報 文

逆相 TLC/スキャニングデンストメトリーによる食品中の
 β -カロテン及びトウガラシ色素の分析

(平成 11 年 3 月 3 日受理)

林 智子 ^{*1}	上野 英二 ^{*2}	伊 藤 裕子 ^{*2}
岡 尚 男 ^{*2}	尾 関 尚 子 ^{*3}	板 倉 裕 子 ^{*4}
山 田 貞 二 ^{*5}	加賀美忠明 ^{*2}	梶 田 厚 生 ^{*1}
藤 田 次 郎 ^{*1}	小 野 正 男 ^{*1}	

Analysis of β -Carotene and Paprika Color in Foods Using Reversed-phase
Thin-layer Chromatography/Scanning DensitometryTomoko HAYASHI^{*1}, Eiji UENO^{*2}, Yûko ITO^{*2}, Hisao OKA^{*2}, Naoko OZEKI^{*3}, Yûko ITAKURA^{*4},
Sadaji YAMADA^{*5}, Tadaaki KAGAMI^{*2}, Atsuo KAJITA^{*1}, Jiro FUJITA^{*1} and Masao ONO^{*1}

(^{*1}Kasugai Public Health Center, Aichi Prefecture: 2-31, Kashiwai-cho, Kasugai 486-0927, Japan; ^{*2}Aichi Prefectural Institute of Public Health: 7-6, Nagare, Tsuji-machi, Kita-ku, Nagoya 462-8576, Japan; ^{*3}Seto Public Health Center, Aichi Prefecture: 38-1, Mitsuke-cho, Seto 489-0808, Japan; ^{*4}Okazaki Public Health Center, Aichi Prefecture: Nishi 3-30, Kosei-dori, Okazaki 444-8545, Japan; ^{*5}Hokubu Market Food Inspection Office, Aichi Prefecture: 107, Hattan, Toyoba, Toyoyama-cho, Nishikasugai-gun, Aichi 480-0202, Japan)

A technique for the analysis of β -carotene and paprika color in foods using reversed-phase TLC and scanning densitometry was established. Both colors were extracted with ethyl ether from foods. Extract of β -carotene was directly cleaned up with a C18 cartridge and extract of paprika color was cleaned up with a C18 cartridge after saponification with 5% sodium hydroxide in methanol. Separation of both extracts was achieved on the reversed-phase C18 TLC plate using acetonitrile-acetone-*n*-hexane (11:7:2) as the solvent system. The visible absorption spectra of the extracts were measured using scanning densitometry without isolation of the colors. In order to investigate the capability of the present method, 77 commercial foods were analyzed, and their chromatographic behaviors and spectra were observed. The separation and the spectra obtained were not affected by coexisting substances in the foods and the spots always gave the same *R_f* values and spectra as the standards, with good reproducibility. The present method is considered to be useful for the rapid analysis of β -carotene and paprika color in foods.

^{*1} 愛知県春日井保健所: 〒486-0927 愛知県春日井市柏井町 2-31

^{*2} 愛知県衛生研究所: 〒462-8576 名古屋市北区辻町字流 7-6

^{*3} 愛知県瀬戸保健所: 〒489-0808 愛知県瀬戸市見付町 38-1

^{*4} 愛知県岡崎保健所: 〒444-8545 愛知県岡崎市康生通西 3-30

^{*5} 愛知県北部市場食品衛生検査所: 〒480-0202 愛知県西春日井郡豊山町大字豊場字八反 107

(Received March 3, 1999)

Key words: 逆相薄層クロマトグラフィー reversed-phase thin-layer chromatography; スキャニングデンシトメトリー scanning densitometry; β -カロテン β -carotene; トウガラシ (パプリカ) 色素 paprika color; カプサンチン capsanthin; C18 カートリッジ C18 cartridge

緒 言

近年、消費者の天然物志向により、天然着色料はますます広く使用されており、中でも、カロテノイド系色素はその種類が多く、対象食品も多岐にわたっている¹⁾。カロテノイド系色素にはアナトー色素、オレンジ色素、クチナシ黄色素、サフラン色素、抽出カロテン、トウガラシ (パプリカ) 色素などがある¹⁾が、これらの色素のうち、本研究では、繁用されているカロテン及びトウガラシ色素に注目した。

動植物界に広範に分布している天然のカロテンのうち、最も多く含まれているのは β -カロテン (Fig. 1A) とされ^{2), 3)}、カロテンの分析において指標となり得ると考えられる。天然のカロテンから発見された β -カロテンは、現在では、そのほとんどが合成によって製造されており、既に食品添加物として指定され、バター、チーズ、ハムなどの油性食品はもちろん、麺、清涼飲料水、菓子などに広く用いられている²⁾。また、ビタミン A の前駆物質であるため、着色料としてだけでなく、栄養強化剤としても利用されている²⁾。

一方、トウガラシ色素はナス科トウガラシ (*Capsicum annuum*) の果実から抽出して得られる多成分からなる色素である。カプサンチンが主成分とされている^{1), 4)}が、合田ら⁵⁾によれば、そのラウリン酸、ミリス

