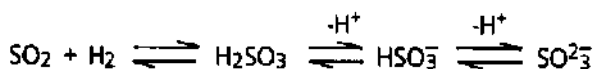


REVISION SOBRE LA GENOTOXICIDAD DEL SULFITO

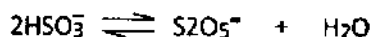
SULFITE GENOTOXICITY REVIEW

Piedad Lopera P.*

El dióxido de azufre es un gas incoloro bastante soluble en agua y se hidrata rápidamente formando ácido sulfuroso, el cual puede disociarse nuevamente y formar iones sulfito y bisulfito (Shapiro, 1977):



El bisulfito existe en dos formas tautoméricas: HOSO_2^- , de mayor predominio en concentraciones menores de 0.1 M de bisulfito, y HSO_3^- , que predomina en concentraciones entre 0.3 y 0.5 M (Schroeter, 1966); también puede dimerizar para dar el ion metabisulfito que presenta un enlace de disulfuro (s-s) (Hayon *et al.*, 1972):



Estas formas se equilibran rápidamente en solución por lo que no pueden distinguirse en análisis fisiológicos. Convencionalmente se utiliza SO_3^{2-} para expresar cualquier forma de sulfito, ya sea que se trate de sulfito de sodio o de potasio (NaSO_3 , KSO_3), o bisulfito de sodio (NaHSO_3); o se utiliza $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ para expresar metabisulfito de sodio o de potasio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (Shapiro, 1977).

El bisulfito y el sulfito se producen en bajas concentraciones endógenamente, como productos naturales de la degradación de los aminoácidos azufrados metionina y cisteína obtenidos en la dieta (Cohen *et al.*, 1973; Institute of Food Technologists, 1976). El sulfito se obtiene exógenamente por medio de la inhalación del dióxido de azufre del aire, que es un contaminante ambiental principalmente en áreas industriales donde funcionan fundidoras, refinadoras de zinc, petróleo y aceite, lo mismo que en zonas de incineración de basuras (Collins, 1971; Cooper, 1965; Levin, 1960; U.S. Department of Health Education and Welfare, 1969; Waldbott, 1973). También es producido a partir de la oxidación del H_2S liberado en la descomposición de la materia orgánica o puede salir conjuntamente con el H_2S en las emisiones volcánicas (Stoiber y Jepsen, 1973). Además, llega al organismo por medio de la ingestión de alimentos (frutas, vegetales, car-

nes, pescado), bebidas (jugos de fruta, cerveza, vino) y drogas (epinefrina, apomorfina, salicilato sódico) en los cuales es utilizado como aditivo, debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Burroughs, 1974; Chichester y Tanner, 1972; Dorange y Dupuy, 1972; Scholey y Rawlinson, 1974; Schroeter, 1966; Shapiro, 1977; Smith y Stevens, 1972).

En alimentos, el sulfito se puede encontrar en concentraciones que varían entre 0 y 3000 ppm, y en drogas entre 0.01 y 1%, cifras calculadas en la forma de dióxido de azufre. Según lo que han establecido los organismos de las Naciones Unidas (FAO/WHO) el consumo diario de sulfitos, aceptable para adultos, es de 0.7 mg/kg o 50 mg para una persona de 70 kg de peso (Institute of Food Technologists, 1976).

En Estados Unidos se estima que el consumo promedio es de 2 mg/día en alimentos y bebidas no alcohólicas y de 5 mg/día en bebidas alcohólicas. En Bélgica el consumo es de 14 mg/día (Gibson y Strong, 1973). Estos datos varían significativamente de acuerdo con la dieta seguida ya que, por ejemplo, una botella de vino puede contener entre 100 y 400 ppm y una cerveza entre 2 y 8 ppm. Sin embargo, la U.S. National Agency of Sciences sugiere que puede ingerirse hasta 600 mg/día (Institute of Food Technologists, 1976). En Estados Unidos, el sulfito se encuentra en la lista de la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) entre las sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS), con una restricción de uso en los alimentos que son fuentes de tiamina (vitamina B₁), ya que ésta es destruida por el sulfito (Chichester y Tanner, 1972).

