食品中の第2級アミンに関する研究 (第2報)

ニトロソ化第2級アミンのガスクロマト
グラフィーによる分別定量

(昭和 47 年 8 月 8 日受理)

河端俊治*¹ 石橋 亨*¹ 松居正己*²

Studies on Secondary Amines in Foods

II. Differentiation and Quantification of Nitrosated Secondary Amines by Gas-Liquid Chromatography

Toshiharu KAWABATA*¹, Tohru ISHIBASHI*¹
and Masami MATSUI*²

(*¹ Department of Food Research, National Institute of Health: Shinagawa-ku, Tokyo;

*² Tokyo Research Laboratory, Shimadzu Seisakusho & Co., Chofu-shi, Tokyo)

Volatile secondary amines in foods can be differentiated and determined as follows: The secondary amines in a food sample are extracted with trichloroacetic acid, the extract is distilled in vacuum under alkaline condition; the amines in the distillate are nitrosated with sodium nitrite in acid solution (at 30°C for 30 min.); the nitrosamines formed are extracted with methylene chloride, being concentrated and subjected to determination by a gas chromatograph with a modified thermoionic detector.

Two different types of columns, Chromosorb W-25% PEG 6,000, and Chromosorb W-20% Versamid 900, both of which being packed in coiled glass tubings (3×2,500 mm), are employed for gas-liquid chromatography, and the former column is suitable for the quantitative analysis of nitrosated secondary amines.

The recoveries of secondary amines added to foods were found more than 95%. The presence of primary and tertiary amines in foods at natural level did not interfere the analysis significantly. The application of the procedure to the analysis of salted Alaska pollack and fish ham samples disclosed that dimethylamine was the main component among the secondary amines in the materials so far tested, and a trace amount of diethylamine was also detected.

(Received August 8, 1972)

著者らは前報¹⁾において、水産加工食品中の第2級アミンの Cu-ジチオカルバメートの比色定量法を報告した。しかし、第2級アミンの比色定量法²⁾³⁾といえは、いわば食品中の総第2級アミン量を評価する方法といつてよい。今まで食品中の第2級アミンの分別定量については、ほとんど報告されていない。純粋の系においては、第2級アミンを直接ガスクロマトグラフィー (GLC) 分析⁴⁾⁵⁾⁶⁾するか、また、誘導体にして分析する方法⁷⁾⁸⁾もある。しかし、実際の食品においては第1級、第3級

アミンが共存するため分別定量を妨害する。そこで著者らは、ジメチルアミンなど7種の第2級アミンについて、ニトロソ化してから、GLC 分析する方法について検討したところ、第1級アミン、第3級アミン等の妨害がなく、精度良く分別定量する方法を得ることができたので、これについて報告する。

第2級アミンの分別定量

試薬および装置

50%亜硝酸ナトリウム (特級) 溶液

酢酸 (特級)

20%トリクロル酢酸 (特級) 溶液 (20% TCA)

50%水酸化カリウム (特級) 溶液, 30%水酸化ナトリ

*¹ 国立予防衛生研究所食品衛生部: 東京都品川区上大崎 2-10-35

*² 島津製作所東京研究所: 東京都調布市柴崎1-63-1

ウム (特級) 溶液,

塩酸エタノール: 1 N 塩酸に同量のエタノール (特級) を加えたもの,

塩化ナトリウム (特級)

ジクロロメタン (CH_2Cl_2 , 残留農薬用, 特級)

標準第 2 級アミン (特級) 和光純薬

(dimethylamine·HCl (DMA)*¹, diethylamine·HCl (DEA)*¹, di-*n*-propylamine (D-*n*-PA), di-*iso*-propylamine (D-*iso*-PA), di-*n*-butylamine (D-*n*-BA), pyrrolidine, piperidine.)

di-*iso*-butylnitrosamine (D-*iso*-BNA): di-*iso*-butylamine (D-*iso*-BA) から合成した²⁾.

N-ニトロソアミン: dimethylnitrosamine (DMNA) (和光純薬ガスクロ用標準品), diethylnitrosamine (DENA) (特級, 和光純薬製). 上記外の N-ニトロソアミンは第 2 級アミンから合成した²⁾.

ガスクロマトグラフィー用ガラスカラム: 2.5 m, ϕ 3 mm.

充てん剤: Chromosorb W (60~80 mesh) に 25% PEG 6000 を保持したもの, および, 同じ担体に Versamid 900 を 20% 保持したもの.

