肉製品の塩漬に関する研究—I.

肉製品中の硝酸根の簡易比色定量法*

森 一雄・山本泰男・赤羽義章・大藪末和

(1972年6月17日受理)

Studies on Curing of Meat Products—I.

A Modified Determination Method for Nitrate Ion in Meat Products

Kazuo MORI, Yasuo YAMAMOTO, Yoshiaki AKAHANE,
and Suekazu OYABU**

Several methods have been proposed for the determination of NO_3^- in meat products among these methods. The *m*-xylenol and the Ratcliff methods are frequently used which cannot be considered as satisfactory especially when applied for analysis of many samples simultaneously. The authors investigated to simplify the complicated procedure of the RATCLIFF method, in which NO_3^- is reduced using a cadmium column, and devised a modified method.

The procedure of this new method is as follows: Extract 5-10 g of finely minced meat with 300-400 ml of distilled water at 80°C for 30 minutes, after standing for 10 minutes at room temperature. On cooling, make up the volume to 500 ml with distilled water and filter. 50 ml of the filtrate is passed through a cadmium column and total $\text{NO}_3^- \cdot \text{NO}_2^-$ is determined colorimetrically at 540 m μ through color development with a solution of sulfamine and naphthylethylenediamine. Similarly, NO_2^- is determined separately with the same eluate forgoing treatment on the cadmium column. The difference in both these values would result in the NO_3^- content.

Recovery was about 95%, when 500 ppm of NO_3^- was added to whale meat.

肉製品の製造に際し、発色剤として一般に亜硝酸塩ならびに硝酸塩が使用されている。肉製品中における亜硝酸根の定量法については食品衛生検査指針¹⁾に示された方法が基準となり、さらに菅野ら²⁾が改良検討を加えており特に問題はないと考えられる。しかし硝酸根の定量法については、特に普遍化している方法はなく、種々の方法で行なわれているのが現状であり、かついずれの方法も一長一短を有し、特に肉製品中での硝酸根の消長について検討する場合、ある程度の精度を有し、かつ短時間により多くの検体を処理できる定量法の必要性を感じてきた。

硝酸根の定量はポーラログラフ^{3,4)}によつても行なわれるが、主体は比色定量法であり、大別して

- 1) フェノール化合物をニトロ化して定量するメタキシレノール法⁵⁾、フェノールジスルホン酸法⁶⁾、
- 2) 硝酸塩を亜硝酸塩に還元して比色する方法^{7,8)}、
- 3) 硝酸根の酸化能を利用するブルシン法⁹⁾、ジフェニルアミン法¹⁰⁾、

等が報告されている。

メタキシレノール法は肉製品の硝酸根定量に比較的多く利用されているが、操作の煩雑さや確認限界濃度

* 本研究は昭和 46 年 4 月日本水産学会年会 (東京) において発表した。

** 日本新薬 (株) 食品技術研究所 (Nippon Shinyaku Co., Ltd., Food Research Institute, Kyoto, Japan)

に問題があり^{11,12)}, ブルシン法は定量値に変動が大きく¹³⁾, またフェノールジスルホン酸法は共存イオンの妨害を受けやすい点¹⁴⁾に問題がある。著者らは既述のごとく迅速定量という目的から考えて, 今回操作の簡易性の面からカドミウムの還元力を利用する RATCLIFF 法¹⁵⁾を取り上げ, これに改良を加えて, 肉製品中の硝酸根ならびに亜硝酸根を同時に定量できる方法を確立し, さらに A. O. A. C. 法のメタキシレノール法と比較検討を行なつたので報告する。

実験方法

RATCLIFF 法 RATCLIFF 法の原理は Fig. 1 に示すように, 亜硝酸のジアゾ化反応を利用した比色法

Meat product (10 g)
 —homogenized with 10 ml of hot distilled water (70°C), 5 ml of buffer solution and 0.1 ml nonanol.
 Homogenate
 —filtered through a small wire-wool plus.
 Filtrate
 —raised to 80-90°C to coagulate the protein.
 —added 0.5 ml of B. C. P. solution and then added saturated potassium aluminium sulphate solution until the purple color changed to a definite gray.
 —made up to 200 ml.
 —filtered through a Whatman No. 42 filter paper.
 Filtrate (20 ml)
 —added 50 ml of buffer solution (pH 9.5-9.7).
 —passed through cadmium column.
 Eluate
 —made up to 100 ml with distilled water.
 Eluate (5 ml)
 —added 10 ml of orange I solution and 5 ml of distilled water and stood at 25-30°C for 30 min.
 Absorbance at 474 m μ

Fig. 1. Procedure of RATCLIFF method.

