における不利はさほどないと考える。

文 献

- 1) 井上哲男, 河村太郎, 上条昌弥, 浅倉倫子: 衛生化学 10 (1), 26 (1964).

- 2) 井上哲男, 河村太郎, 上条昌弥, 浅倉倫子: 衛生化学 10 (1), 47 (1964).
- 3) 中西香爾: “赤外線吸収スペクトル定性と演習” (1962) 南江堂.

4-アミノアンチピリンによるクロルフェノール類の定量 (第1報)

食品中の Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide の定量

(昭和 37 年 10 月 10 日 受 理)

近 藤 竜 雄* 川 城 巖*

Determination of Chlorophenols with 4-Aminoantipyrine (I)
Determination of Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide in Foods

Tatsuo KONDO and Iwao KAWASHIRO

(National Institute of Hygienic Sciences:
2-chome, Tamagawayoga-machi, Setagaya-ku, Tokyo)

Determination of trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide in food was studied and the colorimetric method was established. Its principle is based on the oxidative condensation of 2,4,5-trichlorophenol, produced from trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide in food by steam distillation, with 4-aminoantipyrine in pH 7.8 phosphate buffered medium to yield an indophenol type pigment.

Residual trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide in the fruit of *Citrus natsudaidai* HAYATA which had been soaked in 10 v/v % ethanolic aqueous solution containing 500 ppm of it for one hour, was determined according to the authors' method.

3~10 days after soaking, the amount of residual trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide was not detected in the fruit (except peel and seed), but 16~22 ppm of it was found in the peel of *Citrus natsudaidai* HAYATA.

(Received October 10, 1962)

いわゆるヨ-カビン (Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide, 以下 T.T と略称) は昭和29年頃より, つくだ煮その他の防腐剤としての指定申請が厚生省食品衛生課に対しなされたが, このものの毒性に関し種々論議が行なわれ現在なお懸案中のものである。ところが昨年より本品を表面塗布による果実防腐剤として使用する可否について, 新たな局面が展開されてき

たため, 行政当局より果実に付着残留した本品の検出定量法の研究を要請され, その検討を行なった。著者らはフェノール側から定量することを企て食品中に存在する T.T からリン酸酸性で水蒸気蒸留することによって 2,4,5-トリクロルフェノール (以下 2,4,5-T と略称) を分離し, なお存在する定量妨害物を水酸化ナトリウムアルカリ性でエーテル抽出することによって除去し, 2,4,5-T の単離を試みた。クロルフェノール類の定量法にはニトロソフェノール法¹⁾, IR²⁾³⁾, UV, ガスクロマト

* 国立衛生試験所食品部: 東京都世田谷区玉川用賀町 2-203

グラフィー⁸⁾ およびインドフェノール系色素形成による (1) Gibbs 法⁴⁾, (2) パラアミノフェノール⁶⁾, (8) ジメチルパラフェニレンジアミン⁶⁾, (4) 4-アミノアンチピリン⁷⁾ を用いる方法等が考えられるが、著者らは試薬の安定性、操作しやす点および感度等を考慮し、(4)の Emerson 反応^{7)~9)}による比較的操作が簡単で感度のよい比色定量法を考案した。4-アミノアンチピリンのフェノール類に対する呈色機構はフェリシアン化カリウムの存在下で酸化的にフェノールのパラ位に縮合してインドフェノール系色素を形成すると考えられており、Emerson⁷⁾ はその反応機構をつぎの式で表わし、

この色素形成の条件としてつぎのように述べている。(1) 少なくとも一つのフェノール性OHが存在すること。(2) フェノール性OHに対しパラ位に置換基がないかあるいはハロゲン、カルボキシル、スルホン酸、ヒドロキシル、あるいはメトキシル基によって置換されていること(これらの基は反応で追い出される)。(8)アルキル、アリル、エステル、ニトロ、ベンゾイル、ニトロソおよびアルデヒド基でパラ位が置換されているときは反応は妨げられる。

