

12 食品の変敗評価ならびに変敗防止に関する研究 (第1報)

2-Thiobarbituric acid 試薬による鯨脂肉の変敗度評価法

12 Studies on the evaluation and prevention of rancidity in foods (Part I)

Evaluation of rancidity in whale fatty meat with 2-thiobarbituric acid reagent.

北海道立衛生研究所 (所長 中村 豊)
技師 秋山 尚子

1 緒 言

数年前の燻製食品のポリエチレン袋による真空包装食品の出現以来、わが国でも各種の食品にポリセロなどによる真空包装が試みられ、これが最近ユニットパックの流行とともにデパート、マーケットに広く販売されている。包装食品の中でも特にスライスハム、サラミソーセージなどが広範囲に販売され、これにともなつて、これらスライスハム、ソーセージなどの保存、貯蔵の問題が多くとりあげられ研究されるようになった。筆者はわが国で獣肉、獣脂肪の供給源として加工され、よく利用されている鯨の脂肉部で、スライスハムの変敗の主原因であるといわれる酸敗現象¹⁵⁾ etc の研究をおこなつた。その研究の検討手段として鯨脂肉部の変敗度の試験に 2-thiobarbituric acid 試薬をもちいる方法 (以下 TBA 試験と略す) を応用した。

従来一般にもちいられている油脂の酸敗度試験の化学的方法としては Kreis テスト、過酸化価、カルボニル価、TBA 価の測定などいろいろの方法が提案されている。これらはそれぞれの目的で実用に供されているが、Kreis テストは感度が低く、過酸化価試験については過酸化物の発生の後にその分解が起るから、過酸化価の絶対値が酸敗あるいは風味の低下の数量を表す尺度とはいいい切れない。2,4-dinitro phenyl hydrazine 試薬をもちいるカルボニル価測定の試験は TBA 試験とどうように数多く研究されている^{13) 17) 18) 19) 20) 21) 22)}。2,4-dinitro phenyl hydrazine によるカルボニル価測定の試験は後の研究に譲るとして、ここでは感度が比較的良好で実験操作が簡単かつ変敗度評価に適用できる試験法として TBA 試験を選んだ。

TBA 試験はその基礎研究^{1) 16)} をもとにして、油脂類食品の酸敗度試験に広く応用されている^{2) 3) 4) 5) 6) 7) 8) 9) 10) 11) 12)}。また TBA による赤色呈色物質についても数々の研究がおこなわれている。Patton¹³⁾ は malonic dialdehyde が TBA と赤色物質を作ることを見出し、分光分析の結果この赤色物質は酸化されたミルクの TBA 試験による赤色物質と同一であると発表している。Russell¹⁴⁾ は 1,1, 3,3-tetraethoxy-propane (TEP) と TBA を作用させ、TEP の加水分解によつて生じる malon aldehyde が TBA

と赤色物質を作り、この呈色物質が腐敗した魚類の TBA 試験による赤色呈色物質と同様 535m μ に極大吸収を示すと報告している。藤巻¹⁵⁾ はリノレン酸とその酸化によつて生じる物質が TBA と反応し発色すると報告している。Smith¹⁶⁾ は放射線殺菌をした牛肉で TBA 試験をおこなつた結果、534m μ と 552m μ に極大吸収を認め、前者は malon aldehyde と TBA の反応物に相当し、後者は glyoxal と TBA の反応物の一つに相当すると報告している。