Finely Minced Meat Product (5-10 g)	
—extracted with 300-400 ml of distilled water at room temperature for 10 min and heated at 80-85°C for 30 min.	
—cooled and made up to 500 ml with distilled water.	
—filtered through a Toyo No. 5C filter paper.	
Filtrate I (50 ml) (NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ determination) —passed through cadmium column. Eluate —collected 20 ml, rejecting the first 30 ml. Eluate (10 ml) —added 1 ml of sulfamine solution and stood for 15 min. —added 1 ml of naphthylethylenediamine solution and stood for 15 min. Absorbance at 540 m μ (NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻)	Filtrate II (10 ml) (NO ₂ ⁻ determination) — Absorbance at 540 m μ (NO ₂ ⁻)

Fig. 2. Procedure of modified method.

Fig. 3. Apparatus for nitrate reduction.

Fig. 4. Effect of passing time on reduction of nitrate in the cadmium column.

Table 1. Comparison of the nitrate reducing efficiency among the six cadmium columns.

Test number	Cadmium column number					
	1	2	3	4	5	6
1	0.294	0.296	0.294	0.295	0.296	0.299
2	0.298	0.296	0.294	0.302	0.292	0.298
3	0.298	0.298	0.293	0.302	0.290	0.304
4	0.297	0.294	0.303	0.297	0.297	0.300
5	0.293	0.299	0.302	0.295	0.295	0.294

* Absorbance at 540 $m\mu$ obtained by the reduction of standard solution containing 0.1 $\mu\text{g/ml}$ of NO_3^- -N.

Table 2. Effect of pH on reduction of nitrate in the cadmium column.

Nontreated column		Pretreated column	
*0.298	0.306	0.299	0.301
0.290	0.295	0.297	0.290
0.291	0.292	0.289	0.291
0.294	0.284	0.295	0.292

* Absorbance at 540 m μ obtained by the reduction of NO₃⁻-N standard solution containing 0.1 μ g/ml of NO₃⁻-N.

Fig. 5. Comparison of the absorbance of the standard solution with that of test solution. **Fig. 6.** Absorption spectra of the standard solution and the test solution.**Table 3.** Comparison of the determined values among the three methods.

	Concentration of NO ₃ ⁻ (μ g/ml)	Mean extinction value at 540 m μ	Standard deviation $\times 10^{-3}$	Coefficient of variation (%)
Modified method	0.25	0.1733	± 2.0	± 1.166
	0.50	0.3445	± 3.8	± 1.094
	0.75	0.5110	± 3.3	± 0.638
	1.00	0.6850	± 5.3	± 0.771
RATCLIFF method	2.5	0.1993	± 2.7	± 1.408
	5.0	0.3853	± 4.9	± 1.280
	7.5	0.5760	± 8.7	± 1.514
	10.0	0.7658	± 7.5	± 0.979
<i>m</i> -Xylenol method	25	0.0890	± 4.4	± 4.900
	50	0.1745	± 12.7	± 7.281
	75	0.2615	± 11.9	± 4.553
	100	0.3657	± 11.3	± 3.100

で、スルファニル酸を亜硝酸でジアゾ化し α -ナフトールと結合させて、生成する水溶性アゾ色素の吸光度を測定する方法である。

ここではまず第一に Fig. 1 の定量法について、カドミウムカラムの通過条件、試料抽出液 pH のカラム還元能に与える影響、除蛋白剤、発色試薬、試料抽出温度など操作の複雑な個所あるいは操作が明確にされていない個所を問題点として検討を加え、この結果より Fig. 2 に示す著者らの改良法を考案し、A.O.A.C. 法のメタキシレンール法との比較試験を硝酸性窒素標準溶液およびあらかじめ 500 ppm の硝酸根を添加した鯨肉を用いて実施した。