El sulfito, en solución acuosa, se oxida a sulfato (Timson, 1973) proceso considerablemente retardado por la glucosa (Roy y Trudinger, 1970). También puede autooxidarse por mecanismos de radical libre (Mottley *et al.*, 1982). Varios investigadores demostraron que existe una correlación entre la rata de autooxidación del bisulfito y su mutagenicidad en *Salmonella*, la cual es dependiente del pH y la temperatura y puede ser modificada por agentes como el manitol y el etanol que, a su vez, inter-

* Profesora, Depto de Química, Univ. de Antioquia, Apartado 1226, Medellín, Colombia

actúan con los radicales libres generados por el bisulfito, disminuyendo la toxicidad e incrementando la mutagenicidad (Pagano *et al.*, 1990).

El bisulfito no requiere activación metabólica para su acción mutagénica y reacciona con varios componentes celulares, principalmente con los ácidos nucleicos, produciendo diferentes efectos según las condiciones de pH, concentración y temperatura. A pH bajo, 37°C y altas concentraciones, produce deaminación de la citosina; a pH neutro, 30°C y altas concentraciones, produce transaminación de la citosina; y en bajas concentraciones, pH neutro y 37°C produce radicales libres (Hayatsu, 1976; Shapiro, 1977). El bisulfito a pH neutro y en presencia de aminas como naftilamina y dimetilamina, cataliza ligamientos cruzados entre proteínas y ácidos nucleicos (Boní y Budowsky, 1973; Shapiro y Weisgras, 1970).

En la figura 1 puede observarse el proceso químico que se lleva a cabo para la expresión del efecto mutagénico.

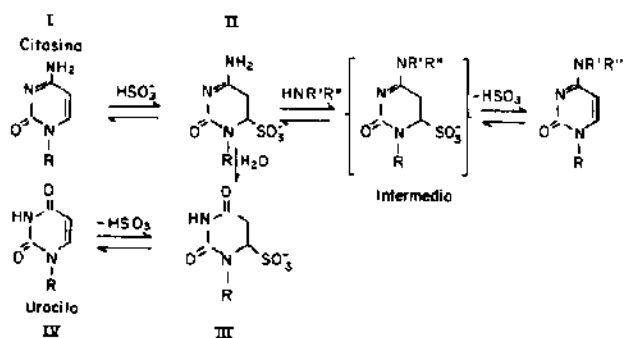


Fig. 1 Proceso químico de transformación de citosina en uracilo (Shapiro y Weisgras, 1970). R' corresponde a $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ y R'' corresponde a H.

El bisulfito reacciona con el DNA y origina específicamente la deaminación de los residuos de citosina con la consecuente transición GC a TA (Hayatsu *et al.*, 1970a; Hayatsu *et al.*, Mukai *et al.*, 1970; Shapiro *et al.*, 1970a; Shapiro *et al.*, 1970b; Shapiro y Weisgras, 1970; Shapiro, 1977). El bisulfito también coopera con los nucleófilos nitrogenados en la inducción de mutagénesis en el bacteriófago lambda (Coppinger *et al.*, 1983; Hayatsu y Miura, 1970; Hayatsu, 1978). Se ha visto que es mutagénico en *E. coli* (Moustafa y Collins, 1969; Mukai *et al.*, 1970), en fago T4 (Summers y Drake, 1971) y en levaduras (Chambers *et al.*, 1973).

Al reaccionar con el uracilo en el RNA, el bisulfito podría inhibir la síntesis de proteínas, interrumpir el proceso mitótico, entorpecer los mecanismos de reparación y producir diversos efectos genéticos (Shapiro, 1977).

Mallon y Rossman (1981) reportaron que el bisulfito no produjo mutación en células eucarióticas (hámster chino V79) ni en células procarióticas (*E. coli*), pero este compuesto sí incrementó la inducción de la mutación por luz ultravioleta en las células mencionadas, en las que actuó como comutágeno. El bisulfito también puede causar transformación morfológica de las células embrionarias de hámster sirio (Dipaolo *et al.*, 1981) y producir mutaciones letales recesivas en espermatozoides maduros de *Drosophila melanogaster* (López, 1985), además de mutación y recombinación somáticas en este mismo organismo (Lopera y Zuleta, 1992). A su vez, el sulfito de sodio inhibe la mitosis en líneas celulares (Thompson y Pace, 1962) y en linfocitos humanos (Schneider y Calkins, 1971), inhibe la síntesis de DNA e induce la formación de micronúcleos en las células mitóticas de la raíz de *Vicia faba* (Njagi y Gopalan, 1982) y produce anomalías estructurales en células germinales de mamíferos (Jagiello *et al.*, 1975).

