ポリアミドを用いた食品中の合成着色料の迅速分析

(昭和 61 年 12 月 16 日受理)

角田 光 淳* 井 上 典 子*
青 山 光 雄* 長谷部昭久*

Rapid Analysis of the Food Colors in Foodstuffs Using Polyamide

Kojun TSUNODA, Noriko INOUE, Mitsuo AOYAMA
and Akihisa HASEBE

(Suginami Ward Institute of Public Health Research, Tokyo:
3-20-3, Takaidohigashi, Suginami-ku, Tokyo, Japan)

A rapid and simple analysis procedure involving a batch system using polyamide (nylon-6 powder) was devised for the detection of food colors. The food colors were extracted from food with a mixture of 1% ammonia water and ethanol (4:6). The extract was filtered, and the filtrate was diluted two or three times with water. The colors in the solution were absorbed on a small amount of polyamide (10-30 mg) in acid (pH 4-5). After filtration and rinsing with hot water, the polyamide was suspended and eluted with a small quantity (about 100 μ l) of a mixture of 28% ammonia water and ethanol (4:6). After five min, the supernatant was used for paper chromatography and thin layer chromatography on a silica gel plate or a polyamide sheet. The solvent systems for the chromatographies were as follows: paper chromatography, butanol-ethanol-1% ammonia water (6:2:3); silica gel thin layer chromatography, ethyl acetate-ethanol-28% ammonia water (3.3:1:1) or (4.5:1:0.7); polyamide thin layer chromatography, methanol-ethanol-isoamyl alcohol-28% ammonia water (15:10:5:3). The systems containing ammonia as described above were required for separation of the food colors. Compared with the wool dyeing method, the presented method did not require evaporation of alcohol, heating for adsorption or elution of the food colors or concentration of the eluate. It is rapid, simple and precise for the detection of the food colors in various colored foods.

(Received December 16, 1986)

Key words: 食用色素 food colors; ポリアミド polyamide; ナイロン-6 末 nylon-6 powder; 薄層クロマトグラフィー thin layer chromatography; ろ紙クロマトグラフィー paper chromatography; 毛糸染色法 wool dyeing method

結 言

着色食品中に含まれる合成着色料¹⁾を分離する方法として、毛糸染色法^{2)~4)}、溶媒分離法^{5)~7)}、イオン交換樹脂

法^{5), 8)~15)}、カラムクロマトグラフィー^{16)~19)}及びポリアミドを用いた方法^{20)~22)}などの報告がなされ、紹介²³⁾されている。このうち毛糸染色法は、アルコールの揮散、色素の染着及び溶出時の加温操作などが必要にもかかわらず、粘着性のある食品、乳化剤を含む食品などにも広

* 東京都杉並区衛生試験所: 東京都杉並区高井戸東 3-20-3

く適用でき、染色毛糸の洗浄の容易さなどの簡便性から広く一般的に用いられている。ポリアミドを用いる方法は、本品が羊毛と同じポリアミド構造²⁴⁾を持つことに着眼したもので、その性質は Lehmann *et. al.*,²⁰⁾ Davidek *et. al.*,^{21), 22)} の報告の中にもあるように、迅速な吸着能と吸着した色素の溶離性に優れた利点を持っている。しかし、いずれのポリアミド染色法も、アルコールの揮散やカラム操作そして吸着した色素の溶出、その溶出液の濃縮などの操作性において、毛糸染色法の優位性を認めざるを得ない。しかし、著者らはポリアミドの利点に着目し、我が国で許可されている食用色素11種について、ポリアミド(ナイロン-6 末)を用いて毛糸染色法に代わる簡易な迅速分析法を検討した。

実験方法

1. 試料、試薬及び装置

1.1 試料

試料は、着色市販食品 506 検体(和・洋菓子 254 検体、清涼飲料水 38 検体、乳・肉加工品 7 検体、魚介類加工品 21 検体、漬物 79 検体、そう菜 18 検体、その他 89 検体)を用いた。