TBA 試験の食品への応用についての研究は数多く報告されている。Dunkley¹⁷⁾ はミルクの酸敗臭と TBA 価の関連性について研究し、非常によい関連性があると報告している。Sidwell¹⁸⁾ はドライミルク製品に TBA 試験を応用し、ドライミルク中の酸化物質の分離に水蒸気蒸溜をおこなつて測定溶液の混濁を除去している。また TBA 試験はすべてのドライミルク製品の酸敗度試験に迅速かつ再現性のある試験であると述べている。Turner¹⁹⁾ は冷凍した豚肉に TBA 試験を試み、試験に影響を与える種々の因子、過酸化価との関連性、官能試験による風味との関連性について研究し、TBA 試験が他のいかなる化学的試験よりも信頼できる試験であると述べている。Caldwell²⁰⁾ はカラスムギおよびパン類に TBA 試験を応用して、糖類と TBA によつて生じる黄色物質をセルローズパウダーのカラムクロマトグラムに通して除去することによつて試験を可能にした。Mark²¹⁾ は加熱したカキの鮮度低下試験に TBA 試験を応用し、TBA と反応して生じた黄色物質をエーテルで抽出することによつて妨害物質をとり除くことに成功した。また TBA 価とカキの酸敗臭との間により関連性があると報告している。Yu²²⁾ は魚肉製品の酸敗度試験に改良 TBA 試験をもちい、試験におよぼす因子、製品の貯蔵と TBA 価の関連性をしらべ、また各種の市販魚肉製品に風味の段階を決め、これにともなう TBA 価を測定し、これらにより関連性がみとめられることを明らかにした。また、この方法は魚肉製品の酸敗度試験に広く応用できると報告している。Tims²³⁾ は豚肉について重合磷酸塩の抗酸化効果の検討に TBA 試験を採用し、風味の低下は TBA 価の増加に比例すると報告している。熊沢²⁴⁾ は各種の食用油に過酸化価、TBA 価、DPH 価を測定し、それ

ぞれの数値と風味との関連性について研究をおこなった。そのうち DPH 値が風味の度合いと最もよく一致すると述べている。藤巻ら^{11) 12)} は馬脂肪とミルクに TBA 試験をおこなった。田中ら¹³⁾ の研究もある。また筆者は酸敗した油菓子の試験に TBA 試験を試み、検査した結果²⁴⁾、この試験は行政試験に充分とり入れられるべき方法であるという結論に達した。

筆者は本研究で鯨脂肉の変敗度の評価に TBA 試験の応用を試み、試験方法の確立、種々の因子の実験への影響、TBA 値と他の変敗度評価の数値との関連性、貯蔵による TBA 値の変化、抗酸化剤添加の場合の TBA 値などについて検討したところ、この試験が充分適用し得ることを確認したので、以下にそれらの結果を報告する。

II 実験材料および実験方法

1 試験材料

実験に供した試験原料は南氷洋で捕獲した長須鯨の脂肉部である。これはウネスハムの原料となるもので、大きく分けると、脂肪の極く濃厚な部分、脂肪に繊維質が含まれている部分、および肉質部の三部分より成る。これを金属製の肉挽機で 2 回挽き均一試料とした。(以下に試料と記すのはこのことをいう。) 試料の組成^{※1)} は水分 24.07%、蛋白質 12.86%、脂肪 62.36%、無機質 0.71%、他に繊維質の成分をわずかに含む。試料の酸価は 1.20、過酸化値は 6.28m equiv/kg であった。また試料の一粒の大きさは直径平均 2.2mm であった。試料は終始冷蔵庫中に保ち、使用の都度とり出してもちいた。

2 試 薬

i 0.01 モル 2-チオバルビツール酸溶液

特級 2-チオバルビツール酸 0.1442g に水を加え、加温して溶かした後、全量を 100cc とする。

ii 20%-トリクロル酢酸-2 モル 磷酸溶液

特級オルト磷酸 19.6g を水と混合し、これに特級トリクロル酢酸 20g を溶かし、更に水を加えて全量を 100cc とする。

iii イソアミールアルコール-ピリジン混液

イソアミールアルコール 2 : ピリジン 1 の割合で混合する。

3 装 置

比色には島津製作所製 QB-50 型の光電分光光度計をもちいた。使用キューベットはガラス製厚さは 1cm である。

4 実験方法

Turner 等⁶⁾ の方法にはほぼ従ったが、操作に多少改良を加え、第 III 項における諸検討より全操作を次のように確立した。

試料 2g、20% トリクロル酢酸-2 モル 磷酸溶液 5cc および 0.01 モル 2-チオバルビツール酸溶液 10cc を 50cc 共栓つき試験管にとり、これを沸騰した湯浴中で時々振りながら 30min 加温して内容物を赤色に発色させて後、氷水中に移して 10min 冷却する。これにイソアミールアルコール-ピリジン混液 15cc を加え、2 min 烈しく振つて発色物質を抽出する。次に上層液を遠沈管にとり、3000r.p.m で 15min 遠心分離操作をほどこして液を澄明にする。この液に同量のイソアミールアルコール-ピリジン混液を加えて稀釈した液をキューベットにとり、分光光度計で 535m μ における吸光度を空の混液を対照として測定する。