硝酸根定量改良法 著者らは RATCLIFF 法をさらに改良簡便化し Fig. 2 に示す方法を確立した。

1) 還元装置

硝酸塩還元用カドミウムカラムは Fig. 3 に記したごとくで、分液漏斗、ガラス管、グラスウール、カドミウム粒子などよりなる簡単なものである。カドミウム粒子は、硫酸カドミウム 20% 溶液 500 ml 中に、4 本（合計約 150-160 g）の亜鉛棒を垂下して亜鉛棒の表面に生成する苔状の金属カドミウムをホモジナイザーで砕き、ふるいを通してオープニング 590 μ の通過部分のみを用い、カラム中に 6-7 cm の高さに充填する。

2) 試薬

スルファミン溶液: スルファミン（スルファニルアミド）1 g を 10% HCl 100 ml に溶解する。

ナフチルエチレンジアミン溶液: N-(1-ナフチル) エチレンジアミン 2 塩酸塩 0.1 g を蒸留水 100 ml に溶解する。

硝酸性窒素標準溶液: 硫酸デシケーターで 24 時間乾燥した硝酸カリウム 0.7217 g を、蒸留水に溶かして 1 l とし標準原液とする。標準原液 10 ml をとり、蒸留水を加えて 100 ml とし、さらにその液 10 ml をとり、蒸留水を加えて 1 l としこれを標準溶液とする。標準溶液 1 ml は NO_3^- -N 0.1 μg に相当する。

HCl-NH₄OH 緩衝溶液: 蒸留水 500 ml に塩酸 20 ml と、次いでアンモニア水（比重 0.880）50 ml を

Table 4. Effect of the extracting condition on recovery of NO_2^- added to whale meat.

Sample	Extraction†	Turbidity††	Absorbance at 540 m μ	NO_2^- determined
Raw*	Cold water	0.013	0.734	82.7 ppm
		0.015	0.726	81.6
		0.011	0.724	81.8
	Hot water	0.002	0.625	71.7
		0	0.636	72.9
		0.001	0.634	72.8
Heated**	Cold water	0	0.865	99.5
		0	0.869	100.0
		0	0.876	101.0
	Hot water	0	0.864	97.4
		0	0.841	96.8
		0	0.821	94.5

* Raw whale meat was added with 100 ppm of NO_2^- .

** Whale meat was added with 100 ppm of NO_2^- after being heated.

† The minced sample was extracted with cold water or hot water at 80°C for 30 min.

†† Absorbance at 540 m μ against distilled water.

加え蒸留水で 1 l とする。この緩衝溶液の pH は 9.6-9.7 である。

3) 定 量 操 作

1. 試料 5-10 g を細切し、300-400 ml の蒸留水で 10 分間浸出した後 80-85°C の水浴中で 30 分間加熱抽出する。

2. 抽出終了後抽出液を冷却し、蒸留水を加えて 500 ml とし東洋濾紙 No. 5C を用いてろ過する。次いでろ液の 100 ml 程度を採取し、 NO_2^- が共存する時には NO_2^- 定量用として 10 ml を試験管に取り、スルファミン溶液 1 ml を加えて 15 分間放置した後、ナフチルエチレンジアミン溶液 1 ml を加えて、15 分後に波長 540 m μ における吸光度を測定しこの値を $A \cdot \text{NO}_2^-$ とする。なお、この比色操作の際の対照液には、蒸留水 10 ml にスルファミン溶液、ナフチルエチレンジアミン溶液それぞれ 1 ml を加えたものを使用する。

3. NO_3^- 定量用として先のろ液の 50 ml をカドミウムカラム*の上部に取り付けた分液漏斗に移し、通過速度をおよそ毎分 5 ml に調節してカラムを通過させ、最初の通過液 30 ml を除去し残りの 20 ml より 10 ml を取り、以後 NO_2^- の定量的場合と同様に操作して比色を行ない、得られた吸光度の値を $A \cdot (\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ とする。

4. あらかじめ用いるカドミウムカラム*に硝酸性窒素標準溶液 50 ml を通過させ、上記 3 と全く同一の操作を行なつて、得られた吸光度の値を As とし試料中の NO_3^- を次の計算式を用いて算出する。

$$\text{NO}_3^- (\text{ppm}) = \frac{A \cdot (\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) - A \cdot \text{NO}_2^-}{\text{As}} \times \frac{50}{\text{試料採取量 (g)}} \times 4.43$$

結 果 と 考 察

カドミウムカラム通過条件 サンプルングする フラクション を決定 するために、硝酸性窒素標準溶液

Table 5. Effect of extracting condition on recovery of NO_3^- added to the whale meat.