1.2 試薬

ポリアミド: ポリ(6-ヘキサナムイド)ナイロン-6 末・薄層クロマトグラフィー(TLC)用ポリアミド B-O(約 300 メッシュ)と光純薬工業(株)製

標準合成着色料: 食用赤色 2 号(R-2), 同 3 号(R-3), 同 102 号(R-102), 同 106 号(R-106), 食用黄 4 号(Y-4), 同 5 号(Y-5), 食用青色 1 号(B-1), 同 2 号(B-2) 三栄化学工業(株)製。食用赤色 104 号(R-104), 同 105 号(R-105), 食用緑色 3 号(G-3) 国立衛生試験所標準品

合成着色料: 食用許可色素(11種類) 東京化成工業(株)製

溶離液 I: 1% アンモニア水-エタノール(4:6) 混液

溶離液 II: 濃アンモニア水-エタノール(4:6) 混液

染色液: pH 5.0, 0.02 N 酢酸アンモニウム緩衝液-エタノール(10:0), (7:3), (4:6) 混液

展開溶媒: (1) *n*-ブタノール-エタノール-1% アンモニア水(6:2:3), (2) 酢酸エチル-メタノール-28% アンモニア水(3.3:1:1) 又は(4.5:1:0.7) (3) メタノール-エタノール-イソアミルアルコール-28% アンモニア水(15:10:5:3) いずれも用時調製した。

その他の試薬は、すべて特級試薬を使用した。

1.3 装置、器具

クロマトグラフィー用ろ紙: 東洋濾紙 No. 50

TLC 用シリカゲルプレート: DC-Fertigplatten Kieselgell 60 メルク社製

TLC 用ポリアミドシート: ポリアミドレイヤーシート Cheng Chin Co. Ltd. 製(和光純薬工業(株)販売)

2. 試験溶液の調製

2.1 試料からの色素の溶出

(1) 液体試料は約 10 ml を採り、そのままろ紙でろ過し、着色ろ液を試料液とした。

(2) 個体試料は約 10 g を細断し、3~5 倍量の溶離液 I を加えて、1 夜放置又はホモジナイズして、色素を溶出させた。これをろ過したろ液を、水で 2~3 倍に希釈して試料液とした。

2.2 ポリアミドによる試料液の精製

試料液に、ポリアミドを少量(10~30 mg) 加え、酢酸で pH 4~5 に調整して時々攪はんしながら、10 分間放置した。それをろ紙でろ過し、着色したポリアミドを温湯で洗い小試験管にかき取った。油脂を多く含む食品で、ろ過したポリアミドがべたついているような場合は、エタノール又はエーテルで洗浄した。小試験管に溶離液 II を少量(100~200 μ l) 加えて、5 分間放置しその上澄液をろ紙クロマトグラフィー(PC) 及び TLC 用試験溶液とした。

3. PC 及び TLC による分離同定

ろ紙、シリカゲルプレート又はポリアミドレイヤーシート上に、試験溶液をスポットし風乾した後、PC は展開溶媒(1), シリカゲル TLC は(2), ポリアミド TLC は(3) で標準品と同時に展開し、分離同定した。

4. ポリアミド及び毛糸の食用色素に対する吸着

食用色素11種類を、それぞれ染色液(10:0), (7:3) 及び(4:6) に溶かし、0.5% 色素溶液を調製した。ポリアミド区分にはポリアミド 0.5 g, 毛糸区分には脱脂白色毛糸 0.5 g を、各色素溶液 100 ml に加え、時々攪はんしながら 30 分間放置し色素を染色させた後、染色液 20 ml で 3 回洗浄した。ポリアミド区分は溶離液 I を 20 ml 加えて攪はんし、30 分間放置後遠心分離した。この操作を 3 回繰り返し、得られた上澄液を合せた後、酢酸で中和して試験溶液とした。毛糸区分は 1% アンモニア水 20 ml で 30 分間水浴中で加温し溶出させた。この操作を 3 回繰り返し、その溶出液を合せて酢酸で中和し、試験溶液とした。それぞれの吸光度を求め、この値及びあらかじめ作製した各検量線より吸着量を求めた。

5. 染色液中における色素の吸着

11種の色素を用い、それぞれ染色液で色素溶液 100 ml にポリアミド 1 mg を加え色素を染色させた。そして 0.5, 2, 5, 10, 20, 40 分ごとにその染色懸濁液 10 ml を素早く注射筒に採り、メンブランフィルターでろ過し、直ちに染色液で洗浄した。フィルター中の染色ポリアミドを採り、溶離液 I を 10 ml 加えて、攪はんし、30 分間放置後遠心分離して溶出させた。この操作を 3 回繰り返し、その溶出液を合せて、酢酸で中和して吸光度を求め、前記と同様に吸着量を求めた。