ただし TBA 値は文献(6)に定義されているとおり、5g の試料をイソアミールアルコール-ピリジン混液 15cc で抽出し、1cm 幅のキューベットをもちいた時の吸光度として換算した。

試験は 1 工程約 1 時間半である。

III 実験結果ならびに考察

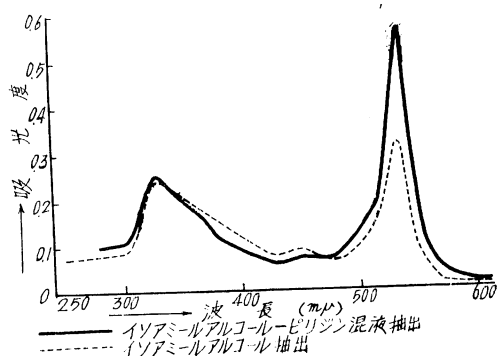
1 吸収曲線

前記の方法で試験した結果、まだ酸敗臭が感じられない試料でも TBA と反応し、淡いピンク色を呈することがみとめられた。しかし酸敗臭が強いものになるにしたがつて、着色は淡いピンク色から深紅色に移って行くことがみとめられた。

TBA と反応して生成された赤色物質含有の水溶液中には白色の試料粒が浮遊している。したがって試料粒を液層からのぞくため、この溶液を 3000r.p.m で 15min 遠心分離操作をおこなったが、試料粒は沈着することなく液中および液上に浮遊していた。したがって水層においての比色は不可能であるので、試料粒が水層に溜り、赤色反応物質をよく抽出できる溶媒を捜すべく、次に有機溶媒による発色物質の抽出操作を試みた。各抽出液の吸収曲線を図-1および図-2に示す。

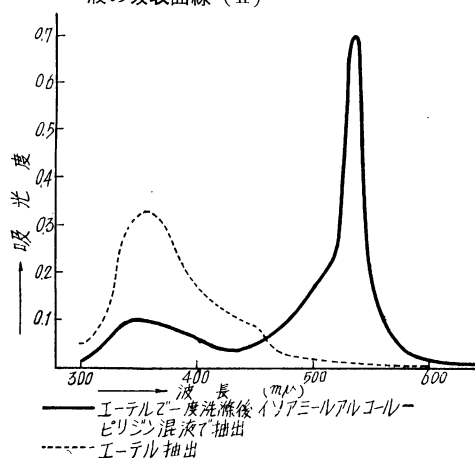
図-1 および 図-2 よりあきらかなように、エチルエーテル以外の各溶液とも 535m μ に鋭い極大吸収を示す。Turner

図-1 鯨脂肉の TBA 反応物の各溶媒による抽出液の吸収曲線 (I)



※1) A 社研究所の分析による。

図-2 鯨脂肉の TBA 反応物の各溶媒による抽出液の吸収曲線 (II)



ら⁶⁾が冷凍豚肉, Mark ら⁸⁾が調理したカキ, Caldwell ら⁷⁾がカラスムギ, Pan, Sidwell ら⁵⁾がドライミルクについて TBA 試験をおこなった時, それぞれ 535~538 μ m, 540 μ m, 535 μ m, 532 μ m, 530 μ m に極大吸収が認められたと報告しているが, 鯨脂肉の 535 μ m はそれらの報告においてみられた極大吸収波長とはほぼ一致している。

また, 図-1 には 535 μ m における極大吸収のほか, 325 μ m と 450 μ m に極大吸収が一つずつみとめられる。

325 μ m の吸収はやや大きい。Mark ら⁸⁾は調理したカキで TBA 試験をおこなった時に, Caldwell ら⁷⁾が穀類の試験において示した時と同様な黄褐色の妨害物質が認められたと報告している。図-1 にみられる波長数の小さい部分の極大吸収は 325 μ m であるが, 図-2 に示されるように, 水溶液から最初エチルエーテルで抽出した黄色溶液は 350~360 μ m の間に極大吸収を示し, これが Mark ら⁸⁾の研究結果と一致する。Mark ら⁸⁾のこの報文中の absorption curves においてみられる黄色の極大吸収波長は, エーテル抽出のみの場合, エーテルで最初黄色物質の大部分を抽出してからイソアミールアルコール-ピリジン混液で抽出した場合, およびイソアミールアルコール-ピリジン混液抽出のみの場合の順に黄色物質の極大吸収波長は波長数が小さくなっているが, 筆者のこの実験においても, 図-1 および図-2 にその傾向が示されている。この 325 μ m に極大吸収を示すものは, 彼ら⁷⁾⁸⁾が試験をおこなった時に認められた黄色妨害物質とおそらく同一のもので, 炭水化物と TBA との反応物であると思われる。

