das κ-Kasein gegenüber der Kontrolle (Wasser-Pfeffer) nur eine geringe Aktivität aufwies (65).

Kasein hemmte den durch NQO- wie auch durch MNNG-induzierten Schwester-Chromatid-Austausch (24) (Tabelle 2). Im E. coli-DNA-Reparatur-Test

Mitt. Lebensm. Hyg. 92 (2001)

Tabelle 2
Prozentuale Hemmung der Mutagenität durch Kasein und Serumalbumin, unhydrolysiertes und Pepsin-hydrolysiertes
Kasein

Protein	Verwendetes Testsystem	Mutagen	Konzentration Protein	Prozentuale Hemmung		Lit.
				unhydrolysiert	hydrolysiert	
Kasein	SCA	NQO		78±13		(24)
Serumalbumin	SCA	NQO		$94 \pm 9$		(24)
Kasein SCA	SCA	MNNG	0,12% (w/v)	$40\pm6$	61 ± 6	(24)
		MNNG	0,23%	$63 \pm 12$	$73 \pm 1$	(24)
		MNNG	0,58%	$76 \pm 26$	$81 \pm 10$	(24)
		MNNG	1,15%	$83 \pm 24$	$84 \pm 2$	(24)
Ca-Kaseinat E. coli DNA Reparatur	E. coli DNA-	NQO	10 nmol/l	$94 \pm 3$		(23)
	Reparatur		20	$57 \pm 11$		(A)
			30	$21 \pm 4$		
		B[a]P	0,5 μmol/l	$71 \pm 19$		(23)
			1	$42 \pm 24$		EB
			2	$26 \pm 21$		
		NMU	0,8 mmol/l	$92 \pm 13$		(23)
			2,4	$71 \pm 10$		9.4
			4	$65 \pm 8$		

SCA = Schwester-Chromatid-Austausch

NQO = 4-Nitrochinolin 1-oxid

MNNG = N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin

B[a]P = Benzo[a]pyren

NMU = N-Nitroso-N-methylharnstoff

verminderte sich die antimutagene Wirkung gegenüber NQO, B[a]P und N-Nitroso-N-metylharnstoff mit höherer Kaseinmenge (23).

Nach Sasaki et al. (70) stellt sich die Frage, ob die bei der Milch mit Hilfe des Ames-Testes festgestellte antimutagene Wirkung nicht auch mit der Anwesenheit von Histidin im Milchprotein zu erklären ist. Diese Autoren hatten jedenfalls festgestellt, dass die Anzahl der S. typhimurium TA100-Kolonien von der Menge an Kaseinpeptiden abhing und dass die gleiche Menge an Histidin, wie sie in diesen Peptiden vorhanden war, zu ähnlichen Resultaten führte. Die Resultate anderer Tests zeigen jedoch, dass eine antimutagene Wirkung von Milch, Milchprodukten und Milchinhaltsstoffen vorhanden ist. Auch haben eigene Untersuchungen (vB) gezeigt, dass nur bei einer starken Proteolyse der Milch das Histidin freigesetzt wird, denn im nativen Milchprotein liegt das Histidin nur gebunden vor.

#### Hitzebehandlung des Kaseins

Über den Einfluss der Erhitzung auf die antimutagene Aktivität von Kasein existieren widersprüchliche Resultate. Nach unseren Resultaten (vB) unterschied sich die Hemmung von auf 90, 100, 110, 120 und 130°C während 10 min erhitztem Kasein gegenüber nitrosiertem 4-Chlorindol praktisch nicht von derjenigen von unerhitztem Kasein. Eine Erhitzung des Kaseins auf 130°C während 0 bis 20 min erhöhte sie von unter 80 auf gegen 100% (23). Dies wurde auch von Abdelali et al. (27) für hitzebehandeltes Kasein (10 mg/100 µl, 50, 70 und 95°C während 15 min) mit der B[a]P-induzierten Mutagenese bei S. typhimurium TA98 bestätigt. Auch Rogers et al. (71) fanden keine mutagene Wirkung in einem neutralen und basischen, wässerigen System von Kasein und Laktose nach Erhitzen von 2 oder 6 Stunden unter Rückfluss, was auch von Brands et al. (41) für das bei 120°C während 20, 40 und 60 min erhitzte Gemisch von Kasein und Laktose bestätigt wurde. Dagegen führte eine Hitzebehandlung des Kaseins auf 121°C während 15 Minuten zu einem Verlust der antimutagenen Aktivität, während eine solche bei 100°C und 15 Minuten noch eine Wirkung von 30% aufwies (25).

Da bei 180°C während 2 Stunden erhitztes Kasein bei Ratten das Wachstum von aberrant crypt foci und damit von mit Azoxymethan verursachtem Dickdarmkrebs erhöhte (72), wurde vermutet, dass die Pyrolyse des Proteins zu mutagenen Substanzen führen kann. Doch wirkte in gleicher Art erhitztes Kasein mit den S. typhimurium-Stämmen TA98 und TA1538 mit oder ohne metabolischer Aktivierung nicht mutagen (73). Demgegenüber zeigte nach Vis et al. (69) erhitztes Ovalbumin (60 s bei 60, 90, 120 und 180°C) eine antimutagene Wirkung gegenüber MNNG, nicht aber unerhitztes Ovalbumin, was mit der Denaturierung des Eiproteins und damit einer besseren Interaktion der mutagenen Substanz mit dem Protein erklärt werden kann.