結果及び考察

合成ポリアミドであるナイロンは、天然ポリアミドの羊毛と同じく、酸性条件下で N-末端基に酸性色素が結合するが、ナイロンは羊毛に比べてその染色率は 1/20

Table 1. Rate of Color Adsorption on Polyamide (Nylon Powder) and Wool

Ethanol conc.	(1) 0%		(2) 30%		(3) 60%	
Adsorbed color	mg/poly- amide (100 mg)	mg/wool (100 mg)	mg/poly- amide (100 mg)	mg/wool (100 mg)	mg/poly- amide (100 mg)	mg/wool (100 mg)
Food colors						
1. Amaranth (R 2)	2.65	0.03	2.60	0.03	2.50	0.03
2. Erythrosine (R 3)	21.50*	0.64	9.98	0.07	5.21	0.07
3. New coccine (R 102)	2.51	0.04	2.47	0.01	2.48	0.05
4. Phloxine (R 104)	34.75*	0.16	7.87	0.43	4.78	0.08
5. Rose bengale (R 105)	13.22*	0.22	10.18	0.15	5.54	0.10
6. Acid red (R 106)	5.81	0.04	5.07	0.01	0.32	0.01
7. Tartrazine (Y 4)	2.08	0.06	2.08	0.04	2.07	0.01
8. Sunset yellow FCF (Y 5)	2.60	0.07	2.50	0.04	2.17	0.02
9. Brilliant blue FCF (B 1)	5.03	0.02	1.64	0.01	1.07	0.01
10. Indigo carmine (B 2)	2.58	0.07	2.92	0.01	3.05	0.01
11. Fast green FCF (G 3)	5.11	0.03	0.03	4.77	0.01	3.10

*: Contain the precipitated color

(1) 0%: pH 5.0, 0.02 N acetate buffer (2) 30%: pH 5.0, 0.02 N acetate buffer-ethanol (7:3)

(3) 60%: pH 5.0, 0.02 N acetate buffer-ethanol (4:6)

程度と言われている²⁵⁾。また、重合度が高いほど N-末端基が少なく、染着座は少ない²⁶⁾。羊毛の構成成分は α -アミノ酸で、ナイロン-6 は ϵ -アミノカプロン酸であり、構成単位の炭素数が異なり、ポリマーの極性が異なる。つまりナイロンは毛糸に比べて疎水性の比較的高い色素をよく吸着する²⁷⁾。

1. ポリアミド及び毛糸の食用色素に対する吸着

ポリアミドの吸着能は毛糸に比較して、いずれの色素も常温でエタノールの有無を問わず食用色素をよく吸着した。その結果を Table 1 に示した。

2. ポリアミド及び毛糸に染色した食用色素の溶離

実験方法 4 に準じ、染色液 (7:3) で染色させたポリアミド (ポリアミドとして 100 mg) と毛糸 (毛糸として 100 mg) について、溶離液 I の 20 ml の溶離能を試験した。1% アンモニア水での常温下30分間放置による毛糸からの溶出率は、毛糸染色法の溶出条件 (1% アンモニア水を用いて、水浴中で30分間加温) と比較して、B-2 を除く 10 種の平均で約 9.0% であった。また、溶離液 I では、同じく 10 種の平均で 6.5% であった。

一方、ポリアミドは、溶離液 I で、常温 5 分間放置により、11種の着色料について、全溶出量の 95% 以上を溶出した。

3. ポリアミドの食用色素に対する吸着条件の検討

3.1 60% エタノールにおける pH の影響

4.2, 4.3 の実験結果から、60% エタノール中におけるポリアミドの吸着性について pH を変えて試験した。その結果を Fig. 1 に示した。いずれの色素も、pH 7.0 から 4.0 に低下するに従い、吸着率は漸次増加の傾向を示した。一方、R-106 が非常に吸着しにくいことが分かった。pH から見た効率的な吸着範囲は pH 4.0~5.0 で