450 μ m において示す極大吸収は極くわずかである。Yu ら⁹⁾は酸敗したヒラメ, クロハゼについて TBA 試験をおこない極大吸収曲線を求めた結果, 458 μ m にわずかに極大吸収がみとめられたと報告している。彼等の報文中の TBA 反応生成物の吸収曲線図の 458 μ m 附近の吸収は図-1 に示した 450 μ m 附近の吸収状態と酷似している。また, Bernheim ら¹⁾も酸化された脂質でどのような吸収が見ら

れたと報告している。450 μ m の極大吸収はこれらの吸収と同一物質とみられる。

以上の結果より, 鯨脂肉の変敗度の測定は 535 μ m において行うのが適当と思われる。

2 溶剤による発色物質の抽出について

イソアミールアルコール-ピリジン混液は赤色物質をよく抽出し, また脂肪をかなり溶かすが, 白色の試料粒を溶剤中に移行させない。

反応物質の抽出時間は試料 2g につき, イソアミールアルコール-ピリジン混液 15cc で激烈に振った場合, 2 min で充分であり, これ以上振つても抽出率に変化はなかった。

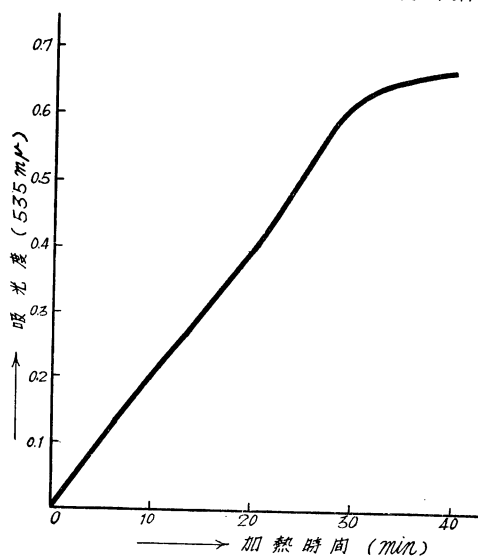
図-2 の実験結果より, 325 μ m の極大吸収部の大部分は一度エーテル洗浄したのみで赤色物質を抽出することなくよく除去されることが解つた。また同じく図-2 の結果より, 450 μ m に極大吸収を示す物質はエーテル洗浄により完全にとり除かれることがわかつた。

なお, これらのバックグラウンドが 535 μ m における比色に妨害を与えるなら, 比色の前に, エチルエーテルでこの 2 極大吸収部を抽出, 洗浄する必要がある。従つて, これらのバックグラウンドの 535 μ m の吸光度に対する影響をしらべた。

発色溶液を均等に二つに分け, 一方はエーテルで洗浄後イソアミールアルコール-ピリジン混液にて赤色物質を抽出し, 他方はエーテル洗浄操作を省略し, イソアミールアルコール-ピリジン混液抽出のみとして, 遠心分離後比色した。その結果吸光度は前者は 0.461, 後者は 0.466 を示し, 両者に大差がないことがわかつた。したがつて反応物質の抽出はエーテル洗浄操作を省略し, イソアミールアルコール-ピリジン混液による抽出のみとした。

3 TBA 試薬添加後の加熱時間の影響について

図-3 TBA 試薬添加後の加熱時間と発色度の関係



TBA 試薬添加後の加熱時間が長くなると吸光度が増大

することが報告されている⁹⁾。加熱時間と吸光度の関係を前頁図-3に示す。実験方法はTBA添加後の加熱時間以外はIIの4項のとおりにおこなった。図-3よりあきらかなように0から30min迄は加熱時間にほぼ比例して吸光度が増加しているが、30min以後は加熱時間が増しても吸光度に大きな増加はみられない。従つて加熱時間は30minが適当と思われる。