また本反応の pH については Gottlieb ら¹⁰⁾が炭酸ナトリウムアルカリ性 (pH 10.4~10.6) で、Martin¹¹⁾ および Ettinger ら¹²⁾はアンモニアアルカリ性 (pH 9.8~10.2) で、Schenk¹³⁾はリン酸-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 7.6~8.0) で行なう方法を述べており、また Lacoste ら¹⁴⁾および南原ら¹⁵⁾は本反応がある種の緩衝液ではイオン濃度により影響をうけることを認め、水酸化ナトリウム緩衝液の使用を推奨し、pH はそれぞれ 9.1~9.2, 8.2を採用した。なお従来の文献では 2,4,5-T について定量法を検討した報告はみられない。そこで著者らは 2,4,5-T の定量条件について検討し、pH および緩衝液の相違によって呈色度および安定度が大きい異なることを認め (Fig. 1) より安全な条件を見いだした。なお、Fig. 2, 3, 4 および 5 に示すように本定量条件においてフェノールおよび他のクロルフェノール類も同様に呈色するが、著者らの実験により、2,4,5-T は 2,4,6-トリクロルフェノールに比べ弱酸ではあるが 2,4,6-トリクロルフェノールと同様¹⁶⁾に炭酸ナトリウムアルカリ性で水蒸気蒸留によって蒸留されないことを見いだしたのでフェノールのような弱酸が共存しても前処理として炭酸ナトリウムアルカリ性で水蒸気蒸留すればそれらは除かれ妨害しない。また Fig. 2, 3, 4 および 5 において色素水溶液およびそのクロロホルム抽出物の吸収スペクトルをみると、フェノールと *o*-クロルフェノール、

o-クロルフェノールと 2,4-ジクロルフェノール、2,6-ジクロルフェノールと 2,4,6-トリクロルフェノール、2,5-ジクロルフェノールと 2,4,5-T より生じた色素溶液がおのおの同じ λ_{max} を有し、かつ、ほぼ同様の吸収スペクトルを示すことおよび Table 2 に示した色素のクロロホルム抽出物のロ紙クロマトグラフィーの結果はフェノール性OHのパラ位に縮合し⁶⁾ おのおの同一の色素を生ずるとの推定を認めるものである。

1. 定量法

A 法：試料 (2,4,5-T として 100~500 μg を含むもの) をミキサーで細切し、水を加え 300 ml とし容量 1 L のフラスコに入れ、40%リン酸 10 ml を加えて酸性とし水蒸気蒸留を行ないあらかじめ 4%水酸化ナトリウム液 2 ml を入れた受器に留液約 120 ml を採取する。留液を容量 200 ml の分液ロートに移し、4%水酸化ナトリウム液 4 ml を加えよく振とうしたのちエーテル 40 ml を加え 1 分間以上振とうしたのち静置し、エーテル層は除く (なお水層に濁りのあるときは、さらにエーテル少量で抽出を行なう)。水層を容量 200 ml のビーカーに入れ、水浴上で注意深く加温し溶存するエーテルを除去する。冷後 10%リン酸を用いて pH メーターで pH 7.8 とし、その一部 (2 分 1 量以下) を正確にメスフラスコにとり、リン酸塩緩衝液 (0.1 M KH_2PO_4 と 4% NaOH で pH 7.8 としたもの) 30 ml を加え、ついで 1%4-アミノアンチピリン (1%4-A) 2 ml および 4%フェリシアン化カリウム (4%F) 1.2 ml を加え全容 100 ml とし、5 分間放置後直ちに 510 m μ における吸光度を測定し (T.T を含まない試料を用いて同様操作したものを対照とする)、Fig. 6 のように 2,4,5-T の 0~300 μg までをおのおのメスフラスコにとり、リン酸塩緩衝液 30 ml と水を加えて約 90 ml とし、つぎに 1%4-A 2 ml および 4%F 1.2 ml を加え全容 100 ml とし 5 分間放置後直ちに 510 m μ で吸光度を測定し作成した検量線より、2,4,5-T の含量を求める。

B 法：試料 (2,4,5-T として 0~100 μg を含むもの) を A 法に従い処理しその一部 (2 分 1 量以下) を正確にメスフラスコにとり、リン酸塩緩衝液 30 ml を加えたのち、1%4-A 0.5 ml および 4%F 0.3 ml を加え全容 100 ml とし、5 分間放置後直ちにクロロホルム 20 ml で 1 分間激しく振とうしたのち静置し、クロロホルム層を採取し、480 m μ における吸光度を測定する。T.T を含まない試料を用いて同様操作したものを対照とする。Fig. 7 のように 2,4,5-T の 0~50 μg をおのおのメスフラスコに入れ、リン酸塩緩衝液 30 ml を加え水で約 90 ml とし、つぎに 1%4-A 0.5 ml および 4%F 0.3 ml を加え全容 100 ml とし、5 分間放置後直ちにクロロホルム 20 ml で 1 分間振とうしたのち静置、クロロホルム層