#### Hydrolysiertes Kasein – Peptide

Die Inkubation von Kasein mit proteolytischen Enyzmen erzeugt verschiedene Peptide. Dabei wird dessen antimutagene Aktivität mit steigender pepsininduzierter Hydrolyse erhöht. Gegenüber NaN2 erhöht sie sich von unter 20 (Zeit 0) auf etwa 40% nach 50 min und gegenüber NQO von 10 auf unter 60% nach 20 min und auf etwa 50% nach 50 min (23). Dass pepsinhydrolysiertes Natriumkaseinat im *E. coli*-DNA-Reparatur-Test die Antimutagenität erhöht, konnte auch von *Vis* et al. (69) bestätigt werden. Auch zeigte sich dies für hydrolysiertes Ovalbumin und Sojaprotein, wobei eine antimutagene Wirkung beim nativen Sojaprotein nicht und beim nativen Ovalbumin nur zu 15% vorhanden war. Nach einer Hydrolyse des Natriumkaseinates (Hydrolysierungsgrad: 22%) erhöhte sich die antimutagene Wirkung deutlich gegenüber MNNG im *E. coli*-DNA-Reparatur-Test (69). Nach *Hosono* et al. (25) weist trypsinhydrolysiertes Kasein die gleiche antimutagene Aktivität wie unbehandeltes Kasein auf. Dagegen verliert vollständig hydrolysiertes Kasein seine Aktivität. Wurde das Kasein mit Säure oder mit Papain hydrolysiert, wurde keine antimutagene Wirkung mehr beobachtet (25).

Nach einer Fermentation der Milch mit *L. helveticus* während 24 Stunden bei pH 6,0 wurden die Milchproteine mit Ausschluss-HPLC fraktioniert und die dabei erhaltenen Peptide auf ihre antimutagene Aktivität gegenüber NQO getestet. Von den acht Hauptfraktionen zeigte die Fraktion 5 die höchste Aktivität. Diese Fraktion enthielt nach der Reinigung mit Umkehrphasen-HPLC vier Peptide, bei denen es sich um die Sequenzen 128 bis 130 (Thr-Leu-Thr), 177 bis 182 (Ala-Val-Pro-Tyr-Pro-Glu) und 183 bis 188 (Arg-Asp-Met-Pro-Ile-Glu) des β-Kaseins und um die Sequenz 124 bis 131 (Lys-Glu-Gly-Ile-His-Ala-Glu) des α-Kaseins handelte (57).

#### Bindung von mutagenen Substanzen durch Kasein

Gesamtkasein wie auch  $\alpha_s$ -,  $\beta$ - und  $\kappa$ -Kasein sind in der Lage, in vitro mit den mutagenen heterozyklischen Aminen Trp-P1, Trp-P2 und Glu-P1 eine Bindung einzugehen (74, 75). Dabei zeigte sich eine deutliche pH-Wirkung. Unterhalb eines pH-Wertes von 6,5 wurde die Bindung gegenüber Trp-P1 und Trp-P2 gehemmt und zeigte sich bei einem solchen von über 7,4 am stärksten. Gegenüber Glu-P1 war die Bindung zwischen pH 6,5 und 7,4 am stärksten und über pH 8,4 wie auch unter pH 5,5 minimal (74).

#### Verdauung

Kasein, verabreicht an Mäuse, verminderte die mutagene Aktivität von MNNG im Zwölffingerdarm, Jejunum, Caecum und Colon im Gegensatz zur Kontrolldiät und zum Sojaprotein. Wurde MNNG oral verabreicht, wurde im Magen keine schützende Wirkung festgestellt. Bei intraperitonealer Verabreichung von MNNG war die Mutagenität im Colon signifikant erhöht. Im weiteren wurden in den Inhalten der oben erwähnten Organe von mit Kasein und Sojaprotein gefütterten Mäusen mit Ausnahme des Magens eine starke Antimutagenität festgestellt (76, 77).

#### Molkenproteine

Rinderserumalbumin (Teil der Molkenproteine, Gehalt = 6% der gesamten Molkenproteine) hemmte den durch NQO-induzierten Schwester-Chromatid-Austausch, dagegen wirkten aber das gesamte Molkenprotein und das β-Laktoglobulin in diesem Test nicht (24) (Tabelle 2). Im Kurzzeitmutagenitätstests konnte von Hosono et al. (25) keine antimutagene Wirkung von Molke gefunden werden, dagegen von Jongen et al. (65) eine solche von 46% für Molkenprotein, vergleichbar mit derjenigen von Käse. Dabei betrug sie für Molkenprotein 63% bei pH 2 und unter 40% bei den pH-Werten 3, 4 und 5. Denaturiertes Molkenprotein wies dagegen bei pH 2 und 3 keine antimutagene Wirkung auf, wohl aber bei pH 4 und 5 eine solche von 25 und 40%.