Otras evidencias demuestran el efecto comutagénico del sulfito con los hidrocarburos policíclicos aromáticos, como el benzo (a) pireno (Laskin *et al.*, 1976; Leung *et al.*, 1989; Pauluhn *et al.*, 1989; Reed *et al.*, 1986) y el dibenzo (a,h) antraceno (Pott y Stober, 1983). Este efecto comutagénico del SO_2 podría ejercerse por diferentes vías, ya sea aumentando la activación del B(a)P a su forma carcinogénica ((B(a)P-7,8-diol-9,10-epóxido) y/o disminuyendo el proceso de detoxificación del B(a)P y otros hidrocarburos policíclicos aromáticos (Leung *et al.*, 1989).

El sulfito puede intervenir en los procesos metabólicos, al reaccionar con las proteínas y producir sulfitolisis del enlace disulfuro. Se ha demostrado la sulfitolisis de la insulina (Gunnison y Beton, 1971) y la inhibición total o parcial de la actividad de varias enzimas *in vitro*, como la deshidrogenasas, las amilasas, la fosfatasa alcalina, la acetil colinesterasa (Franklin Institute Research Laboratories, 1972; Yokota *et al.*, 1972) y las ATPasas, lo mismo que una variedad de cationes que incluyen sodio, potasio y magnesio; la inactivación de este último está probablemente involucrado con la inhibición mitótica, ya que dicho cofactor es esencial en este proceso (Lacombe *et al.*, 1976).

Aunque en algunas pruebas *in vivo*, el bisulfito y el sulfito se han comportado como no cancerígenos y con efectos tóxicos leves en mamíferos (Gibson y Strong,

1973; Mukai et al., 1970; Takayama, 1979; Til et al., 1972a; Til et al., 1972b), al administrarlos en altas concentraciones en la alimentación de animales han producido diversos efectos tóxicos (Franklin Institute Research Laboratories, 1972) que incluyen lesiones en vías respiratorias, distensión de vesícula y estómago, hemorragias estomacales, parálisis de miembros traseros (U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1969), raquitismo, atrofia visceral, atrofia de médula y hueso, pérdida de peso y edema testicular (Franklin Institute Research Laboratories, 1972).

En humanos, aunque Suwa et al (1982) y Nagao et al (1984) informaron sobre la capacidad del sulfito para reducir los niveles de mutágenos en los alimentos, existe evidencia epidemiológica sobre su acción nociva en el tracto respiratorio (Chapman et al., 1973; French et al., 1973; Giddens y Fairchild, 1972; Shy et al., 1972; Wyatt, 1972), incluyendo cáncer del pulmón (Higgins, 1971; Lave y Liskin, 1970).

También se encuentran datos que asocian al dióxido de azufre atmosférico con las enfermedades cardíacas

(Higgins, 1971), con reacciones de hipersensibilidad en asmáticos (Gunnison y Jacobson, 1987; Pagano et al., 1990; Sun, 1984) y con signos de enrojecimiento, dificultad para respirar, debilidad y vértigos; en los no asmáticos pueden presentarse también reacciones alérgicas (Sun, 1984).

En los tejidos de mamíferos, el exceso de azufre es convertido en bisulfito o sulfito y, por acción de la sulfito oxidasa (E.C.1.8.3.1.), es transformado en sulfato, forma menos tóxica y en la cual es excretado en la orina (Cohen y Fridovich, 1971; Gunnison y Benton, 1971; Institute of Food Technologists, 1976). Esta acción detoxificadora de la sulfito oxidasa influye en la disminución de la mutagenicidad por parte del sulfito, lo que se observa al comparar las diferencias entre los análisis *in vivo* e *in vitro* (Suwa et al., 1982). Los pocos datos obtenidos sobre la mutagenicidad en sistemas en mamíferos, pueden deberse al hecho de que la deaminación de citosina es reparada por el mecanismo de excisión de bases, mediada por la uracil-DNA-glicosilasa (Lindahl, 1979).