Fig. 1. Effect of pH, buffer and time on absorbance of color produced by 2,4,5-trichlorophenol

— 0.1 M KH_2PO_4 -NaOH sample vs. blank
 --- 0.4 M H_3BO_3 -NaOH buffer sample vs. blank

をとり 480 $\text{m}\mu$ で吸光度を測定して得た検量線より 2,4,5-T 含量を求める。

なお A 法, B 法とも T.T. を含まない同一試料を用いて回収率を求め補正を加える必要がある。

試料中の T.T. 含量 (ppm) = 試料 1 g について検出された 2,4,5-T 量 (μg) $\times 2.15$

また試料中にフェノール混在のおそれがあるときは前記定量法で前処理として, 10%炭酸ナトリウム 10 ml を加えてアルカリ性とし水蒸気蒸留を行ない留液 120 ml をとりこれを捨て, ついで 40%リン酸 10 ml を加え酸性としてふたたび水蒸気蒸留を行ない以下定量法 A あるいは B と同様に処理すればよい。

2. 定量法の検討

測定装置 日立分光光度計 EPU 2 A 型

日立自記分光光度計 EPS-2 型 液層 10 mm のセル使用

東亜電波製 HM 5 型 pH メーター

試薬 2,4,5-T: 東京化成 G. R. を石油エーテルで 2 回再結晶。mp 67°, T.T.: 厚生省食品衛生課より送付されたもの, フェノール: 特級品を蒸留精製, 他のクロルフェノール類も市販品 (東京化成) を蒸留あるいは再結晶して精製, クロロホルム: 特級品を再蒸留し, クロロホルム 100 ml に対し純エタノール 1 ml を加えたものの。

その他の試薬はすべて試薬特級を使用した。なお, T.T. (2,4,5-T として) およびフェノール類は 100 ppm を含む 10 v/v% エタノール性水溶液を作り実験に供した。

(1) 呈色の pH および緩衝液による影響と安定性

Lacoste ら¹⁴⁾ および南原ら¹⁵⁾ が推奨したホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝液は 2,4,5-T に関してはブランクの着色がほとんどみられない点のみがすぐれているだけであった。そこで著者らは緩衝液の種類によって影響の少ない pH 7.8 を採用し, リン酸塩緩衝液を用いることとした。実験は 2,4,5-T 300 μg をおのおの 100 ml メスフラスコにとり緩衝液 30 ml を加え水で約 90 ml とし 1% 4-A 2 ml および 4% F 1.2 ml を加えて 100 ml とし, 510 $\text{m}\mu$ における吸光度を測定した。なお 0.1 M KH_2PO_4 -NaOH の pH 8.9 と 9.9 は最終溶液を pH メーターを用いて調節した。また pH 7.8 における緩衝液の濃度による影響を考慮し, 定量時においてリン酸塩緩衝液 30, 60, 90 ml を用いて吸光度を測定したが吸光度に対する影響は認められなかった。従来フェノール類の 4-アミノアンチピリン色素はクロロホルムによく溶ける⁷⁾ ことが知られており, フェノールの微量定量¹²⁾ に応用されているが, 著者らの実験によれば 2,4,5-T の 50 および 25 μg を用いて生じた色素のクロロホルム抽出物の呈色は室温 (27°) で非常に安定であり, 48 時間後に 1% 減少 (吸光度) するのみであった。

(2) フェノールおよび他のクロルフェノール類の影響

フェノールあるいはクロルフェノール類 300 μg ずつをそれぞれメスフラスコにとり, リン酸塩緩衝液 30 ml を加え水で約 90 ml とし, つぎに 1% 4-A 2 ml および 4% F 1.2 ml を加え全容 100 ml とし 5 分後に測定した結果を Fig. 2, 3 に示す。なおペンタクロルフェノール

Fig. 2. Absorption spectra of colored solutions of chlorophenols

300 μg /100 ml aqueous solution phosphate buffer pH 7.8 stand for 5 min

- ① 2,6-dichlorophenol
- ② 2,5-dichlorophenol
- ③ *m*-chlorophenol
- ④ 2,4,6-Trichlorophenol
- ⑤ 2,4,5-trichlorophenol
- ⑥ 3,4-dichlorophenol
- ⑦ reagent blank

Fig. 3. Absorption spectra of colored solutions of chlorophenols

300 μg /100 ml aqueous solution phosphate buffer pH 7.8 stand for 5 min.