Kuderna-Danish 濃縮装置 (K-D 濃縮装置)

ガスクロマトグラフ装置: Shimadzu GC 5AF

検出器: FTD (アルカリ熱イオン化検出器, 白金イリジウムコイルに ケイ酸ナトリウム-塩化カリウム 混合液を塗布加熱融着したもの).

試料の調製

はさみなどで細切, あるいはチョッパーにかけた検体をさらに乳パチで磨砕し, これを 20~50 g 正確に測り, 150 ml の蒸留水を加えて, ビーカー中に洗い込み, よくかく拌して 15 分間放置する. 次に 20% TCA 20 ml を加えてよく混和する. 15 分間放置後, 東洋濾紙 No. 5 A を用いて, 蒸留フラスコ中にろ過し, さらにろ紙上の沈殿物を蒸留水で洗浄し, 洗液も合わせて分析に用いる*². 蒸留フラスコ中に塩化ナトリウム 20~50 g, 50% 水酸化カリウム³⁾ 10 ml を加えて, 減圧蒸留する. 蒸留の条件は恒温水槽温度 45°, 30~40 mmHg 以下で 45 分間行なった. 留出物は 0.5N HCl 20 ml 中でガラスフィルターのスプレー管を使用して捕集した. 捕集した留出液は減圧で 2 ml まで濃縮する.

抽出試料のニトロソ化

濃縮物 2 ml に酢酸 2 ml, 50% 亜硝酸ナトリウム溶液 2 ml を加え, 密せんをして, 30° 温浴中で 30 分間ニトロ

ソ化を行なう*³. つぎに 30% 水酸化ナトリウム溶液 10 ml, 塩化ナトリウム 2 g, ジクロロメタン 30 ml を加えて, 5 分間振とう抽出する*⁴. 下層 (ジクロロメタン層) を集め, 一定量の内部標準物質 (D-*iso*-BNA) を加えて, 無水硫酸ナトリウムで脱水する. 35° 前後の温浴中 K-D 濃縮装置で 1 ml まで濃縮し, GLC 分析の試料とする.

GLC の分析条件

カラム温度: 150°, 気化室および検出器温度: 200°, キャリヤーガス: N_2 , 40 ml/min.

検出器: FTD, 水素流量: 35 ml/min, 空気流量: 0.7 L/min, 記録紙送り: 10 mm/min, 面積測定法: 半値幅法.

検量線の作成

検量線は内部標準法に従った.

(1) 内部標準物質: D-*iso*-BNA 11.4 mg を正確に秤量し, ジクロロメタンで 100 ml に定容 (アミン窒素として 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に相当) にし, これを内部標準原液とした.

(2) 標準第 2 級アミンのニトロソ化: 標準第 2 級アミンとして, DMA, DEA, D-*n*-PA, D-*iso*-PA, D-

Fig. 1. Calibration curves for nitrosated secondary amines (peak area ratio vs. weight ratio) on PEG 6000 column

I. DEA

II. DMA, D-*n*-PA

III. piperidine, D-*n*-BA

IV. D-*iso*-PA

V. pyrrolidine

weight ratio = nitrosated secondary amine/D-*iso*-BNA

peak area ratio = nitrosated secondary amine-D-*iso*-BNA

*¹ メタノールとエーテルより再結晶した.

*² コンビーフ, オイルサーजन等油脂の多いものについては, 塩酸・エタノールで抽出し, 遠心して, 上層部をとり, 減圧でエタノールを留去したものを試料とする.

*³ GLC 分析においては過量の NO_2^- は妨害とならない.

*⁴ 30 ml のジクロロメタンで 3 回抽出する.

n-BA, pyrrolidine, piperidine のアミン窒素として 100 μ g/ml の 1N 塩酸混合溶液を作り, その 10 ml をとり, 1N 塩酸で 100 ml に定容する. これを標準原液とする (アミン窒素として 10 μ g/ml に相当). 調製された第2級アミン標準原液から 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml をとり, それぞれ 1N 塩酸で 10 ml に定容する. これら溶液 1 ml ずつを共せんつき試験管にとり, 既に述べた方法にて, ニトロソ化を行ない, ジクロルメタンで抽出を行なった.