LITERATURA CITADA

- Boni, I. V. and E. E. Budowsky. 1973. Transformation of non-covalent interactions in nucleoproteins into covalent bonds induced by nucleophilic reagents. I. The preparation and properties of the products of bisulfite ion-catalyzed reaction of amino acids and peptides with cytosine derivatives. *J. Biochem. (Tokio)* 73:821-830.
- Burroughs, L. F. 1974. Browning control in fruit juices and wines. *Chem. Ind. (London)*, 718-719.
- Chambers, R. W., S. Y. Aguyagi, Y. Furukawa, H. Zawadska and O. S. Bhanet. 1973. Inactivation of valine acceptor activity by cytosine into uracil missense change in the anticodon of yeast valine transfer RNA. *J. Biol. Chem.* 248: 5549-5551.
- Chapman, R. S., C. M. Shy, J. F. Finklea, D. E. House, H. E. Goldberg and C. G. Hayes. 1973. Chronic respiratory disease in military inductees and parents of school-children. *Arch. Environm. Health* 27:138-142.
- Chichester, D. F. and E. W. Tanner Jr. 1972. Antimicrobial food additives. *In: Handbook of food additives*, 2ed. T. E. Furia (ed.). CRC Press. Cleveland. 115-184.
- Cohen, H. J., R. T. Drew, J. L. Johnson and K. W. Rajagopalan. 1973. Molecular basis of the biological function of molybdenum. The relationship between sulfite oxidase and the acute toxicity of bisulfite and SO₂. *Proc. Natl. Acad. USA.* 83:3655-3659.
- Cohin, H. J. and I. Fridovich. 1971. Hepatic sulfite oxidase: purification and properties. *J. Biol. Chem.* 246: 359-366.
- Collins, A. C. 1971. Atmospheric pollution by sulfur dioxide. *Rep. Prog. Appl. Chem.* 55:643-663.
- Cooper, A. G. 1965. Sulfur oxides and other sulfur compounds. U.S. Dept. Health, Education and Welfare (PHS), Div. Air Pollution. Washington, D.C. 1-318.
- Coppinger, W. J., T. K. Wong and E. D. Thompson. 1983. Unscheduled DNA synthesis and DNA repair studies of peroxyacetic and monoperoxydicarboxylic acids. *Environm. Mutag.* 5:177-192.
- Dipaolo, J. A., J. A. DeMarinis and I. Doniger. 1981. Transformation of syrian hamster embryo cells by sodium bisulfite. *Cancer Lett.* 12:203-208.
- Dorange, J. L. and P. Dupuy. 1972. Mise en évidence d'une action mutagène sulfite de sodium sur la levure. *C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D.* 274:2798-2800.
- Franklin Institute Research Laboratories. 1972. Gras (Generally Recognized As Safe) food ingredients-sulfiting agents. National Technical Information Service. U.S. Department of Commerce. Springfield, Va.
- French, J. G., G. Lowrimore, W. C. Nelson, J. F. Finklea, T. English and M. Hertz. 1973. The effect of sulfur dioxide and suspended sulfates on acute respiratory disease. *Arch. Environm. Health* 27:129-133.
- Gibson, W. B. and F. M. Strong. 1973. Metabolism and elimination of sulfite by rats, mice and monkeys. *Food Cosmet. Toxicol.* 11:185-198.
- Giddens, W. E. Jr. and G. A. Fairchild. 1972. Effects of sulfur dioxide on the nasal mucosa of mice. *Arch. Environm. Health* 25:166-173.