Fig. 1. Effect of pH of 60% ethanol solution on adsorption

color solutions: color 0.25 g/100 ml of 0.02 N ammonium acetate buffer adjust to pH 7.0~4.0 with acetic acid and pH 3.0~2.0 with hydrochloric acid

adsorption: to 1 g of polyamide, standing for 30 min. with occasional stirring at room temperature

○—○: R3; ▲—▲: R105; △—△: R104;
●—●: G3; ×—×: B2; ○—○: R2;
▲—▲: R102; △—△: Y4; ●—●: Y5;
×—×: B1; ○—○: R106

Fig. 2. Effect of ethanol concentration on adsorption at pH 5.0
color solutions: color 0.25 g/100 ml of (0~60%) ethanol with pH 5.0, 0.02 N ammonium acetate buffer solution
adsorption: same as Fig. 1
marks: same as Fig. 1

あった。

3.2 エタノール濃度の影響

上記の効率的な pH 4.0~5.0 においても吸着しにくかった R-106, B-1 について、エタノール濃度を下げ、溶媒極性を上げて吸着能力を試験した。pH は 5.0 に調整した。その結果を Fig. 2 に示した。エタノール濃度の低下により両性電解質の R-106, B-1, G-3 に対する吸着性が増加することが示された。R-106, B-1 の吸着性を、アゾ系色素程度に向上させるためには、エタノール濃度を 1/2~1/3 に希釈すればよいことが分かった。

3.3 染着液 (7:3) 中における吸着率

ポリアミドの 0.25% 色素溶液中における吸着率について、経時的に試験した。その結果はいずれの色素も 2 分で 90% 以上を吸着し、10分程度で平衡状態に達し吸着はほぼ終了した。

4. 染着ポリアミドからの食用色素の溶出条件

キサントゲン系色素は染着性がよく、これらが薄く着色したタンパク性食品や毛糸から、色素を溶出させることは難しい。そこで、特に溶出の困難な R-3 を実験方法 4 に準じ染着液 (7:3) で染着させたポリアミドを用いて検討した。

4.1 アンモニア水による溶出について

R-3 染着ポリアミド (erythrosine 9.8 mg/100 mg of polyamide) に、0~28% のアンモニア水を加えてその

Fig. 3. Effect of ammonia concentration on elution of Erythrosine from the polyamide

adsorbed polyamide: erythrosine 9.8 mg/100 mg of polyamide

eluent: 20 ml of ammonia water/100 mg of polyamide

elution: stand for 30 min. with occasional stirring at room temperature

- : ammonia concentration 28%
- ▲—▲: ammonia concentration 10%
- ×—×: ammonia concentration 5%
- △—△: ammonia concentration 3%
- : ammonia concentration 1%

溶出効果を試験した。その結果を Fig. 3 に示した。アンモニア水による溶出率は 1 回につき 50% 程度であり、半減する溶出線が示された。平衡に達するまで 10 回程の抽出が必要で、強い染着性が示された。強く染着した色素の溶出には溶出溶媒が多い程、又はアンモニア水が濃い程有利であることが示唆された。

4.2 エタノールの溶出効果

キサントゲン系色素はシリカゲル TLC^{(15),(28),(29)} において、極性の低い展開溶媒を用いたとき大きな R_f 値を与え、疎水性が高いことを示している。そこで、エタノールによる溶出効果を試験した結果、Fig. 4 のようにエタノール濃度 50~60% において最大の効果を示した。

4.3 溶離液 I による溶出率

各色素の染着ポリアミドについて、溶離液 I 20 ml による溶出試験を行った。結果はいずれの色素も 5 分間放置により 95% 以上が溶出された。親水性の高いアゾ系色素の溶出率は低めであった。

4.4 強く染着した微量のキサントゲン系色素の溶出

毛糸染色法における微量のキサントゲン系色素は染着毛

Fig. 4. Effect of ethanol concentration on elution of Erythrosine from the polyamide adsorbed polyamide: same as Fig. 4
eluent: 20 ml of (10~90%) ethanol with 1% ammonia water
elution: same as Fig. 3

- : ethanol concentration 60%
- ▲—▲: ethanol concentration 50%
- △—△: ethanol concentration 70%
- : ethanol concentration 40%
- ×—×: ethanol concentration 30%
- : ethanol concentration 28%
- ▲—▲: ethanol concentration 20%
- △—△: ethanol concentration 90%
- : ethanol concentration 10%