(3) 検量線の作成: 内部標準物質原液 1 ml とり, ジクロルメタンで10倍に希釈し, その 2 ml ずつを上記のニトロソ化した標準第2級アミンのジクロルメタン抽出液に加え, K-D 濃縮装置でそれぞれ 1 ml まで濃縮した. これら調製されたニトロソ化標準第2級アミン溶液 5 μ l を Chromosorb W-PEG 6000 のカラム, または, Chromosorb W-Versamid 900 のカラムで分析する. 得られたガスクロマトグラムから各々のニトロソ化第2級アミンのピーク面積を測り, 内部標準物質との面積比, 各々の第2級アミンとの内部標準物質の重量比との直線を作成し, 検量線とする. この検量線は原点を通る直線となる (Fig. 1).

実験結果および考察

(1) 減圧蒸留における第2級アミンの回収率

試料中の第2級アミンの抽出濃縮法としては水蒸気蒸留が用いられることもあるが, 共沸してでてくる成分が多いため, 高感度の GLC 分析をする場合には, 夾雑物の影響がでる. そこで低沸点アミンの抽出濃縮法として利用される減圧蒸留について検討した. 第2級アミンとして, DMA, DEA, D-*n*-BA, pyrrolidine, piperidine の低沸点アミンから高沸点アミンを選び各々についての回収率を見た. 捕集には, 0.5N 塩酸 20 ml で, 約30mm-Hg の減圧で蒸留時間 45分, 水浴温度は 45°で行った. 得られた結果は Table 1 に示してある. この時の第2級アミンの測定には前報に記載した改良 Cu-ジチオカルバメート法を用いた.

Table 1. Recovery of Secondary Amines by Vacuum Distillation

Secondary amine (Initial conc. of amine-N)	Recovery (%)	
	(50 μ g)	(100 μ g)
DMA	100	99.6
DEA	99.5	99.0
D- <i>n</i> -BA	97.5	95.5
pyrrolidine	98.5	97.5
piperidine	97.6	97.5

Determined by Cu-dithiocarbamate method

(2) ニトロソ化時間の検討

第2級アミンのニトロソ化時間については, すでに報

告²⁾ されているが, 検討の対象となったのは, DMA, DEA, piperidine, pyrrolidine である. そこで今回は上記第2級アミンに加え, D-*n*-PA, D-*iso*-PA, D-*n*-BA, D-*iso*-BA を加えて検討を行った. 反応温度を 30° に一定にして, 上記 8 種の第2級アミンを一定量含む酢酸酸性溶液に亜硝酸ナトリウムを加えてから, 経時的にニトロソアミンの生成量を調べた. 反応停止剤として, スルフェミン酸を用いた. Fig. 2 に示されるように DMA, DEA を除く第2級アミンは 5 分後にはほぼ 100% ニトロソ化が行なわれたが, DMA, および, DEA においては, 15~20分後にはほぼ 100% ニトロソ化が行なわれることが分った. この結果から第2級アミン混合液中のアミンのニトロソ化に用いる時間を30分間とした.

Fig. 2. Relationship between period of nitrosation and yields of N-nitrosamines

(3) 抽出溶媒

N-ニトロソアミンの抽出有機溶媒としてはジクロルメタン, *n*-ヘキサンが使われている. しかし, 今まで N-ニトロソアミンの溶解度について検討した報告はみられないので, ここでは供試した 8 種の N-ニトロソアミンの混合溶液からの抽出効率の比較を行なった. 溶媒としては, ジクロルメタン, 四塩化炭素, *n*-ヘキサン, シクロヘキサン, トルエンの 5 種の有機溶媒 (いずれも和光純薬特級を使用) について調べた. この場合, 試料溶液と有機溶媒比 1:3 とした. また塩析剤として, 塩化ナトリウム, アルカリ剤として水酸化ナトリウム溶液を用いた. Table 2 にみられるように抽出 1 回, 振とう時間 5 分間において, ジクロルメタンの抽出率が 90% 以上を示した. 他の抽出溶媒は, DMNA, DENA の抽出率が極めて悪かった. しかし, ジクロルメタンは N-ニトロソアミンの抽出溶媒としては優れているが塩素を含んでいるため, ガスクロマトグラフの検出器の腐蝕性がかかり強いという欠点はある. しかし, 今回の実験から分かるように, これに代わる有機溶媒が見あたらなかつ

Table 2. Comparison of the Rates of Extraction for Various Nitrosated Secondary Amines with Various Organic Solvents
(Average values for 3 repeated experiments)