In vitro binden  $\beta$ -Laktoglobulin und  $\alpha$ -Laktalbumin die drei mutagenen Substanzen Trp-P1, Trp-P2 und Glu-P1. Dabei zeigte sich beim  $\beta$ -Laktoglobulin eine pH-Abhängigkeit. Trp-P1 wurde oberhalb eines pH-Wertes von 6,5 zu mehr als 90% und Trp-P2 oberhalb von pH 7,4 zu mehr als 70% gebunden. Maximal war die Bindung mit Glu-P1 bei pH 7,4 (78). Dagegen band nach einer anderen Mitteilung der gleichen Arbeitsgruppe (75)  $\alpha$ -Laktalbumin Trp-P1 nicht. Weitere Molkenproteine wie Laktoperoxidase und Laktoferrin waren dazu jedoch in geringem Masse in der Lage. Es ist möglich, dass sich die heterozyklischen Amine mit der Thiolgruppe der Molkenproteine verbinden.  $\beta$ -Laktoglobulin besitzt zwei S-S-Bindungen des Cystins und eine freie Sulfhydrylgruppe und  $\alpha$ -Laktalbumin vier S-S-Bindungen, aber keine freie Sulfhydrylgruppe (79). In letzterem Falle müssten die S-S-Bindungen des  $\alpha$ -Laktalbumins reduziert werden.

#### Fette und Fettsäuren

Magermilch und Milch mit reduziertem Fettgehalt hemmten die durch B[a]P-induzierte Mutagenese mit 69 und 66 % (27). Damit scheint Milchfett keine antimutagene Wirkung aufzuweisen, was auch von *Pool-Zobel* et al. (45) bestätigt wurde. Dagegen wirkten Hexanextrakte von lipasebehandelter Milch in Abhängigkeit der eingesetzten Lipase antimutagen (80).

Unter vier organischen Säuren wirkte die Buttersäure gegenüber acht verschiedenen mutagenen Substanzen (gegenüber NQO, MNNG, Nitrofluoren, 4-Nitro-O-phenylendiamin mehr als 60%) am stärksten antimutagen, während Essigsäure (gegenüber NQO und Nitrofluoren mehr als 60%) höhere antimutagene Aktivitäten aufwies als Milch- (gegenüber NQO etwa 90%) und Brenztraubensäure (81). Auch wird der Buttersäure zugesprochen, dass sie präventiv gegenüber Dickdarmkrebs wirken (82) und in der Leber als eine wirkungsvolle, apoptoseinduzierende Substanz angesehen werden kann (83). Deren Einsatz zur Behandlung von Dickdarmkrebs wird bereits erwogen (84).

Die konjugierten Linolsäuren (CLA), die antikarzinogen wirken (85), weisen bei Konzentrationen bis zu 1 µg/ml keine Wirkung gegenüber einer durch MNNG-oder DMAB-induzierten Mutagenese auf (44) und auch nicht gegenüber 2-Amino-

3-methylimidazo[4,5-f]chinolin (IQ) (86). Doch konnte in Tierversuchen nachgewiesen werden, dass CLA die DNA-Addukt-Bildung mit IQ (87, 88) und PhIP (89) verhindert. Ursprünglich haben *Pariza* et al. (90, 91) in gebratenem Hackfleisch einen antimutagenen Faktor gefunden, der in der Folge als CLA identifiziert werden konnte (92, siehe auch 93). Diese Substanz wurde dann von der gleichen Arbeitsgruppe (94) auch im Milchfett nachgewiesen und ihre Anwesenheit im Milchfett von anderen Autoren mehrmals bestätigt (95–97).

Aus dem Acetonextrakt von Joghurt wurde eine anti-MNNG-Aktivität isoliert, die massenspektrometrisch als Palmitinsäure identifiziert wurde (98, 99). Die antimutagene Aktivität korreliert mit der Konzentration an freier Palmitinsäure in Joghurt (80). In diesen Untersuchungen wurden neben der Palmitinsäure noch verschiedene andere Fettsäuren auf eine Wirkung gegenüber einer MNNG-induzierten Mutagenese untersucht. Dabei zeigte die Isopalmitinsäure gegenüber 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen und NQO (99) wie auch gegenüber MNNG eine stärkere antimutagene Wirkung als die Palmitinsäure (98). Ausgehend vom Modell, dass die freie Palmitinsäure oder die freie Palmitin- und Stearinsäure die einzigen antimutagenen Substanzen in diesen Extrakten waren, zeigte sich zwischen der beobachteten und der erwarteten Hemmung der durch MNNG-induzierten Mutagenese eine gute Übereinstimmung (80). Dagegen hemmten weder Palmitinnoch Isopalmitinsäure die DNA-schädigende Wirkung von MNNG (59). Ob diese Befunde von praktischem Interesse sind, bedarf weiterer Untersuchungen, da der Gehalt der Milch an freien Fettsäuren nur gering ist und zudem Palmitinsäure nicht wasserlöslich ist. So erhöhte sich gegenüber der Ausgangsmilch die freie Palmitinsäure in mit L. delbrueckii ssp. bulgaricus fermentierter Milch um 6,8 % (100) und in Joghurt um 5,6% (101). Im getrocknetem Hexanextrakt von Joghurt fand sich freie Palmitinsäure in einer Konzentration von 17,1 gegenüber 7,9 mg/100 g in Milch (80).

#### Mineralstoffe

Da Kasein in der gleichen Menge, wie in der Milch vorhanden, nicht die gleiche antimutagene Hemmung bewirkte, haben *Abdelali* et al. (27) mit Calcium als weiterem Inhaltsstoff der Milch experimentiert. Calciumphosphat verminderte die durch B[a]P-induzierte Mutagenese bei 0,1 mg/100 µl um 22 % und bei 0,4 mg/100 µl auf 42 %. Sie schliessen daraus, dass die gesamte antimutagene Wirkung der Magermilch der zusätzlichen Aktivität von Kasein und Calcium entspricht.