- ⑦ reagent blank
- ⑧ phenol
- ⑨ *o*-chlorophenol
- ⑩ 2,4-dichlorophenol
- ⑪ 2,3-dichlorophenol
- ⑫ *p*-chlorophenol
- ⑬ 2,3,4,6-tetrachlorophenol
- ⑭ pentachlorophenol

Fig. 4. Absorption spectra of colored solutions of chlorophenols

50 μg /20 ml chloroform extract phosphate buffer pH 7.8

- ① 2,6-dichlorophenol
- ② 2,5-trichlorophenol
- ③ *m*-chlorophenol
- ④ 2,4,6-trichlorophenol
- ⑤ 2,4,5-trichlorophenol
- ⑥ 3,4-dichlorophenol
- ⑦ reagent blank

Fig. 5. Absorption spectra of colored solutions of chlorophenols

50 μg /20 ml chloroform extract phosphate buffer pH 7.8

- ⑦ reagent blank
- ⑧ phenol
- ⑨ *o*-chlorophenol
- ⑩ 2,4-dichlorophenol
- ⑪ 2,3-dichlorophenol
- ⑫ *p*-chlorophenol
- ⑬ 2,3,4,6-tetrachlorophenol

は特異的に呈色（緑青色）するが不安定で退色しやすい。またフェノールあるいはクロルフェノール類 50 μg ずつをそれぞれメスフラスコにとり、リン酸塩緩衝液 30 ml を加え水で約 90 ml とし、ついで 1% 4-A 0.5 ml および 4% F 0.3 ml を加え全容 100 ml とし、5 分間放置後直ちにクロロホルム 20 ml で 1 分間激しく振り静置したのちクロロホルム層を採取し測定した結果を Fig. 4, 5 に示す。

(8) クロロホルム抽出物のロ紙クロマトグラフィー

フェノールあるいはクロルフェノール類 300 μg ずつをそれぞれメスフラスコにとり、リン酸塩緩衝液 30 ml を加え水で約 90 ml とし、ついで 1% 4-A 1.0 ml および 4% F 0.6 ml を加え全容 100 ml とし 5 分間放置後直ちにクロロホルム 3 ml で色素を抽出する。ロ紙上に点じた色素は長期間退色しないことを認めたので、つぎのようにロ紙クロマトグラフィーを行なった。東洋ロ紙 No. 51 A (2 × 40 cm) の一端より 7 cm のところに上記クロロホルム抽出物を直径約 5 mm の円を形成するように点じ風乾し、展開溶媒の上層を用いて上昇法で 15 ~ 16 時間 (室温 25°) 展開し、移動した色素 (赤 ~ 橙色) をみる。Table 3 に示したようにフェノールと 2,4,5-T は明らかに分離され、検体中に共存するフェノール (および *p*-クロルフェノール) の検出に応用できる。

Table 1. Wave Lengths (m μ) of Maximum Absorbance of Coloring Matters Produced by 4-Aminoantipyrine Reagent at pH 7.8

Compound	Aqueous solution	Chloroform extract
2,5-Dichlorophenol	505~510	478
2,4,5-Trichlorophenol	505~510	478
(Trimethyl lauryl ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide)	505~510	478)
2,6-Dichlorophenol	520~525	484
2,4,6-Trichlorophenol	520~525	484
2,3,4,6-Tetrachlorophenol	505~510	490
Phenol	510	456
<i>p</i> -Chlorophenol	510	456
<i>o</i> -Chlorophenol	515	470
2,4-Dichlorophenol	515	470
<i>m</i> -Chlorophenol	500~505	464
3,4-Dichlorophenol	500~505	464
2,3-Dichlorophenol	510	475