Nitrosated secondary amines	Organic solvent	Solvent and rates of extraction				
		CH ₂ Cl ₂	CCl ₄	n-hexane	cyclohexane	toluene
nitrosated DMA		93%	15%	12%	2%	5%
"	DEA	95	40	30	13	20
"	D-iso-PA	98	65	65	16.5	26
"	D-n-PA	97	65	80	50	32
"	D-iso-BA	97	55	79	45	36
"	D-n-BA	96	70	37	90	55
"	piperidine	97	60	50	62	45
"	pyrrolidine	97	59	51	36	49

Amount of amine-N; 10 μ g (in 10 ml test solution)

Sample solvent ratio; 1 : 3 (10 ml of test solution and 30 ml of a solvent to be tested)

Extraction; single, for 5 min. by a mechanical shaker

Table 3. Operating Conditions of Gas Chromatography

Exp. No.	Support	Liquid phase	Liquid/support	Column (glass tubing)	Column temp.
I	Chromosorb W (60~80 mesh)	Carbowax 1540	20%	1 m, ϕ 0.3 cm	110°C
II	"	PEG 6000	25%	2.5 m, ϕ 0.3 cm	150°C
III	"	Versamid 900	20%	1 m, ϕ 0.3 cm	110°C
IV	"	"	20%	2.5 m, ϕ 0.3 cm	150°C

たので、抽出溶媒はジクロロメタンとした*1。

(4) 内部標準物質の選択

GLC による定量法では、内部標準物質を用い、被検体のピーク面積と一定重量の内部標準物質のピーク面積比とそれぞれの重量比で検量線を作成する方法が正確であるといわれている¹¹⁾。内部標準物質として用いることのできるのは、同族体であること、純粋な標準品が入手しやすいこと、被検体中には存在しないことなどの条件が考えられるが、今まで N-ニトロソアミンについて検討された報告は見当たらない。最近、Fiddler¹²⁾ の報告ではピラジンの誘導体を用いているが、わが国では市販の標準物質が入手困難なことから、食品中で存在しているかどうかの検討もされていないので、あまり一般的な物質とはいえない。われわれも N-ニトロソアミンの内部標準物質については別に報告してある¹³⁾が、今回の実験では、今までのわれわれが調べた食品中に存在していな

かったこと、また容易に合成でき、非常に高純度のものが出来て、かつ同族体であることから一応 D-iso-BNA を使用することにした。

(5) 分析用カラムの検討

N-ニトロソアミンの分析用カラムについては別に詳細な検討結果を報告¹³⁾しているので、ここではその結果にもとづいて、Table 3 に表わされるように極性の異なるポリエチレングリコール系 (PEG 系)、amide 系の液相を用いたカラムについて検討した。実験 I での条件で各種ニトロソ化第 2 級アミンを分析した結果のガスクロマトグラムを Fig. 3 に示してあるが、ニトロソ化 D-n-PA と内部標準物質 (D-iso-BNA) の分離が悪かった。この欠点を改善するため、実験 I と同じ PEG 系で、分子量が大きく、高温度 (200°) に耐えることが出来る液相を用いて、実験 II のように、カラム長さ 2.5 m にし、分析温度を 150°にして分析した。Fig. 5 で示されるガスクロマトグラムのようにニトロソ化 D-n-PA と内部標準物質 (D-iso-BNA) の分離が実験 I より多少改善され、定量に十分満足出来る分離が得られた。実験 III, IV は、amide 系の Versamid 900 を保持したカラムで実験 III の場合、各種ニトロソ化第 2 級アミンの保持時間が小さく、特にニトロソ化 DMA、ニトロソ化

*1 ただし、ジクロロメタン抽出液の濃縮は、DMNA の蒸気圧が他の N-ニトロソアミンに比較して、非常に高く、条件によっては、K-D 濃縮器を使っても、大きな損失がおこることがある。本法における濃縮条件は、温浴 35° と一定に行なった。

Fig. 3. Gas chromatogram of nitrosated secondary amines

Analytical conditions:

Column; 20% Carbowax 1540 on Chromosorb W (60~80 mesh)
packed in a 1000 mm×3 mm glass tubing

Column temp.; 110°C

Inject. temp.; 150°C

Detector temp.; 150°C

Chart speed; 20 mm/min.