#### Schlussfolgerung

Verschiedene Untersuchungen zeigen in vitro eine neue funktionelle Eigenschaft von Milch, Sauermilchprodukten und Käsen auf. Unter den Milchinhaltsstoffen weisen vor allem die Milchproteine und gewisse Fettsäuren eine antimutagene Wirkung auf. Trotz der wenigen Versuche ist anzunehmen, dass in vivo Sauermilchprodukte ebenfalls antimutagen wirken. Nach Cassand et al. (26) könnte mit drei

Hypothesen die antimutagene Wirkung von Milch und Sauermilchprodukten erklärt werden. Deren Inhaltsstoffe könnten als abfangende Substanzen die Verfügbarkeit von genotoxischen Agentien verhindern oder eine hemmende Wirkung auf die Aktivierung von indirekt wirkenden Mutagenen ausüben. In Sauermilchprodukten könnte die antimutagene Wirkung den Milchsäurebakterien zugeschrieben werden. Es ist möglich, dass die Milchproteine oder während der Vergärung entstandene Peptide mutagene heterozyklische Amine binden. Die resultierenden Reaktionsprodukte sind nicht mehr mutagen und werden dann über den Dickdarm ausgeschieden. Bosselaers et al. (24) spekulieren, dass die beiden antimutagenen Proteine Kasein und Serumalbumin als blockierende Agentien wirken, indem sie Interaktionen mit dem Mutagen eingehen. Nach Nadathur et al. (102) bestehen zwei Möglichkeiten, die Rolle der Sauermilchprodukte hinsichtlich ihrer antimutagenen Wirkung zu erklären. Inaktive Milchbestandteile können durch die Wirkung von Milchsäurebakterien in Antimutagene umgewandelt werden oder die Milch dient als neutrales Substrat für die Milchsäurebakterien, die während ihres Wachstums Antimutagene bilden oder mutagene Substanzen binden. Die in unvergorener Milch festgestellte antimutagene Wirkung kann mit der pH-abhängigen Bindung der mutagenen heterozyklischen Amine durch das Kasein erklärt werden.

#### Zusammenfassung

Verschiedene Substanzen in Lebensmitteln können im genetischen Material Mutationen verursachen. Daneben kommen in Lebensmitteln auch antimutagen wirkende Substanzen vor. Erkenntnisse der letzten Jahre haben gezeigt, dass Milch, Sauermilchprodukte und Käse sowie Milchproteine antimutagen wirken können. Die bei der Milch festgestellte Wirkung ist dem Milchprotein zuzuschreiben. Bei den Sauermilchprodukten kommt daneben der Anwesenheit der dabei eingesetzten Milchsäurebakterien eine zusätzliche Rolle zu.

#### Résumé

Différentes substances contenues dans les aliments peuvent modifier le matériel génétique et provoquer ainsi une mutation. En outre, il y a également dans les aliments des substances qui agissent en tant qu'antimutagènes. Les découvertes de ces dernières années ont démontré que le lait, les produits laitiers fermentés, le fromage ainsi que les protéines de lait peuvent également avoir des effets antimutagènes. Les effets constatés avec le lait sont à mettre sur le compte de la protéine lactique. En ce qui concerne les produits laitiers fermentés, les bactéries lactiques sont non seulement présentes mais elles ont en plus un effet antimutagène.

# Summary "Antimutagenic Activity of Dairy Products and of Bacteria used in Dairy Industry. Part 1. Milk, Fermented Dairy Products and Milk Components"

Different substances in food are able to induce mutations. In addition, the presence of substances in foods acting as antimutagens has been detected. Findings made in recent years have shown that milk, fermented dairy products and cheese as well as milk proteins may have an antimutagenic effect. The antimutagenic effect of milk is to be attributed mainly to milk protein. As regards to the fermented dairy products, the presence of the used lactic acid bacteria is an additional factor.