糸から溶出し難く分析が困難である。ポリアミドについても同様に溶出し難い。そこで、実験方法4に準じて、染着液(7:3)でポリアミド100mgに11種類の許可色素をそれぞれに染着させた。それに約1, 3, 5, 10, 28%溶離液10mlを加えて、5分間放置し遠心分離した。この操作を4回繰り返して、十分に色素を溶出させポリアミドの脱色度を肉眼観察した。

その結果、アゾ、トリフェニルメタン、インジゴイド及び両性電解質の色素は3%以上のアンモニア濃度でよく溶出した。キサンテン系色素はFig. 3で示されたようにアンモニア濃度が高い程溶出効果も高かった。溶離液IIが食品や色素の種類を選ばことなく、最も確実に溶出された。

4.5 アルカリ性下におけるB-2の安定性

B-2はアルカリに不安定である。そこで、毛糸染色法で行うアンモニアアルカリ性溶出時の熱処理と、食品からの色素の溶出に用いる溶離液I及び本分析法の試験溶液の調製に用いる溶離液II中におけるB-2の安定性について試験した。その結果をFig. 5に示した。毛糸染色法の溶出条件では、B-2はほとんど退色した。溶離

Fig. 5. Change of time course of Indigo Carmine (B-2) in ammonia ethanol mixture
condition: 20 ppm solution of B-2 in 60% ethanol with ammonia water at room temperature

- ×—×: 1% ammonia ethanol
- : 3% ammonia ethanol
- △—△: 5% ammonia ethanol
- : 10% ammonia ethanol
- ◎—◎: 28% ammonia ethanol
- : 1% ammonia water in water bath (100°C)

液I中での退色はわずかで、室温で24時間放置したときの退色率は10%程度であった。また、溶離液II中の退色率は、室温、3時間で約75%であった。

5. クロマトグラフィー

PC及びTLCによる分離同定

簡易迅速性の点から言えば、ポリアミドTLC^{(15), (30), (31)}は染着ポリアミドに少量の水を加えた懸濁液をスポットし展開すればよいが、さらに他のTLCやPCにも広く適用できるように検討した。その結果、染着ポリアミドに溶離液IIを少量(100~200μl)に加え、約5分間静置し、直ちにその上澄液を直接スポットした。展開溶媒は、アンモニアを含むアルカリ性のものが良く、1.2で前述の組成などが良好に展開分離した。

6. 市販食品への適用

本分析法を和・洋菓子、清涼飲料水、乳・肉・魚介類加工品、漬物、そう菜などの食品506検体に用いたところ、PCやTLCによる色素の分離同定において、食品成分の妨害によるテーリングやRf値の変動も全くと言っていいほど見られず、標準品のRf値と非常によく一致し、毛糸染色法では不能なB-2やキサンテン系色素の微量分析にも十分であった。その結果をTable 2に示した。

まとめ

得られた本分析法を毛糸染色法と比較すると次のとお

Table 2. Food Colors in Commercial Foods

Sample	No. of sample	R-2	R-3	R-102	R-104	R-105	R-106	Y-4	Y-5	B-1	B-2	G-3
Confectioneries	254 (121)	3	51	15	3	2	11	50	16	31	2	
Soft drinks	38 (16)			3				13	5	9		
Dairy, meat products	7 (2)			1				1	1	1		
Marine products	21 (11)		2	6			4	4	6	1		
Pickles	79 (19)		1	5			8	9	3	9		
Daily dishes	18 (4)							4	4			
Others	89 (14)		2	2			4	7	1	7		

() No. of sample detected

Scheme 1. Analytical procedure for food color in food

りである。

1. ポリアミドは不純物が少なく、毛糸のように脱脂、アルカリ処理が不要であった。2. 試料溶液中のアルコールの揮散処理が不要であった。3. 吸着速度が速いため、30分間加温する事なく、常温下10分間放置で十分吸着した。4. 溶離特性が良いため、30分間加温する事なく、常温下5分間放置で十分溶離した。5. ポリアミドの色素吸着能が良いため得られた試験溶液中の色素濃度が高く、中和濃縮操作が不要であった。6. 毛糸染色法で施される熱アルカリ処理において、ほとんど消失してしまう B-2 分析にも十分対応できた。7. 吸着及び溶離特性がよいため、毛糸染色法では著しく困難なキサンテン系色素の微量分析が可能であった。8. 市販食品 506 検体に適用したところ、全く不都合がなく非常にまとまりの良い安定したクロマトグラムが得られた。このように、本分析法による食用許可色素11種類の分析はこれまでに