Sample	Extraction†	NO_3^- determined	Recovery
Raw*	Cold water	501 ppm	100.2%
		495	99.0
		494	98.8
	Hot water	476	95.2
		485	97.0
		494	98.8
Heated**	Cold water	507	101.4
		506	101.2
		493	98.6
	Hot water	487	97.4
		500	100.0
		481	96.2

* Raw whale meat was added with 500 ppm of NO_3^- .

** Whale meat was added with 500 ppm of NO_3^- after being heated.

† The minced sample was extracted with cold water or hot water at 80°C for 30 min.

* カドミウムカラムはその使用に先立つて還元力の保護のため 0.1N-HCl 25 ml, 蒸留水 50 ml, 10 倍希釈した HCl-NH₄OH 緩衝溶液 25 ml を順次通過させることによって再生させておく。

50 ml をカラムに通し 10 ml ずつのフラクションに分けると、ほぼ 3 番目のフラクションに至り標準溶液中の NO_3^- の還元によつて生ずる NO_2^- の濃度は一定かつ最大に達する。このことから、最初の 30 ml を除去し残りの 20 ml より発色用試験溶液をサンプリングすれば、操作が簡易で誤差も小さくなることを知った。RATCLIFF 法では 25 ml を通過させた後、カラム洗浄液と合して 100 ml としカラム中に残存する NO_2^- を全て集めるよう努めているが、試料中の NO_3^- 濃度が低い場合には希釈倍数があがり確認限界濃度が高くなる。

さらに標準溶液 50 ml を通過させる時間と硝酸還元能の関係を調べた結果を Fig. 4 に示すが、10 分間ではほとんど完全に還元されており理論値によく近似する。

また本研究で作成した 6 本のカドミウムカラムにつき、標準溶液を用いて前述のカラム通過条件に基づきカラム間に還元能についての有意の差があるか否かを調べた結果が Table 1 であるが、これについて F 検定を行なつたところ $F_0 = 2.18$, $F = 2.62$ (5, 24, 0.05) $F_0 < F$ で有意の差は認められなかつた。

pH のカラムの還元能に与える影響 RATCLIFF 法ではカラムの pH が還元能に強く影響するとし、0.1 N-HCl 25 ml, 蒸留水 50 ml で洗浄した後 HCl- NH_4OH 緩衝溶液の 10 倍希釈液 25 ml を流すことによつて pH 9.5-9.7 に調整したカラムと同じく HCl- NH_4OH 緩衝溶液で pH 9.5-9.7 に調整した試料抽出液を通過させている。そこで 0.1 N-HCl, 蒸留水による洗浄および pH 調整を行なつた場合とこの前処理を全く行なわない場合についてカラムの還元能を比較した結果が Table 2 であるが、これについては $t_0 = 0.181$, $t = 2.145$ (14, 0.05) $t_0 < t$ であるから有意差はない。しかし、これはあくまで硝酸性窒素標準溶液を用いた場合であり、試料抽出液を用いた場合にはカラムの前処理を行わずに反復使用するとカドミウム粒子の表面が汚れカラムの寿命を縮めることが考えられる。したがつてカラムの前処理に関しては RATCLIFF 法に準ずることにした。

除蛋白剤 亜硝酸根の定量時の、除蛋白剤の必要性について菅野ら²⁾は、除蛋白剤として塩化第二水銀を使用したほうが発色後の吸収曲線は典型的になると述べており、野崎ら¹⁰⁾は塩化第二水銀は定量値に影響しないと報告している。しかし、硝酸根定量時の除蛋白剤の必要性についての報告はほとんどなく、RATCLIFF 法では飽和カリウム明ばん液を用いている。

著者らは Figs. 5, 6 から明らかなように、除蛋白剤を使用しなくても、抽出時に加熱操作を行ないさえすれば、抽出液の濁り、発色阻害等定量値におよぼす影響は小さいことを知った。これは発色試薬、試料の希釈過程の相違、東洋濾紙 No. 5C の使用などによるものと思われる。

発色試薬 亜硝酸根の比色定量には、芳香属アミン類を亜硝酸でジアゾ化し、これにカップリング剤を作用させて生成するアゾ色素の吸光度を測定する方法が一般に行なわれている。この組み合わせにはスルフ

Table 6. Comparison of recovery of NO_3^- (500 ppm) added to the raw whale meat among three methods.