- Gunnison, A. F. and A. W. Benton. 1971. Sulfur dioxide: Sulfite. Interaction with mammalian serum and plasma. *Arch. Environ. Health*. 22:381-388.
- Gunnison, A. F. and D. W. Jacobson. 1987. Sulfite hypersensitivity. A critical review. *CRC. Critical Rev. Toxicol.* 17:185-214.
- Hayatsu, H., Y. Wataya and K. Kai. 1970a. The addition of sodium bisulfite to uracil and to cytosine. *J. Amer. Chem. Soc.* 92(3):724-726.
- Hayatsu, H., Y. Wataya, K. Kai and S. Iida. 1970b. Reaction of sodium bisulfite with uracil, cytosine and their derivatives. *Biochemistry* 9:2858-2865.
- Hayatsu, H. and A. Miura. 1970. The mutagenic action of sodium bisulfite. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 39(1): 156-160.
- Hayatsu, H. 1976. Bisulfite modifications of nucleic acids and their constituents. *In: Cohn, W. E. (eds). Progress in nucleic acid research and molecular biology. Academic Press, New York. Vol. 16, 75-124.*
- Hayatsu, H. 1978. Co-operative mutagenic actions of bisulfite and nitrogen nucleophiles. *Mutat. Res.* 53:197.
- Hayon, E., A. Treinin and J. Wilf. 1972. Electronic spectra, photochemistry and autoxidation mechanism of the sulfite-bisulfite-pyrosulfite systems. The SO_2 , SO_3 , SO_4 and SO_5 radicals. *J. Amer. Chem. Soc.* 94:47-57.
- Higgins, I. T. T. 1971. Effects of sulfur oxides and particulates on health. *Arch. Environm. Health* 22:584-590.
- Institute of Food Technologists Expert. Panel on Food Safety & Nutrition and the Committee on Public Information. 1976. Sulfites as food additives. *Nutrit. Rev.* 34(2):58-62
- Jagiello, G. M., J. S. Lin. and M. B. Ducayen. 1975. SO_2 and its metabolites: Effects on mammalian egg chromosomes. *Environm. Res.* 9:84-93
- Lacombe, C., M. Salvador and C. Georges. 1976. The action and interaction of three alimentary substances: ethanol, tannic acid and sodium sulphite, on activity of the ATPases in enterocyte borders. *Life Sci.* 18(11):1245-1253.
- Laskin, S., M. Kushchner, A. Sellakumar and G. W. Katz. 1976. Combined carcinogen-irritant animal inhalation studies. *In: Aharonson, E. F., A. Ben-David and M. A. Klingberg (eds). Air pollution and the lung. John Wiley and Sons, New York, 190-213.*
- Lave, L. B. and E. P. Liskin. 1970. Air pollution and human health. *Science* 169:723-733.
- Leung, K. H., D. A. Keller and D. B. Menzel. 1989. Effect of sulfite on the covalent reaction of benzo (a) pirene metabolites with DNA. *Carcinogenesis* 10(2):259-264.
- Levin, B. 1960. Survey of U.S.S.R. literature on air pollution. Vol. I, p. 92. U.S. Dept. Commerce, Washington, D.C.
- Lindahl, T. 1979. DNA glycosylases, endonucleases for apurinic/apyrimidinic sites and base excision repair. *In: Progress in nucleic acids research and molecular biology. Vol. 22, Academic Press, New York, 135-192.*
- Lopera, P. y M. Zuleta. 1992. Efecto del sulfito en la mutagenicidad del café en *Drosophila melanogaster*. *Actual. Biol. (En prensa).*
- López, N. 1985. Potencialidad mutagénica del hidrosulfito de sodio en *Drosophila melanogaster*. *Actual. Biol.* 14(52):48-52.
- Mallon, R. G. and T. G. Rossman. 1981. Bisulfite (sulfur dioxide) is a comutagen in *E. coli* and chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 88:125-133.
- Mottley, C., R. P. Mason, C. F. Chingneli, K. Sivarajah and T. Eling. 1982. The formation of sulfur trioxide radical anion during the prostaglandin hydroperoxidase-catalized oxidation of bisulfite (hydrated sulfur dioxide). *J. Biol. Chem.* 257:5050-5055.
- Moustafa, H. H. and E. Collins. 1969. Effects of selected food additives on growth of *Pseudomonas fragi*. *J. Dairy Sci.* 52(3):335-340.
- Mukai, F., I. Hawryluk and R. Shapiro. 1970. The mutagenic specificity of sodium bisulfite. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 39(5):983-988.
- Nagao, M., Y. Suwa, H. Yoshizumi and T. Sugimura. 1984. Mutagens in coffee. *In: MacMahon, B. and T. Sugimura. (eds). Coffee and Health. Banbury Report No. 17. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. 69-77.*
- Njagi, G. D. E. and H. N. B. Gopalan. 1982. Cytogenetic effects on the food preservatives-sodium benzoate and sodium sulfite on *Vicia faba* root meristems. *Mutat. Res.* 102:213-219.
- Pagano, D. A., E. Zeiger and A. A. Stark. 1990. Autoxidation and mutagenicity of sodium bisulfite. *Mutat. Res.* 230:167-173.
- Paulunh, J., J. Thyssen, J. Althoff, G. Kimmerle and U. Mohr. 1985. Long-term inhalation study with benzo (a) pyrene and SO_2 in syrian golden hamsters. *Exp. Patol.* 28:31.
- Pott, F. and W. Stober. 1983. Carcinogenicity of airborne combustion products observed in subcutaneous tissue and lungs of laboratory rodents. *Environm. Health Perspect.* 47:293-303.
- Reed, G. A., J. F. Curtis, D. Mottley, T. D. Eling and R. P. Mason. 1986. Epoxidation of (+)-7,8-dihydrobenzo (a) pyrene during (bi) sulfite autoxidation: Activation of a procarcinogen by a cocarcinogen. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 83:7499-7502.
- Roy, A. B. and P. A. Trudinger. 1970. The biochemistry of inorganic compounds of sulfur. Cambridge University Press.
- Scheider, L. K. and C. A. Calkings. 1971. Sulfur dioxide induced lymphocyte defects in human peripheral blood cultures. *Environm. Res.* 3:473-484.
- Scholey, J. and A. P. Rawlinson. 1974. Control of microbial spoilage in low pH products with SO_2 . *Chem. Ind. (London).* 716-717.
- Schroeter, L. C. 1966. Sulfur dioxide. Applications in food, beverages and pharmaceuticals. Pergamon Press, Oxford.
- Shapiro, R., B. I. Cohen and R. I. Servis. 1970a. Specific deamination of RNA by sodium bisulfite. *Nature* 227:1047-1048.
- Shapiro, R., R. I. Servis and M. Welcher. 1970b. Reactions of uracil and cytosine derivatives with sodium bisulfite. A specific deamination method. *J. Amer. Chem.* 92:422-424.
- Shapiro, R. and J.M. Weisgras. 1970. Bisulfite-catalyzed transamination of cytosine and cytidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 40(4):839-843.
- Shapiro, R. 1977. Genetic effects of bisulfite (sulfur dioxide). *Mutat. Res.* 39:149-176.