なく、簡易で効率良く、精度、迅速性にも優れたものであった。

なお、本研究の要旨は、日本食品衛生学会第51回学術講演会 (1986年5月 東京) において発表した。

稿を終わるにあたり、標準色素を提供して戴いた東京都立衛生研究所広門雅子氏及び三栄化学工業 (株)、そして貴重な文献を戴いた東京都立繊維試験所大久保愛二氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 食品添加物公定書注解編集委員会編：第三版食品添加物公定書注解 p. 419~494 (1974) 金原出版、東京。
- 2) Association of Official Agricultural Chemists: Association of Official Methods of Analysis, 7th, Ed. p. 652~653 (1950) Washington, D. C.
- 3) 日本薬学会編：“衛生試験法・注解” p. 351~374

- (1980) 金原出版, 東京.
- 4) 山本勝彦, 森山繁隆, 坂部美雄: 食衛誌, **13**, 22~28 (1972).
- 5) Trace Materials (Colours) Committee of the British Food Manufacturing Industries Research Association, 1st Report: Analyst **88**, 864~871 (1963).
- 6) Sohar, J.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **132**, 359~362 (1967).
- 7) Perdich, A., Prihavec, D.: *ibid.* **134**, 239~242 (1967).
- 8) Dolinsky, M., Slein, C.: Anal. Chem. **34**, 127~129 (1962).
- 9) 藤田幸江, 志村 博: 日化. **88**, 70~73 (1967).
- 10) 外海泰秀: 衛生化学 **19**, 231~235 (1973).
- 11) Graichen, C., Moliton, J. C.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **46**, 1022~1029 (1963).
- 12) Graichen, C.: *ibid.* **58**, 278~282 (1975).
- 13) 西島基弘, 上村 尚, 冠 政光, 高橋尚子, 中里光男, 渡辺優子, 木村康夫, 直井家寿太: 食衛誌, **18**, 463~469 (1977).
- 14) 大井尚文, 稲葉栄司: 薬誌. **87**, 741~743 (1967).
- 15) 竹下隆三, 坂上米次: 衛生化学 **15**, 72~76 (1969).
- 16) Yanuka, Y., Shalon, Y., Weissenberg, E., Nir-Grosfeli, I.: Analyst **88**, 872~876 (1963).
- 17) 能勢憲英: 食衛誌, **11**, 46~48 (1970).
- 18) Graichen, C., Sclar, R. N., Ettelstein, N., Freeman, K. A.: J. Assoc. Off. Agri. Chem. **38**, 792~796 (1955).
- 19) 丸山 幸三, 川鍋 康晴: 食衛誌, **15**, 226~231 (1974).
- 20) Lehmann, G., Hahn, H.: Z. Analyst. Chem. **238**, 445~456 (1968).
- 21) Davidek, J., Davidková, E.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **131**, 99~101 (1966).
- 22) Davidek, J.: *ibid.* **132**, 285~291 (1967).
- 23) 神蔵美枝子: 食品衛生研究 **20**, 817~826 (1970).
- 24) 繊維学会編: “繊維便覧 (原料編)” p. 583~611 (1978) 丸善 (株), 東京.
- 25) 繊維学会編: “繊維便覧 (加工編)” p. 810~819, 772~791 (1978) 丸善 (株), 東京.
- 26) 高沢弘明, 片山 明, 黒木宣彦: Sen-i Gakkai-shi **35**, 54~60 (1979).
- 27) 日本學術振興界染色加工 第120委員会編: “新染色加工講座—4 染色・堅ろう性の理論” p. 168~174 (1972) 共立出版 (株), 東京.
- 28) 神蔵美枝子: 食衛誌, **7**, 338~342 (1966).
- 29) 藤井清次, 神蔵美枝子: 化学の領域増刊号 **64**, 173~184 (1964).
- 30) Takeshita, R., Yamashita, T., Itoh, N.: J. Chromatogr. **73**, 173~183 (1972).
- 31) 竹下隆三: 衛生化学 **16**, 293~306 (1970).