	NO_3^- determined	Recovery
Modified method	487 ppm	97.4%
	506	101.2
	489	97.8
RATCLIFF method	428	85.6
	456	90.6
	441	88.2
<i>m</i> -Xylenol method	407	81.4
	400	80.0
	434	86.8

フェニル酸と α -ナフチルアミンを使用した A.O.A.C. 法, GRIESS-IRSVAY 法, スルファミンとナフチルエチレンジアミンを使用して高感度で本研究でも利用することにした SHINN 法¹⁷⁾, さらにはスルファニル酸と α -ナフトールによる RATCLIFF 法等があり, これらの発色試薬の性質については永田ら¹⁸⁾の詳細な報告がある。

RATCLIFF 法で用いているオレンジ I 試薬は試験溶液の pH に著しく影響を受け pH 4.0 で最大に展色するが, pH 5.0 では反応は阻害されてほとんど発色しない。したがって, RATCLIFF 法ではカラム通過時に HCl-NH₄OH 緩衝溶液の 10 倍希釈液で pH 9.5-9.7 に調整したものを pH 4.0 に戻すため試験溶液の 2-3 倍の発色試薬を要し, 定量感度も低下する。またオレンジ I 試薬はスルファニル酸と α -ナフトールとを混溶して放置するため絮状物の生成, 着色等の試薬調製後の経時変化が激しい。

これらに関して, 各種濃度の硝酸性窒素標準溶液を用いて, 本研究による改良法, RATCLIFF 法, および A.O.A.C. 法のメタキシレノール法の 3 法について定量感度, 精度, 比例関係を調べ Table 3 の結果を得た。すなわち, 感度は改良法が最も高く, RATCLIFF 法, メタキシレノール法の順であり, 精度についても同様な傾向にある。

試料抽出温度 肉製品では塩漬終了後の加熱工程で残存 NO₂⁻ の減少が認められるので, 分析操作時の抽出法においても過度に加熱することは問題があるように思われる。そこで鯨の生肉, 加熱変性肉に NO₂⁻ として 100 ppm をそれぞれ添加し, 抽出温度を変えて回収率を比較して Table 4 を得た。同様に NO₃⁻ として 500 ppm をそれぞれ添加し Table 5 の結果を得た。

Table 7. Amounts of NO₂⁻ and NO₃⁻ in several meat products on the market.*

Maker	Products	Date of production (1971)	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
A	Roast ham	Mar. 24	16.7 ppm	414 ppm
	Pressed ham	Mar. 20	10.2	376
	Sausage (Pencil-type)	Mar. 1	15.5	564
B	Roast ham	Mar. 20	13.5	56
	Pressed ham	Feb. 18	12.4	130
	Sausage (Pencil-type)	Mar. 8	25.2	290
	Fish sausage	Mar. 18	12.0	270
C	Roast ham	Mar. 19	11.9	58
	Pressed ham	Mar. 17	28.0	85
	Sausage (Pencil-type)	Mar. 17	36.3	38
	Fish sausage	Mar. 2	18.0	21
D	Roast ham	Mar. 18	6.5	904
	Pressed ham	Mar. 4	35.4	123
	Sausage (Pencil-type)	Feb. 12	15.0	200
	Vienna Sausage	Mar. 22	14.4	55
	Fish ham	Mar. 11	18.0	136
	Fish sausage	Jan. 30	trace	trace
E	Fish sausage	Feb. —	10.8	826
	Sausage (Pencil-type)	—	10.6	173
F	Fish sausage	Feb. 24	11.6	294

* Determined on March 26, 1971.

これらの結果から NO_2^- 定量の場合には生肉を最初から熱水抽出すると定量値が低くなることが明らかであるが、 NO_3^- 定量については本改良法によつて定量したところ、抽出温度条件の影響はほとんど受けておらず、加熱抽出法によつても問題ないものと考えられる。

しかし、 NO_2^- 、 NO_3^- の共存下で両者を同時に定量しようとする¹⁾場合が多いので、 NO_2^- の減少を伴わない抽出法を採ることが必要である。これらの結果を総合すると、試料に対する抽出液の量をできるだけ多くし、一定時間水抽出を行なつた後、抽出液の濁りを除くために加熱する方法が最も実用的と思われる。