チン酸、パルミチン酸などの飽和脂肪酸のモノ及びジエステル体が多く含まれている (Fig. 1B)。また、トウガラシ色素は油脂製品、菓子、漬物などに使用され¹⁾、第 7 版食品添加物公定書に収載された。

このように広く使用されている天然カロテン中の、あるいは合成の β -カロテン、そしてトウガラシ色素については、食品衛生上の観点から、分析法を早急に整備する必要がある。また、これらの分析は主として HPLC により実施されているが^{6)~14)}、保健所などの現場検査では、一般的な着色料の分析には、多数の試料の同時分析が可能な TLC を使用することが多く、これらの着色料の分析についても TLC 分析法の確立が必要と思われる。

前報において、著者らは逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによるラック色素及びコチニール色素の分析法について報告した¹⁵⁾。本手法は、簡便で R_f 値の再現性に優れた逆相 C18TLC¹⁶⁾ と、TLC 上の色素を単離することなく可視吸収スペクトルの測定が可能であるスキャニングデンシトメトリー¹⁷⁾ とを組み合わせた分析法¹⁸⁾ であり、更に、試料精製法として C18 カートリッジを用いることにより、確実に色素を同定することが可能であった。

著者らは β -カロテン及びトウガラシ色素の分析に本

Fig. 1. Structures of β -carotene and main components of paprika color

A) β -Carotene

B) Capsanthin: $R_1, R_2 = H$

Esterified capsanthins: $R_1 = H$, lauroyl, myristoyl, palmytoyl
 $R_2 =$ lauroyl, myristoyl, palmytoyl

手法を適用し、種々検討したところ、両色素を簡便に同定する手法を見いだしたので報告する。

実験方法

1. 試料

1998年7月～10月に国内で市販されていた菓子類、清涼飲料水、氷菓、魚肉ねり製品、乳製品、乳酸菌飲料、魚介加工品、調味料類及び漬物などで、 β -カロテンの分析に35件、トウガラシ色素の分析に42件を用いた。

2. 標準品及び試薬等

色素の標準品は和光純薬工業(株)製 β -カロテン、EXTRASYNTHESIS社製カプサンチン(Capsanthin (TLC))、トウガラシ色素標準品として東京化成工業(株)製カプサンチン(Capsanthin, from Paprika (Vegetable oil Soln.))を用いた。その他の色素標準品を以下に示した。クチナシ黄色素: 和光純薬工業(株)製食品添加物試験用ガーディニアイエロー、クロセチン: シグマ社製、水溶性アナトー色素: 和光純薬工業(株)製食品添加物試験用アナトー色素、油性アナトー色素: 東京化成工業(株)製ビキシン、ゼアキサンチン: EXTRASYNTHESIS社製、ラック色素: 和光純薬工業(株)製食品添加物用、コチニール色素: 和光純薬工業(株)製食品添加物用、ウコン色素: 和光純薬工業(株)製クルクミン。C18カートリッジはWaters社製Sep-Pak C18 Vac 3cc (500 mg)及びVarian社製BOND ELUT C18 6cc (1000 mg)を用いた。その他の試薬はすべて和光純薬工業(株)製及び関東化学(株)製の試薬特級を使用した。

3. TLC条件

TLCプレートは、E. メルク社製のRP-18F_{254S}を使用した(Art 15389)。展開溶媒はアセトニトリル-アセトン-*n*-ヘキサン(11:7:2)を用いた。

4. 色素試験溶液の精製法

4.1 β -カロテン

ジュース、融解させた氷菓などはその50 mLをそのまま、キャンディー、ふりかけ、ゼリーなどの油脂分が少なく、水又はメタノール水に溶解あるいはけん濁できる固形食品は、細切した試料(50 g)に水、温湯又は50%メタノール50～100 mLを加え溶解あるいはけん濁し、色素抽出液とした。

乳製飲料(50 mL)は、試料の約3倍量のアセトンを加え、かくはん、放冷後、沈殿を除去し、上澄液のアセトンを留去し、色素抽出液とした。

チョコレート、こんにゃくゼリー、そうざいなどその他の試料は、その50 gを細切後、水又は温湯50～100 mLを加え、エーテル30～50 mLで色素を抽出した後、そのエーテル層を分取、留去して50%メタノール50 mLに溶解し、色素抽出液とした。

上述の操作でそれぞれ得られた色素抽出液は、必要があればろ過後、その30～50 mLをあらかじめメタノ-

ル及び水各5 mLで活性化したC18カートリッジに負荷した。水10 mLでカートリッジを洗浄後、アセトン5 mLで色素を溶出した。この色素溶出液を濃縮して試験溶液とした。