#### Key words

Antimutagenicity, Milk, Yogurt, Cheese, Casein, Whey protein

#### Literatur

- 1 Zeiger, E.: Carcinogenicity of mutagens: predictive capability of the Salmonella mutagenesis assay for rodent carcinogenicity. Cancer Res. 47, 1287–1296 (1987).
- 2 Glatt, H.R.: Ernährung und Krebs aus der Sicht des Toxikologen. Jahresbericht 1995, Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke, BKB Verlag Köln Berlin, 82–96 (1996).
- 3 *Uhde*, W.-J. und *Macholz*, R.: Mutagene Substanzen in Aminosäure- und Proteinpyrolysaten sowie hitzebehandelten Lebensmitteln. Nahrung 30, 59–73 (1986).
- 4 Nagao, M. and Sugimura, T.: Carcinogenic factors in food with relevance to colon cancer development. Mutat.Res. 290, 43-51 (1993).
- 5 White, R.D., Krumperman, P.H., Cheeke, P.R., Deinzer, M.L. and Buhler, D.R.: Mutagenic responses of tansy ragwort (Senecio jacobaea) plant, pyrrolizidine alkaloids and metabolites in goat milk with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. J. Anim. Sci. 58, 1245–1254 (1984).
- 6 Sieber, R. und Blanc, B.: Zur Ausscheidung von Aflatoxin M<sub>1</sub> in die Milch und dessen Vorkommen in Milch und Milchprodukten eine Literaturübersicht. Mitt.Geb.Lebensm. Hyg. 69, 477–491 (1978).
- 7 Jorgensen, K.V., Park, D.L., Rua, S.M. and Price, R.L.: Reduction of mutagenic potentials in milk: effects of ammonia treatment on aflatoxin-contaminated cottonseed. J. Food Protect. 53, 777–778 (1990).
- 8 Augustsson, K., Lindblad, J., Övervik, E. and Steineck, G.: A population-based dietary inventory of cooked meat and assessment of the daily intake of food mutagens. Food Addit. Contam. 16, 215–225 (1999).
- 9 Bronzetti, G.: Antimutagens in food. Trends Food Sci. Technol. 5, 390-395 (1994).
- 10 de Flora, S.: Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Mutat. Res. 402, 151–158 (1998).
- 11 Arimoto-Kobayashi, S., Sugiyama, C., Harada, N., Takeuchi, M., Takemura, M. and Hayatsu, H.: Inhibitory effects of beer and other alcoholic beverages on mutagenesis and DNA adduct formation induced by several carcinogens. J. Agric. Food Chem. 47, 221–230 (1999).
- 12 Edenharder, R., Kurz, P., John, K., Burgard, S. and Seeger, K.: In vitro effect of vegetable and fruit juices on the mutagenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline. Food Chem. Toxicol. 32, 443–459 (1994).

- 13 Ekasari, I., Jongen, W.M.F. and Pilnik, W.: Antimutagenic effects of apple juices: interference with heat load measurement by microbiological methods. J. Food Sci. 55, 1026-1028 (1990).
- 14 Shinohara, K., Kuroki, S., Miwa, M., Kong, Z.-L. and Hosoda, H.: Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. Agr. Biol. Chem. 52, 1369-1375 (1988).
- 15 Tang, X. and Edenharder, R.: Inhibition of the mutagenicity of 2-nitrofluorene, 3-nitrofluoranthene and 1-nitropyrene by vitamins, porphyrins and related compounds, and vegetable and fruit juices and solvent extracts. Food Chem. Toxicol. 35, 373–378 (1997).
- 16 Stavric, B., Matula, T.I., Klassen, R. and Downie, R.H.: The effect of teas on the in vitro mutagenic potential of heterocyclic aromatic amines. Food Chem. Toxicol. 34, 515–523 (1996).
- 17 Cizmarik, J. and Lahitova, N.: Antimutagenicity of propolis. Pharmazie 53, 883-884 (1998).
- 18 Yamada, J. and Tomita, Y.: Antimutagenic activity of water extracts of black tea and oolong tea. Biosci. Biotechnol. Biochem. 58, 2197–2200 (1994).
- 19 Yen, G.C. and Chen, H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food Chem. 43, 27–32 (1995).
- 20 Kuroda, Y. and Hara, Y.: Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. Mutat. Res. 436, 69–97 (1999).
- 21 Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test. Mutat. Res. 31, 347–364 (1975).
- 22 Maron, D.M. and Ames, N.B.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat. Res. 113, 172-215 (1983).
- 23 van Boekel, M.A.J.S., Weerens, C.N.J.M., Holstra, A., Scheidtweiler, C.E. and Alink, G.M.: Antimutagenic effects of casein and its digestion products. Food Chem. Toxicol. 31, 731–737 (1993).
- 24 Bosselaers, I.E.M., Caessens, P.W.J.R., van Boekel, M.A.J.S. and Alink, G.M.: Differential effects of milk proteins, BSA and soy protein on 4NQO- or MNNG-induced SCEs in V79 cells. Food Chem. Toxicol. 32, 905–909 (1994).
- 25 Hosono, A., Shashikanth, K.N. and Otani, H.: Antimutagenic activity of whole casein on the pepper-induced mutagenicity to streptomycin-dependent strain SD 510 of Salmonella typhimurium TA 98. J. Dairy Res. 55, 435–442 (1988).
- 26 Cassand, P., Abdelali, H., Bouley, C., Denariaz, G. and Narbonne, J.F.: Inhibitory effect of dairy products on the mutagenicities of chemicals and dietary mutagens. J. Dairy Res. 61, 545–552 (1994).
- 27 Abdelali, H., Cassand, P., Soussotte, V., Koch-Bocabeille, B. and Narbonne, J.F.: Antimutagenicity of components of dairy products. Mutat. Res. 331, 133-141 (1995).
- 28 Surono, I.S. and Hosono, A.: Bacterial mutagenicity of terasi and antimutagenicity of Indonesian jasmine tea against terasi. Int. J. Food Microbiol. 32, 49–58 (1996).
- 29 Surono, I.S. and Hosono, A.: Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria from Dadih against mutagenic Terasi. Milchwissenschaft 51, 493–497 (1996).
- 30 Usman and Hosono, A.: Desmutagenicity of milk cultured with Lactobacillus acidophilus strains against mutagenic heated tauco. Food Chem. Toxicol. 36, 805-810 (1998).
- 31 Usman and Hosono, A.: Viability of Lactobacillus gasseri and its cholesterol-binding and antimutagenic activities during subsequent refrigerated storage in nonfermented milk. J. Dairy Sci. 82, 2536–2542 (1999).
- 32 Yamada, M., Nakazawa, Y. and Hosono, A.: (Mutagenicity of "So", a heat concentrated and coagulated milk product). Jap. J. Dairy Food Sci. 41, A-127-A-131 (1992), zitiert nach Dairy Sci. Abstr. 55, 170 (1993).
- 33 Green, M., Ben-Hur, E., Riklis, E., Gordin, S. and Rosenthal, I.: Application of mutagenicity test for milk. J. Dairy Sci. 63, 358–361 (1980).
- 34 Sekizawa, J. and Shibamoto, T.: Salmonella/microsome mutagenicity tests of heat-processed milk samples. Food Chem. Toxicol. 24, 987–988 (1986).