4 試験試料の採取量および抽出液の遠心分離操作について

試料は脂肪が濃厚であるため、イソアミールアルコール-ピリジン抽出液に脂肪が濃く溶けていて、遠心分離直後は抽出液は澄明であるが、後に脂肪が白色絮状に析出してきて、これが分光光度計の測定を妨害する。IIの4項のとおり試験調製した澄明な着色溶液は冷蔵庫中に入れると直ちに白濁を呈する。試料5gおよび2gをとり、遠心分離迄の操作をIIの4項のとおりにおこなった澄明な抽出液について脂肪が白色絮状に析出するのは、室温で5gの場合は遠心分離後20minより始まり、3hr後にはすべての試料にみられ、2gの場合は最も早いもので1hr後、また5~6hr後にはすべての試料にみとめられた。また試料2gをとり、イソアミールアルコール-ピリジン混液15ccで抽出し、3000r.p.m.で10min遠心分離した液は2hr後にはすべての試料に脂肪が白色に析出してきて、試料2gをとり、遠心分離迄の操作をIIの4項のとおりにおこなった澄明な液をイソアミールアルコール-ピリジン混液で2倍量に稀釈した液は、室温で24hr経過しても澄明であつた。なお、試料1gの場合は秤量誤差がかなり大きく影響されると考え、実験しなかつた。

以上の実験結果より、実験試料を2g、遠心分離操作を3000r.p.m.で15min、イソアミールアルコール-ピリジン混液2倍量稀釈で測定するのが適当と考えられる。

5 着色溶液の安定性について

吸光度0.69および1.26の2着色抽出液で測定をおこなつたところ、室温(春期)放置で24hr、535m μ における吸光度に変化がみとめられなかつた。

6 試験の正確度について

以上の実験結果およびその考察から、全操作をIIの4のように確立したのであるが、次にこの方法の正確度についてしらべた。

表-1 試験の再現性

試料番号	吸光度	TBA価に換算	試料番号	吸光度	TBA価に換算
1	0.411	2.055	4	0.421	2.105
2	0.413	2.065	5	0.421	2.105
3	0.420	2.100	6	0.422	2.110
平均				0.418	2.099
標準偏差				0.004	0.022
標準誤差				0.002	0.009
99%信頼度の範囲				0.413~0.423	2.063~2.117

ある変敗時期にある試料をとり、よくかき混ぜて均一にしてから、同時に2gずつ6件秤量し、同試薬で試験をおこなつた。その結果を表-1に示す。

表-1の結果よりあきらかなように、この試験はかなり正確度が強く、食品衛生研究上での実際の試験には充分である。

7 TBA価と過酸化物価の関係

つぎに従来一般にもちいられている酸化変敗度の試験法による数値とTBA価との関係をしらべた。この酸化度評価の数値としては過酸化物価を選んだ。

過酸化物の測定方法は、試料5gを氷酢酸、四塩化炭素混液(容量比3:2)50ccに溶解し、飽和ヨウ化カリウム溶液2ccを加え、正確に1分間振とうする。つぎに蒸留水50ccおよび1%澱粉液1ccを加えN/100チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。同時に空試験をおこなう。過酸化物価は試料100gに対する不安定な酸素の量をmilli equivalentで表わした。

貯蔵中の加熱鯨脂肉のTBA価と過酸化物価との関係を図-4に示す。

図-4 TBA価と過酸化物価の関係

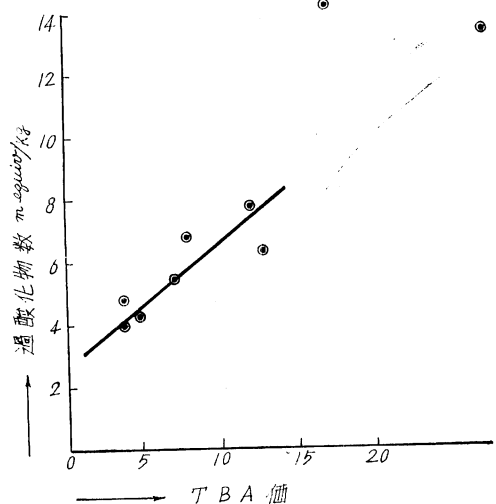


図-4によれば、加熱試料の変敗度が初期より中期にかけてはTBA価と過酸化物価とは直線関係にあり、すなわちTBA価の増大とともに過酸化物価も増大しているが、変敗がそれ以上進むとTBA価と過酸化物数は正の直線関係を示さなくなる。