- Shy, C. M., V. Hasselblad, L. T. Heiderschect and A. A. Cohen. 1972. Environmental factors in bronchial asthma. *In*: D. H. K. Lee (ed.), Environmental factors in respiratory disease. Academic Press, New York. 229-235.
- Smith, G. and M. F. G. Stevens. 1972. Sulfur dioxide-preserved and potential mutagen. *Pharmaceut. J.* 209:570-572.
- Stolber, R. E. and A. Jepsen. 1973. Sulfur dioxide contributions to the atmosphere by volcanoes. *Science* 182:577-578.
- Summers, C. A. and J. W. Drake. 1971. Bisulfite mutagenesis in bacteriophage T4. *Genetics* 63:603-609.
- Sun, M. 1984. Salad, house dressing but hold the sulfites. *Science* 226:520-521.
- Suwa, Y., M. Nagao, A. Kosugi and T. Sugimura. 1982. Sulfite suppresses the mutagenic property of coffee. *Mutat. Res.* 102:383-391.
- Takayama, S. 1979. Studies on animal carcinogenicity test of mutagens. *Ann. Rept. Cancer Res., Ministry of Health and Welfare*, 965-993.
- Thompson, J. R. and D. M. Pace. 1962. Effects of SO₂ on established cell lines cultivated *in vitro*. *Can. J. Biochem. Physiol.* 40:207-217.
- Til, H. P., V. J. Feron and A. P. de Groot. 1972a. The toxicity of sulphite. I. Long-term feeding and multigeneration studies in rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 10: 291-310.
- Til, H. P., V. J. Feron, A. P. de Groot and P. Vanderwal. 1972b. The toxicity of sulphite. II. Short and long-term feeding studies in pigs. *Food Cosmet. Toxicol.* 10:463-473.
- Timson, J. 1973. Action of sodium sulphite on the mitosis of human lymphocytes. *Chromosomes Today.* 4:211-214.
- Timson, J. and D. J. 1970. Use of thymine to increase the yield of mitosis in lymphocyte cultures. *Lancet* 1:1379-1398.
- U.S. Department of Health, Education and Welfare. 1969. Air quality criteria for sulfoxides. National Air Pollution Control Administration Publications. No. Ap-5. Washington, D.C.
- Waldbott, G. L. 1973. Health effects of environmental pollutants. C. V. Mosby, Co. St. Louis, Mo. p 80.
- Wyatt, J. P. 1972. Environmental factors in chronic lung disease. *In*: D. H. K. Lee (ed.), Environmental factors in respiratory disease. Academic Press, New York, 229-235.
- Yokota, K., R. Y. Chen and O. Sakaguchi. 1972. Food hygienic studies of sulphites. *Japan J. Hyg.* 26(8):481-485