- 35 Berg, H.E., van Boekel, M.A.J.S. and Jongen, W.M.F.: Heating milk: a study on mutagenicity. J. Food Sci. 55, 1000–1003 (1990).
- 36 Hosono, A., Usman and Ohba, R.: Inhibitory activity of Maillard reaction products against Trp-P1-induced mutagenicity to the Salmonella typhimurium TA 98 streptomycin-dependent strain assayed in the absence of S-9 mix. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61, 424–426 (1997).
- 37 Usman and Hosono, A.: Antimutagenic activity of Maillard reaction products against mutagenic heated tauco. Ital. J. Food Sci. 9, 267–276 (1997).
- 38 Yen, G.-C. and Lii, J.-D.: Antimutagenic effect of Maillard reaction products prepared from glucose and tryptophan. J. Food Protect. 55, 615–619 (1992).
- 39 Yen, G.-C., Tsai, L.-C. and Lii, J.-D.: Antimutagenic effect of Maillard browning products obtained from amino acids and sugars. Food Chem. Toxic. 30, 127–132 (1992).
- 40 *Hosono*, *A.* and *Shirai*, *H.:* Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria against the heated solution of cysteine-glucose. Anim. Sci. Technol. **67**, 1076–1081 (1996).
- 41 Brands, C.M.J., Alink, G.M., van Boekel, M.A.J.S. and Jongen, W.M.F.: Mutagenicity of heated sugar casein systems: Effect of the Maillard reaction. J. Agric. Food Chem. 48, 2271–2275 (2000).
- 42 Bodana, A.R. and Rao, D.R.: Antimutagenic activity of milk fermented by Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus. J. Dairy Sci. 73, 3379–3384 (1990).
- 43 Nadathur, S.R., Gould, S.J. and Bakalinsky, A.T.: Antimutagenicity of fermented milk. J. Dairy Sci. 77, 3287–3295 (1994).
- 44 Nadathur, S.R., Gould, S.J. and Bakalinsky, A.T.: Antimutagenicity of an acetone extract of yogurt. Mutat. Res. 334, 213–224 (1995).
- 45 Pool-Zobel, B.L., Münzner, R. and Holzapfel, W.H.: Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in the S. typhimurium mutagenicity assay. Nutr. Cancer 20, 261–270 (1993).
- 46 Hosono, A., Kashina, T. and Kada, T.: Antimutagenic properties of lactic acid-cultured milk on chemical and fecal mutagens. J. Dairy Sci. 69, 2237–2242 (1986).
- 47 Renner, H.W. and Münzner, R.: The possible role of probiotics as dietary antimutagens. Mutat. Res. 262, 239–245 (1991).
- 48 Hosono, A., Sagae, S. and Tokita, F.: Desmutagenic effect of cultured milk on chemically induced mutagenesis in Escherichia coli B/r WP2 trp-hcr-. Milchwissenschaft 41, 142–145 (1986).
- 49 Hosoda, M., Hashimoto, H., Morita, H., Chiba, M. and Hosono, A.: Studies on antimutagenic effect of milk cultured with lactic acid bacteria on the Trp-P2-induced mutagenicity to TA98 strain of Salmonella typhimurium. J. Dairy Res. 59, 543-549 (1992).
- 50 Hosoda, M., Hashimoto, H., Morita, H., Chiba, M. and Hosono, A.: Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. J. Dairy Sci. 75, 976–981 (1992).
- 51 Hosoda, M., Hashimoto, H., Hiramatsu, M., Morita, H. and Hosono, A.: Inhibitory effect of milk cultured with Lactobacillus acidophilus LA106 (LA2) on the mutagenicity of aflatoxin B<sub>1</sub>. Jap. J. Dairy Food Sci. 42, A-1-A-5 (1993), zitiert nach Dairy Sci. Abstr. 55, 701 (1993).
- 52 Sreekumar, O. and Hosono, A.: The antimutagenic properties of a polysaccharide produced by Bifidobacterium longum and its cultured milk against some heterocyclic amines. Can. J. Microbiol. 44, 1029–1036 (1998).
- 53 Nakajima, H.: Characteristics of fermented milk produced by slime-forming Lactococcus lactis subsp. cremoris. Snow Brand R & D Rep. 104, 97–169 (1995).
- 54 Belicova, A., Krajcovic, J., Dobias, J. and Ebringer, L.: Antimutagenicity of milk fermented by Enterococcus faecium. Folia Microbiol. 44, 513–518 (1999).
- 55 Tamai, Y., Oishi, H., Nakagawa, I., Watanabe, Y., Shinmoto, H., Kuwabara, Y., Yamato, K. and Nagai, S.: Antimutagenic activity of the milk fermented by mixed-cultured with various lactic acid bacteria and a yeast. J. Jap. Soc. Food Sci. Technol. 42, 383–387 (1995).