8 応用例

以上のように確立したTBA試験が実際の食品衛生上の試験、すなわち鯨脂肉の変敗度の定量的評価法の一つとして使用できるかどうかを確かめるために次の実験をおこなつた。すなわち、鯨脂肉の貯蔵中のTBA価の変化状態および抗酸化剤添加の場合の貯蔵鯨脂肉のTBA価におよぼす影響についてしらべた。

i 試料の調製

前記の試料を下記4種の方法で調理保存した。

A 無加温, 抗酸化剤無添加
試料 50g をシャーレにとり, 一度内容物をかきまぜて※²⁾ 密閉し, 生のまま冷蔵庫中に貯蔵する。

B 加熱, 抗酸化剤無添加
試料 50g をシャーレにとり, 密閉して水浴上で 85°C, 30min 加温し, 放冷後内容物を一度かきまぜて ※³⁾ 密閉し, 冷蔵庫中に貯蔵する。

C 加熱, Sustane No. 3 F ※⁴⁾ 0.02% 添加
Sustane No. 3 F 0.02% を少量のエチルアルコールに溶かして試料に添加し, B と同様な方法で試料を調製して冷蔵庫中に貯蔵する。

D 加熱, BHA 0.01%, BHT 0.01% 添加
BHA ※⁵⁾ 0.01%, BHT ※⁶⁾ 0.01% を C と同様な方法で試料に添加し, 調製して貯蔵する。

ii 貯蔵期間中の TBA 試験について

試料調製直後およびその後は 1 週間の間隔で 5 週間迄貯蔵した試料について II の 4 項の操作方法で TBA 試験をおこなった。

iii 試験結果

上記 4 調製試料の貯蔵中の TBA 価の変化を図-5 に示す。豚肉, 牛肉の TBA 価^(9) 14) と比べて鯨脂肪の TBA 価が大きく出ていることを特徴とする。図-5 の結果よりつぎのことがあきらかになった。抗酸化剤無添加の加熱した試料は貯蔵期間にほぼ比例して TBA 価が急速に増大して行く。生の試料は貯蔵期間の初期にやや急速に TBA 価が増大して行くが, 貯蔵期間が長くなる程その増大比は小さくなる傾向がある。全貯蔵期間を通して, 生の試料は加熱試料に比べて TBA 価が小さく出ているが, この傾向は mark ら⁹⁾ のカキの貯蔵試験でも同様な結果が報告されている。抗酸化剤を添加した試料は, その抗酸化剤の効力に応じて, いちちるしく TBA 価が低下している。

※²⁾ B, C, D と空気による酸化を同一にするため。

※³⁾ シャーレ中の試料の場所によつて加熱が不均等におこなわれることを予想し, 試料を一度攪拌して均一に保った。

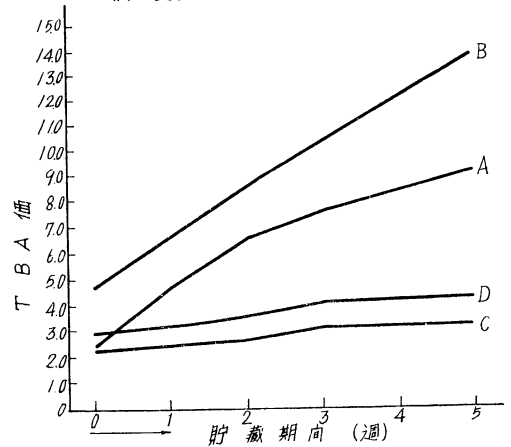
※⁴⁾ 某社発売の酸化防止剤で, 組成は tert-butyl-4-hydroxyanisole 67%, クエン酸 13%, propyl gallate 20% である。

※⁵⁾ tert-butyl-4-hydroxy anisole.

※⁶⁾ tert-butyl-4-hydroxy toluene.