Peak number

1. Nitrosated DMA
2. Nitrosated DEA
3. Nitrosated D-*iso*-PA
4. Nitrosated D-*n*-PA

5. Internal standard
(D-*iso*-BNA)
6. Nitrosated D-*n*-BA
7. Nitrosated piperidine
8. Nitrosated pyrrolidine

Fig. 4. Gas chromatogram of nitrosated secondary amines

Analytical conditions:

Column; 20% Versamid 900 on Chromo-
sorb W (60~80 mesh)
packed in a 2500 mm
×3 mm glass tubing

Column temp.; 150°C

Inject. temp.; 200°C

Carrier gas; N₂

Detector; FTD

Peak number

1. Nitrosated DMA
2. Nitrosated DEA
3. Nitrosated D-*iso*-PA
4. Nitrosated D-*n*-PA
5. Internal standard (D-*iso*-BNA)
6. Nitrosated D-*n*-BA
7. Nitrosated piperidine
8. Nitrosated pyrrolidine

Fig. 5. Gas chromatogram of nitrosated secondary amines

Analytical conditions:

Column; 25 % PEG 6000 on Chromosorb W (60~80 mesh)
packed in a 2500 mm×3 mm glass tubing

Column temp.; 150°C

Inject. temp.; 200°C

Carrier gas; N₂

Detector; FTD

Peak number

1. Nitrosated DMA
2. Nitrosated DEA
3. Nitrosated D-*iso*-PA
4. Nitrosated D-*n*-PA

5. Internal standard (D-*iso*-BNA)
6. Nitrosated D-*n*-BA
7. Nitrosated piperidine
8. Nitrosated pyrrolidine

DEA の ppb レベルの分析は、溶媒のピークが妨害するので、定量に使用するのは不適当である。そこで、実験 IV のように、カラム長さ 2.5 m にすることで、実験 III の欠点は十分に解決出来た (Fig. 4)。しかし、実験 III、IV とも amide 系の液相では、ニトロソ化 piperidine とニトロソ化 pyrrolidine の分離が出来なく、定量用としては問題がある。しかし、未知検体からの定性には、2 種の極性の異なるカラムで分析することが必要で、PEG 6000, 2.5 m および, Versamid 900, 2.5 m を併用して分析すれば、より確実な、食品中の第 2 級アミンの分析を行うことが出来る。しかし、定量には、各種ニトロソ化第 2 級アミンの分離度からみて、PEG 6000 が適している。感度についてみると、PEG 6000 より Versamid 900 の方がすぐれている。〔PEG 6000 のカラムでは、N-ニトロソアミン (R_2N-NO) が通過中に部分的に N-ニトラミン (R_2N-NO_2) になるためと考えられる¹⁸⁾〕。

(6) 第 1 級アミンと第 3 級アミンの本法に対する妨害について

第 1 級アミンは過量の亜硝酸とつぎの反応式によりエタノールになり、したがって、ニトロソ化による第 2 級アミンの分析には妨害を与えない。

また第 3 級アミンは

となり亜硝酸塩が出来る。この亜硝酸塩は加熱することにより $[R_3NH]^+NO_2^- \longrightarrow R_2N \cdot NO + ROH$ のように、N-ニトロソアミンとアルコールに変わることが知られている。Fiddler¹⁴⁾らはトリメチルアミン (TMA) と亜硝酸塩を pH 5.6 において 78° で 4 時間加熱したところ、約 1% 収量で DMNA の生成をみたという。われわれは TMA-N (50 μg 量) について、本法の条件でニトロソ化を行うかどうかを調べたが、DMNA は全く検出されなかった。これは 30°, 30 分という反応条件ではニトロソ化されにくいのか、あるいは、されたとしても検出感度 (0.1 ng) 以下であるためによるものであろう。TMA-N として 50 μg 量といえば、魚類筋肉等における含量としては、かなり多いものに相当する。したがって、検体中における TMA の存在は、本法による分析に実用的には、妨害しないとみてさしつかえない。