- 56 della Croce, C., Morichetti, E., Bronzetti, G., Salvadori, C. and Macri, E.: Antimutagenic investigations on commercial yogurt. In Bronzetti, G., Hyatsu, H., de Flora, S., Waters, M.D., Shankel, D.M.: Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms, III. Plenum Press, New York (1993) 119–125.
- 57 Matar, C., Nadathur, S.S., Bakalinsky, A.T. and Goulet, J.: Antimutagenic effects of milk fermented by Lactobacillus helveticus L89 and a protease-deficient derivative. J. Dairy Sci. 80, 1965–1970 (1997).
- 58 Rao, D.R., Pulusani, S.R., Sharma, C. and Reddy, B.S.: Antimutagenic activity of fermented milk. Fed. Proc. 44, 521 (1985).
- 59 Wollowski, I., Ji, S.T., Bakalinsky, A.T., Neudecker, C. and Pool-Zobel, B.L.: Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. J. Nutr. 129, 77–82 (1999).
- 60 Hosoda, M., Hashimoto, H., He, F., Morita, H. and Hosono, A.: Effect of administration of milk fermented with Lactobacillus acidophilus LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine. J. Dairy Sci. 79, 745–749 (1996).
- 61 Lidbeck, A., Övervik, E., Rafter, J., Nord, C.E. and Gustafsson, J.-A.: Effect of Lactobacillus acidophilus supplements on mutagen excretion in faeces and urine in humans. Microb. Ecol. Health Dis. 5, 59–67 (1992).
- 62 Asahara, T., Shimizu, K., Ohashi, Y., Matsuki, T., Matsumoto, K., Takada, T., Yuki, N., Takayama, H. and Tanaka, R.: The effects of Bifidobacteria-fermented milk on human urinary mutagenicity, which increases following ingestion of cooked ground beef. J. Intestinal Microbiol. 12, 89–96 (1998), zitiert nach Dairy Sci. Abstr. 61, 538–539 (1999).
- 63 Piacek-Llanes, B.G. and Tannenbaum, S.R.: Formation of an activated N-nitroso compound in nitrite-treated fava beans (Vicia faba). Carcinogenesis 3, 1379–1384 (1982).
- 64 Yang, D., Tannenbaum, S.R., Büchi, G. and Lee, G.C.: 4-Chloro-6-methoxyindole is the precursor of a potent mutagen (4-chloro-6-methoxy-2-hydroxy-1-nitroso-indolin-3-one oxime) that forms during nitrosation of the fava bean (Vicia faba). Carcinogenesis 5, 1219–1224 (1984).
- 65 Jongen, W.M.F., van Boekel, M.A.J.S. and van Broekhoven, L.W.: Inhibitory effect of cheese and some food constituents on mutagenicity generated in Vicia faba after treatment with nitrite. Food Chem. Toxic. 25, 141–145 (1987).
- 66 Yamada, M., Nakazawa, Y. and Hosono, A.: Desmutagenicity of commercial cheese against the Trp-P1-induced mutagenicity to streptomycin-dependent strain SD 510 of Salmonella typhimurium TA 98. Anim. Sci. Tech. 69, 359–364 (1998).
- 67 Yamada, M., Nakazawa, Y., Tsukasaki, F. and Hosono, A.: Antimutagenic activity of Camembert cheese on the Trp-P-1-induced mutagenicity to streptomycin-dependent strain SD510 of Salmonella typhimurium TA98. Int. Dairy J. 7, 795–798 (1997).
- 68 Yamaguchi, T.: Mutagenic activity of various kinds of cheese on the Ames, rec and umu assays. Mutat. Res. 224, 493-502 (1989).
- 69 Vis, E.H., Plinck, A.F., Alink, G.M. and van Boekel, M.A.J.S.: Antimutagenicity of heat-denatured ovalbumin, before and after digestion, as compared to caseinate, BSA, and soy protein. J. Agric. Food Chem. 46, 3713–3718 (1998).
- 70 Sasaki, I., Uchiwa, H. and Murakami, U.: Effects of histidine on the mutagenicity of casein tryptic peptides as food ingredient. Jap. J. Toxicol. Environm. Hlth. 38, 295–299 (1992), zitiert nach Dairy Sci. Abstr. 55, 297 (1993).
- 71 Rogers, A.M. and Shibamoto, T.: Mutagenicity of the products obtained from heated milk systems. Food Chem. Toxicol. 20, 259–263 (1982).
- 72 Corpet, D.E., Stamp, D., Medline, A., Minkin, S., Archer, M.C. and Bruce, W.R.: Promotion of colonic microadenoma growth in mice and rats fed cooked sugar or cooked casein and fat. Cancer Res. 50, 6955–6958 (1990).