Table 2. Rf Values of Coloring Matters Produced by 4-Aminoantipyrine Reagent

Compound	Rf value*
2,5-Dichlorophenol	0.89
2,4,5-Trichlorophenol	0.89
2,6-Dichlorophenol	0.90
2,4,6-Trichlorophenol	0.90
Phenol	0.83
<i>p</i> -Chlorophenol	0.83
<i>o</i> -Chlorophenol	0.88
2,4-Dichlorophenol	0.88
<i>m</i> -Chlorophenol	0.87
3,4-Dichlorophenol	0.87

* Solvent: isoamyl alcohol/pyridine/H₂O (2 : 1 : 1) (upper layer)

Table 3. Rf Values of Coloring Matters Produced by 4-Aminoantipyrine Reagent

Compound	Solvent						
	1	2	3	4	5	6	7
Phenol	0.83	0.91	0.90	0.90	0.85	0.94	colorless
2,4,5-Trichlorophenol	0.89	0.95	0.94	0.94	0.91	0.96	colorless

* Solvents: 1 = iso amyl alcohol/pyridine/H₂O (2 : 1 : 1)
 2 = iso amyl alcohol/pyridine/H₂O (1 : 1 : 1)
 3 = iso amyl alcohol/pyridine/H₂O (1 : 2 : 1)
 4 = *n*-butanol/pyridine/H₂O (1 : 1 : 1)
 5 = iso amyl alcohol/ethanol/H₂O (5 : 2 : 5)
 6 = *n*-butanol/ethanol/H₂O (5 : 2 : 5)
 7 = iso amyl alcohol/acetic acid/acetone/H₂O (4 : 1 : 1 : 1)

(4) 試薬の添加量

Fig. 6, 7に示したように定量法Aでは1% 4-A 2 ml および4% F 1.2 ml を, 定量法Bでは1% 4-A 0.5 ml および4% F 0.3 ml を, 前者では40~300 μ g, 後者では0~50 μ g まで Beer の法則が成立し安定した検量線が得られることから採用した。

(6) フェノールの除去

2,4,5-T および T.T (2,4,5-T として) それぞれ400 μ g および100 μ g を用いておのおの別々に水で300 ml とし, 10%炭酸ナトリウムを加えアルカリ性として水蒸気蒸留を行ない留液120 ml を採取, ついで40%リン酸10 ml を加え酸性とし水蒸気蒸留して留液120 ml をとり, 各留液について蒸留水を用いて同様操作したものを対照として定量法Aにより定量したところ, アルカリ性で留出した留液には検出されず, 酸性で留出した留液に85~

88%の回収率で検出された。したがってもしも試料中にフェノール共存のおそれあるときは前処理として炭酸ナトリウムアルカリ性として水蒸気蒸留を行ないフェノールを除去¹⁹⁾すればよい。

(6) T.T 中の2,4,5-T の定量法

a 法: T.T (2,4,5-T として相当量) 300, 200, 100 μ g をそれぞれメスフラスコにとり, リン酸緩衝液30 ml を加え, 水で約90 ml としついで1% 4-A 2 ml および4% F 1.2 ml を加え全容100 ml とし, 5分間放置後直ちに510 m μ で吸光度を測定し, 2,4,5-T を T.T と同様に操作して得た検量線から T.T 中の2,4,5-T 量を求める。

b 法: T.T (2,4,5-T として500 μ g 相当量) を水で60 ml とし, 濃塩酸3 ml を加えて酸性とする。ついでエーテル30 ml ずつで3回抽出を繰返しエーテル層を集め

Fig. 6. Calibration curve of 2,4,5-trichlorophenol aqueous solution sample vs. blank

Fig. 7. Calibration curve of 2,4,5-trichlorophenol chloroform extract sample vs. blank

水層は捨てる。エーテル抽出物を4%水酸化ナトリウム5 mlを加えた水120 mlで激しく振とうする。これを水浴上で注意深く加温しエーテルを除去する。冷後 pHメーターで10%リン酸を用いて pH 7.8に調節し、その2分の1量を正確にメスフラスコに入れ、リン酸塩緩衝液30 mlを加え、ついで1% 4-A 2 ml および4% F 1.2 mlを加えて5分間放置後510 mμにおける吸光度を測定し、2,4,5-T 500 μg, 400 μg, 300 μgを用いて T.T と同様に操作したものと比較し定量する。a 法と b 法とも同じ数値が得られる。