(7) 本法による各種第2級アミンの回収率

魚肉ハム抽出液に各種第2級アミン窒素 5 μg を加えて、本法を実施した。第2級アミンの回収率は Table 4 で示されるように変動係数 1% 以内であった。

Table 4. Recovery of Secondary Amines added to the Extract of Fish Ham

Secondary amine	Amount of amine-N added (μg)	Found (σ^*) (μg)	Recovery (σ) (%)
DMN	5	4.83 (± 0.042)	96.5 (± 0.84)
DEA	5	4.88 (± 0.026)	97.6 (± 0.53)
D-n-PA	5	4.82 (± 0.019)	97.5 (± 0.41)
D-iso-PA	5	4.91 (± 0.023)	98.4 (± 0.50)
D-n-BA	5	4.89 (± 0.037)	97.8 (± 0.76)
piperidine	5	4.89 (± 0.037)	97.8 (± 0.76)
pyrrolidine	5	4.89 (± 0.020)	97.8 (± 0.47)

Each test amine solution (5 μg -N) was added to a 25 ml of the extract being corresponded to 5 g of minced fish ham.

*: standard deviation.

Fig. 6. Gas chromatogram of secondary amines in a salted Alaska pollack egg sample (fresh)

Column used: 25% PEG 6000 on

Chromosorb W

Peak number: 1. Nitrosated DMA

2. Nitrosated DEA

Analytical conditions were the same as shown in Fig. 5.

(8) 分析例

本法を用いて種々食品中の第2級アミンの分布調査を行なっているが、それらの結果については改めて報告する。ここでは市販たらこおよび魚肉ハムについての定性分析例を Fig. 6, 7 に示した。これから分かるようにクロマトグラムには妨害成分はほとんどみられなかった。したがって、この方法においては試料の Clean up は特に必要はない。

要 約

食品中の第2級アミンをニトロソ化し、これの GLC を用いる分別定量方法について、検討し、精度よく行なえる方法を得ることができた。

1. 食品中からの第2級アミンはあらかじめ、トリクロル酢酸により除タンパクした試料について減圧蒸留法により揮発性第2級アミンを捕集濃縮する。

2. ニトロソ化は、30° の水浴中で 30 分間行ない、生成したニトロソアミンはジクロルメタンで抽出する。各種第2級アミンの添加実験では回収率が95%以上であった。

3. 分析用カラムは、2種の極性の異なる液相、つま

Fig. 7. Gas chromatogram of secondary amines in a fish ham

Column used: 20% Versamid 900 on

Chromosorb W

Peak number 1. Nitrosated DMA

2. Nitrosated DEA

3. Unidentified

4. Unidentified

5. Nitrosated piperidine-pyrrolidine

Analytical conditions were the same as shown in Fig. 4.

り PEG 6000 および Versamid 900 をそれぞれ Chromosorb W (60~80 mesh) に保持させたカラム (2.5 m × φ 3 mm) を用いることにより定性が確実にこなえることが分った。なお定量には分離能の点から PEG 6000 を保持したカラムを用いる。

本研究は、昭和46年度厚生省食品衛生調査研究委託事業費の補助を受けて実施した。

文 献

- 1) 河端俊治, 石橋 亨, 中村昌道: 食衛誌, 14, 31 (1973).
- 2) 宇野豊三, 山本正康: 分析化学 15, 958 (1966).
- 3) 伊藤善志男, 谷村顕雄: 食衛誌, 12, 170 (1971).
- 4) Odonnell, J. F., Mann, C. K.: Anal. Chem. 36, 2097 (1964).
- 5) Lorenzo, A. D., Russo, G.: J. Gas Chromatog. 6, 509 (1968).
- 6) Biernacki, W.: J. Chromatog. 50, 135 (1970).
- 7) Day, E. W., Golab, Jr. T., Koon, J. R.: Anal. Chem. 38, 1053 (1966).
- 8) Neurath, G., Lüttich, W.: J. Chromatog. 37, 205 (1968).
- 9) 鮎川郁子, 酒井綾子, 谷村顕雄: 日本食品衛生学会第24回学術講演会講演要旨
- 10) 河端俊治, 中村昌道, 石橋 亨, 松居正己: 日本水産学会誌, 投稿中.
- 11) 松隈 昭: “ガスクロマトグラフィーの実際”, p. 69 (1970) 東京化学同人, 東京.
- 12) Fiddler, W., Doerr, R. C., Ertel, J. R., Wasserman, A. E.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. 54, 1160 (1971).
- 13) 河端俊治, 松居正己, 石橋 亨, 中村昌道: 分析化学 10, 1326 (1972)
- 14) Fiddler, W., Pensabene, J. W. Doerr, R. C., Wasserman, A. E.: Nature 236, 307 (1972).