- 73 Corpet, D.E. and Cassand, P.: Lack of aberrant crypt promotion and of mutagenicity in extracts of cooked casein, a colon cancer-promoting food. Nutr. Cancer 24, 249–256 (1995).
- 74 Yoshida, S. and Ye-Xiuyun: The binding ability of bovine milk caseins to mutagenic heterocyclic amines. J. Dairy Sci. 75, 958–961 (1992).
- 75 Yoshida, S., Ye-Xiuyun and Nishiumi, T.: Binding ability of bovine milk protein to mutagenic heterocyclic amine of 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole. J. Fac. Appl. Biol. Sci. Hiroshima Univ. 30, 123–127 (1991).
- 76 Goeptar, A.R., Koeman, J.H., van Boekel, M.A.J.S. and Alink, G.M.: Impact of digestion on the antimutagenic activity of the milk protein casein. Nutr. Res. 17, 1363–1379 (1997).
- 77 van Boekel, M.A.J.S., Goeptar, A.R. and Alink, G.M.: Antimutagenic activity of casein against MNNG in the E. coli DNA repair host-mediated assay. Cancer Lett. 114, 85–87 (1997).
- 78 Yoshida, S. and Ye-Xiuyun, Nishiumi, T.: The binding ability of α-lactalbumin and β-lactoglobulin to mutagenic heterocyclic amines. J. Dairy Sci. 74, 3741–3745 (1991).
- 79 Eigel, W.N., Butler, J.E., Ernstrom, C.A., Farrel, H.M., Harwalkar, V.R., Jenness, R. and Whitney, R.McL.: Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. J. Dairy Sci. 67, 1599–1631 (1984).
- 80 Nadathur, S.R., Zhou, L., Lowry, R.R. and Bakalinsky, A.T.: Effects of hydrolysis of milk glycerides on the antimutagenicity of a hexane extract of milk. J. Dairy Sci. 81, 664–671 (1998).
- 81 Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P.: Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. Mutat. Res. 397, 169–182 (1998).
- 82 Smith, J.G. and German, J.B.: Molecular and genetic effects of dietary derived butyric acid. Food Tech. 49, 87–90 (11) (1995).
- 83 Watkins, S.M., Carter, L.C., Mak, J., Tsau, J., Yamamoto, S. and German, J.B.: Butyric acid and tributyrin induce apoptosis in human hepatic tumour cells. J. Dairy Res. 66, 559–567 (1999).
- 84 *Pouillart*, *P.R.*: Role of butyric acid and its derivatives in the treatment of colorectal cancer and hemoglobinopathies. Life Sci. **63**, 1739–1760 (1998).
- 85 O'Shea, M., Lawless, F., Stanton, C. and Devery, R.: Conjugated linoleic acid in bovine milk fat: a food-based approach to cancer chemoprevention. Trends Food Sci.Tech. 9, 192–196 (1998).
- 86 Liew, C., Schut, H.A.J., Chin, S.F., Pariza, M.W. and Dashwood, R.H.: Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. Carcinogenesis 16, 3037–3043 (1995).
- 87 Zu, H.X. and Schut, H.A.: Inhibition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-DNA adduct formation in CDF1 mice by heat-altered derivatives of linoleic acid. Food Chem. Toxicol. 30, 9–16 (1992).
- 88 Schut, H.A. and Zu, H.X.: Application of the 32P-postlabelling assay to the inhibition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)-DNA adduct formation by dietary fatty acids. IARC Sci Publ. 181–188 (124) (1993).
- 89 Josyula, S., He, Y.H., Ruch, R.J. and Schut, H.A.: Inhibition of DNA adduct formation of PhIP in female F344 rats by dietary conjugated linoleic acid. Nutr. Cancer 32, 132–138 (1998).
- 90 Pariza, M.W., Ashoor, S.H., Chu, F.S. and Lund, D.B.: Effect of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. Cancer Lett. 7, 63–69 (1979).
- 91 Pariza, M.W., Loretz, L.J., Storkson, J.M. and Holland, N.C.: Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. Cancer Res. 43, 2444s-2446s (1983).
- 92 Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W.: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis 8, 1881–1887 (1987).

- 93 Kritchevsky, D.: Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. Brit. J. Nutr. 83, 459–465 (2000).
- 94 Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W.: Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. J. Agric. Food Chem. 37, 75–81 (1989).
- 95 Fritsche, J. and Steinhart, H.: Analysis, occurrence, and physiological properties of trans fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA) a review. Fett 100, 190–210 (1998).
- 96 Precht, D. and Molkentin, J.: Analysis and seasonal variation of conjugated linoleic acid and further cis-/trans-isomers of C18:1 and C18:2 in bovine milk fat. Kiel. Milchwirt. Forschungsber. 51, 63–78 (1999).
- 97 Collomb, M., Bütikofer, U., Sieber, R., Bosset, J.O. and Jeangros, B.: Conjugated linoleic acid and trans fatty acid composition of cow's milk fat produced in lowlands and highlands regions. J. Dairy Res. (im Druck)
- 98 Bakalinsky, A.T., Nadathur, S.R., Carney, J.R. and Gould, S.J.: Antimutagenicity of yogurt. Mutat. Res. 350, 199–200 (1996).
- 99 Nadathur, S.R., Carney, J.R., Gould, S.J. and Bakalinsky, A.T.: Palmitic acid is the major fatty acid responsible for significant anti-N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) activity in yogurt. Mutat. Res. 359, 179–189 (1996).
- 100 Rao, D.R. and Reddy, J.C.: Effect of lactic fermentation of milk on milk lipids. J. Food Sci. 49, 748–750 (1984).
- 101 Rasic, J.L. and Vucurovic, N.: Untersuchung der freien Fettsäuren in Joghurt aus Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch. Milchwissenschaft 28, 220–222 (1973).
- 102 Nadathur, S.R., Gould, S.J. and Bakalinsky, A.T.: Antimutagenicity of fermented milk. J. Dairy Sci. 77, 3287–3295 (1994).

Korrespondenzadresse: Dr. Robert Sieber, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM) Liebefeld, CH-3003 Bern