(7) 夏ミカン中添加2,4,5-T および T.T の回収実験
夏ミカンの果実(果皮および種を除く) 100 gあるいは果皮50 gに 2,4,5-T あるいは T.T を加え定量法A およびBにより回収実験を行なった。未添加試料を同様に操作して対照とした。なお、市販の夏ミカンおよびミカンからは定量法Bでも皮(25 g) および実(50 g)に

ついて2~3 μg (2,4,5-Tとして) 程度のブランクが得られるのみであり、定量法Aでは試薬のブランクと同様であった。また定量法Aにおいて前処理として炭酸アルカリ性にして水蒸気蒸留すれば塩基性、中性および弱酸性の定量妨害物は除去されるはずであるが、著者らが夏ミカンを用いて実験した結果では留液をアルカリ性としてエーテル抽出しないと皮(50 g)で100 μg (2,4,5-Tとして) 程度の定量妨害物が検出された。なお、試料より回収した定量時のものは定量法AおよびBとも2,4,5-Tと同様の吸収スペクトルを示した。

Table 4. Recovery of 2,4,5-Trichlorophenol Added to Fruit of *Citrus natsudaidai* HAYATA

2,4,5-Trichlorophenol

Added (μg)	Recovered	Recovery (%)
200/50 g *	170	85
100/100 g **	86	86
100/50 g *	84	84
50/50 g *	33	66
50/100 g **	34	68

* 50 g of peel

** 100 g of fruit (except peel and seed)

Table 5. Recovery of Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide Added to Fruit of *Citrus natsudaidai* HAYATA

μg as 2,4,5-trichlorophenol

Added	Recovered	Recovery (%)
200/50 g *	172	86
100/50 g *	85	85
100/100 g **	83	83
50/50 g *	32	64
50/100 g **	33	66
30/100 g **	20	67

* 50 g of peel

** 100 g of fruit (except peel and seed)

3. 処理夏ミカン中の T.T の残留試験

T.T 500 ppmを含む10 v/v% エタノール性水溶液中に1時間浸漬した夏ミカンについて、果実(果皮および種を除く) および果皮別々にその残留試験を行なった。

Table 6. Residual Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide in Fruit of *Citrus natsudaidai* HAYATA which was Soaked in 10 v/v % Ethanolic Aqueous Solution containing 500 ppm of it for One Hour

Days after soaking	3		5		5		10	
(temperature)	(20~25°)		(20~25°)		(23~28°)		(23~28°)	
Residue	Peel	Fruit*	Peel	Fruit*	Peel	Fruit*	Peel	Fruit*
ppm	22	0	20	0	16	0	17	0

* Fruit (except peel and seed)

Trimethyl-lauryl-ammonium-2,4,5-trichlorophenoxide (ppm)

=2,4,5-trichlorophenol (μg) per 1 g of sample $\times$ 2.15

文 献

- 1) L. Lykken, R. S. Treseder, V. Zahn: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **18**, 103~9 (1946).
- 2) R. H. Burtshell, A. A. Rosen, F. M. Middleton, M. B. Ettinger: J. Am. Water Works Assoc. **51**, 205 (1959).
- 3) J. A. Barry, R. C. Vasishth, F. J. Shelton: Anal. Chem. **34**, 64 (1962).
- 4) M. B. Ettinger, C. C. Ruchhoft: Anal. Chem. **20**, 1191 (1948).
- 5) 板井考信, 神谷庄造: 分析化学 **7**, 616 (1958).
- 6) 村井好之助: 薬誌. **81**, 231 (1961).
- 7) E. Emerson: J. Org. Chem. **8**, 417 (1943).
- 8) E. Emerson, L. C. Beegle: ibid. **8**, 433(1943).
- 9) E. Emerson, K. Kelly: ibid. **13**, 532 (1948).
- 10) S. Gottlieb, P. B. Marsh: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **18**, 16 (1946).
- 11) R. W. Martin: Anal. Chem. **21**, 1419 (1949).
- 12) M. B. Ettinger, C. C. Ruchhoft, R. J. Lishka: ibid. **23**, 1783 (1951).
- 13) R. U. Schenk: Chemist-Analyst **49**, 14(1960).
- 14) R. J. Lacoste, S. H. Venable, J. C. Stone: Anal. Chem. **31**, 1246 (1959).
- 15) 南原利夫, 浦川多賀子: 薬誌. **80**, 1663(1960).