また、RATCLIFF 法では比色操作の際に抽出液を陰イオン交換樹脂で前処理するなど複雑な操作で対照液を調製しているが、上記抽出法で通常は濁度の影響はほとんどないので、簡易定量法にあつては迅速性が重要であることから、蒸溜水 10 ml にスルファミン溶液、ナフチルエチレンジアミン溶液それぞれ 1 ml を加えたものを対照液とし、濁度の影響があると考えられる場合にのみカラムを通過させた試料抽出液 10 ml にスルファミン溶液、蒸溜水それぞれ 1 ml を加えたものを対照液とすることにした。

RATCLIFF 法、メタキシレノール法では最初から 70–80°C の熱湯を注ぎ込み加熱抽出するが、本改良法では 10 分間水抽出した後 30 分間 80°C の加熱抽出を行なうことで NO_3^- の回収率試験を行ない Table 6 を得た。すなわち改良法では他の 2 法よりむしろ高い回収率を示している。

市販肉製品の定量結果 市販されているハム・ソーセージについて NO_2^- 、 NO_3^- 残存量を本改良法により定量し、Table 7 の結果を得た。この結果から NO_2^- については製品の種類あるいはメーカーの違いによる残存量の差は小さいが、 NO_3^- については大きくばらついており、特に D 社、E 社の製品にあつては種類が異なると残存量が極端に違うものが見受けられ、肉の発色のための塩漬法がメーカーあるいは製品によつて相当に異なることがうかがわれた。また D 社の魚肉ソーセージについては NO_2^- 、 NO_3^- 共に検出されなかつたが、この場合は白身魚類であるスケソウの冷凍摺り身を主原料として使用しているために硝酸塩あるいは亜硝酸塩を添加しておらず、合成着色料で着色しているものと考えられた。

要 約

1. 硝酸塩定量の簡易迅速化を目的とし、金属カドミウムの還元力を利用する RATCLIFF 法を取り上げ、これに改良を加えた。
2. RATCLIFF 法の操作の煩雑性を改良すると共に、カラム通過条件など不明確な点についても検討した。
3. 操作の簡易化と共に定量の精度について調べ、精度の点でも RATCLIFF 法、A. O. A. C. 法のメタキシレノール法よりやや優れた結果を得た。
4. 一般に肉製品中には NO_3^- 、 NO_2^- が共存する場合が多いので、試料抽出の温度条件等について検討を加え抽出条件を決めた。
5. 市販のハム・ソーセージについて NO_3^- 、 NO_2^- 残存量を定量した。

本研究に関し有益な御助言をいただいた国立予防衛生研究所河端俊治室長、日魯漁業（株）山田 懿研究室長に心から謝意を表する。

文 献

- 1) 厚生省編：食品衛生検査指針，p. 39 (1963).
- 2) 菅野三郎・和田 裕：食衛誌，7，72–75 (1966).
- 3) J. H. DHONT: *Analyst*, 84, 372–375 (1959).
- 4) J. DAVIDER and A. ZACKOVA: *Z. Anal. Chem.*, 189, 320–325 (1962).
- 5) Method of Analysis of the A. O. A. C., p. 29f (1960).
- 6) J. E. EASTOE and A. G. POLLARD: *J. Sci. Food Agr.*, 1, 266–269 (1950).
- 7) 由比類之介：衛生化学，9，131–134 (1963).
- 8) K. R. MIDDLETON: *J. Sci. Food Agr.*, 10, 213–224 (1959).
- 9) W. A. LANDMANN: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 43, 531–535 (1960).

- 10) J. H. DEONT: *Analyst*, **85**, 144-146 (1960).
- 11) A. C. HOLLER and R. V. HUGH: *Anal. Chem.*, **21**, 1385-1389 (1949).
- 12) D. G. LEWIS: *ibid.*, **33**, 1127-1128 (1961).
- 13) D. MACDOUGALL: *Can. J. Research*, **7**, 280-286 (1950); cf. *Chem. Abstr.*, **44**, 9080^a.
- 14) E. M. CHAMOT: *J. Am. Chem. Soc.*, **33**, 381-385 (1911).
- 15) P. W. RATCLIFF and M. J. FOLLETT: *J. Sci. Food Agr.*, **14**, 138-144 (1963).
- 16) 野崎泰彦・川田公平: 衛生試験, **72**, 181-190 (1954).
- 17) M. B. SHINN: *Ind. Eng. Chem.*, **13**, 33-35 (1941).
- 18) 永田致治・安藤則秀: 食衛誌, **8**, 532-539 (1967).