なお, ※¹⁾, ※⁵⁾, ※⁶⁾ とも某社のサンプルをそのまま使用した。

図-5 各処理鯨脂肉の貯蔵期間における TBA 価の変化



- A. 無加温, 抗酸化剤無添加
- B. 加熱, 抗酸化剤無添加
- C. 加熱, 0.02% Sustane No. 3 F 添加
- D. 加熱, 0.01% BHA + 0.01% BHT 添加

この実験は応用の一例として行つたのであるが, この結果より, 本研究において確立した TBA 試験方法は鯨脂肪食品の変敗度の評価法の一つとして使用できることがわかった。

IV 結 論

鯨脂肪の変敗度の評価試験に 2-Thiobarbituric acid (TBA) 試験の応用を試み, それが可能であることを確認した。試験方法は Turner らの方法を基礎として検討し, 鯨脂肪についての TBA 試験法を確立した。なお, ほかにこの試験の実際の食品衛生試験への使用の可能性について検討した結果, つぎの知見をえた。

(1) 変敗した鯨脂肪を酸性にし, TBA 試薬を加えて加熱すれば赤色の反応物が生成し, これはイソアミールアルコール 2 とピリジン 1 の混液でほとんど抽出される。抽出液は 535m μ に鋭い極大吸収を示し, この波長部で変敗度の測定が可能である。

(2) 本試験はかなり優れた再現性を示し, 実際の食品衛生上の試験に充分な正確度で試験できる。また実験は迅速 (1 工程約 1 時間半) かつ試験操作は簡単である。

(3) 加熱鯨脂肪の変敗の初期より中期にかけては, TBA 価と過酸化物質数は正の関連性を示す。

(4) 加熱鯨脂肪は貯蔵期間の増大とともに TBA 価が上昇する。抗酸化剤は加熱鯨脂肪の貯蔵中における TBA 価の上昇をいちじるしく抑制する。

本研究で確立した TBA 試験方法は鯨脂肪食品の実際の変敗試験の手段として使用できるとと思われる。

文 献

- 1) Bernheim, F., Bernheim, M. L. C., and Wilbur, K. M. : J. Biol. Chem., 174, 257 (1948)
- 2) Patton, S., Kurtz, G. W. : J. Dairy Sci., 34, 669(1951)
- 3) Russell O. Sinnhuber, T. C. Yu : Food Technol., 12, 9 (1958)
- 4) Dunkley, W. L. : Food Technol., 5, 342 (1951)
- 5) C. G. Sidwell, J. H. Jr. Mitchell : J. Am. Oil Chemists Soc., 32, 13 (1955)
- 6) E. W. Turner, W. D. Paynter, E. J. Montie, M. W. Bessert, G. M. Struck, F. C. Olson : Food Technol., 8, 326 (1954)
- 7) E. F. Caldwell, B. Grogg : Food Technol., 9, 185 (1955)
- 8) Mark G. Schwartz, Betty M. Watts : Food Research 22, 76 (1957)
- 9) T. C. Yu, Russell O. Sinnhuber : Food Technol., 11, 104 (1957)
- 10) 田中清一, 池上宏, 栗岩治雄 : 日畜誌, 26, 63 (1955)
- 11) 藤卷正生, 小田切敏 : 農化, 28, 963 (1954)
- 12) 稲垣長典, 多羅尾圭子, 藤卷正生 : 農化, 28, 967 (1954)
- 13) 熊沢恒 : 油化学, 7, 99 (1958)
- 14) Margaret J. Tims, Betty M. Watts : Food Technol., 12, 240 (1958)
- 15) 秋場進 : 食品工業, 2, No. 5 の 31 (1959)
- 16) Abramson H. : J. Biol. Chem., 178, 179 (1949)
- 17) G. R. Lappin, L. C. Clark : Anal. Chem., 23, 541 (1951)
- 18) A. S. Henick, M. F. Benca, J. H. Jr. Mitchell : J. Am. Oil Chemists Soc., 31, 88 (1954)
- 19) S. S. Chang, F. A. Kummerow : J. Am. Oil Chemists Soc., 32, 341 (1955)
- 20) W. T. Schmit, E. J. Moriconi, W. F. Oconnor : Anal. Chem., 28, 249 (1956)
- 21) M. Keeney : Anal. Chem., 29, 1489 (1957)
- 22) 熊沢恒 : 名古屋市衛生研究所報, 5, 53 (1958)
- 23) Norman L. Smith, Ian J. Tinsley, E. C. Bubl : Food Technol., 14, 317 (1960)
- 24) 秋山尚子 : 未発表