4.2 トウガラシ色素

β -カロテンにおける『その他の試料』と同様に、試料50 gを細切後、水又は温湯50～100 mLを加え、エーテル30～50 mLで色素を抽出した後、そのエーテル層を分取、留去後、メタノール20～30 mLに溶解し、以下の要領でけん化を実施した。すなわち、5%水酸化ナトリウム-メタノール溶液2 mLを加え、密栓、しゃ光して時々かくはんしながら室温にて24時間放置した。その後、水20～30 mLを加え、1 mol/L塩酸でpH 4.5以下に調整し、C18カートリッジに負荷した。その後、*n*-ヘキサン20 mLで洗浄し、次にアセトン5 mLで色素を溶出した。この色素溶出液を濃縮して試験溶液とした。

5. スキャニングデンシトメータ測定条件

スキャニングデンシトメータは島津製作所製CS-9000を用い、その操作条件は前報と同様に実施した¹⁵⁾。

結果及び考察

1. 逆相TLC

実験方法3に示したTLC条件において、 β -カロテン標準品は R_f 値0.34に黄橙色の良好なスポットが明瞭に認められた(Fig. 2A)。しかし、トウガラシ色素標準品では、そのまま逆相TLCに供したところ、多数のスポットが連続して認められ、良好な分離は得られなかった(Fig. 2B)。これは前述したように、トウガラシ色素が多種類のエステル体を含むためと推測された。トウガラシ色素は緩和な条件でけん化を行うと、カロテノイドと脂肪酸に加水分解されることが知られている^{11), 12)}。そこで、トウガラシ色素標準品をけん化した後にTLCを実施した(けん化条件などについては後述する)。けん化後のトウガラシ色素標準品は、いずれも赤褐色から赤色の R_f 値0.50の主スポットと、 R_f 値0.60及び0.75の二つの副スポットに良好に分離された(Fig. 2C)。主スポットは前述したように、けん化後の主成分であるカプサンチンと推測され、 R_f 値、色調、形状いずれも標準品と完全に一致した(Fig. 2D)。これらのスポットの詳細については、現在、LC/MSを用い検討中である。なお、トウガラシ色素由来の β -カロテンは実験方法4.2に示した*n*-ヘキサン中に溶出され、本TLC上では観察されない。

その他のカロテノイド系色素のうち、アナトー色素(主色素はビキシン、ノルビキシン)、クチナシ黄色素(主色素はクロシン、クロセチン)、サフラン色素(主色素はクロシン、クロセチン)、トウモロコシ色素(主色素はゼアキサンチン)¹⁾及び前報¹⁵⁾で報告したキノノ系のラック色素(主色素はラッカイン酸)、コチニール色

素（主色素はカルミン酸）、更に、ジケトン系のウコン色素（主色素はクルクミン）¹¹⁾ については、いずれも β -カロテン及びけん化後のトウガラシ色素標準品と異なる R_f 値を示した。したがって、本 TLC 条件下でこれらの色素との誤認はないと考えられる。

2. けん化条件の検討

上述のごとく、トウガラシ色素は緩やかな条件下でのけん化により、カロテノイドと脂肪酸に加水分解されることが知られているので^{11), 12)}、そのけん化条件について検討した。100 mg/100 mL のトウガラシ色素標準品メ

Fig. 2. TLC chromatograms of standards of β -carotene, paprika color and capsanthin
 A: β -Carotene
 B: Paprika color (before saponification)
 C: Paprika color (after saponification)
 D: Capsanthin
 TLC conditions
 Plate: RP-18F_{254S} TLC (E. Merck, Art. 15389)
 Solvent system: acetonitrile-acetone-*n*-hexane (11:7:2)

タノール溶液を用いて、5% 水酸化ナトリウム-メタノール溶液の添加量を 0.1, 0.2, 1, 2, 5, 7 及び 10 mL、放置時間を 0.5, 1, 3, 6, 16 及び 24 時間と種々変化させ、密栓、しゃ光、室温にて時々かくはんしながらけん化を行い、実験方法 4.2 で示したように C18 カートリッジで精製した後、逆相 TLC でけん化の進行状況を観察した。5% 水酸化ナトリウム-メタノール溶液の添加量が 0.2 mL 以下では、24 時間まで放置しても、TLC 上に何ら変化は認められなかった。また、放置時間が 3 時間以下では、5% 水酸化ナトリウム-メタノール溶液の添加量を 10 mL まで増やしても、同様の結果であった。更に、放置時間が 6 時間では添加量 1 mL 以上で、16 時間では 1 mL で、スポットの分離が若干認められたが、明瞭なスポットは観察されなかった。しかし、放置時間が 16 時間では添加量 2 mL 以上で、24 時間では 1 mL 以上で、Fig. 2C に示したような 3 つのスポットに良好に分離することができた。したがって、確実にけん化する条件として、放置時間は 24 時間、5% 水酸化ナトリウム-メタノール溶液の添加量は 2 mL を選択した。

3. スキャニングデンストメトリーによる可視部吸収スペクトルの測定

上述の条件で分離した逆相 TLC 上のスポットについてスキャニングデンストメータを用い、走査波長 370 ~ 700 nm の範囲でバックグラウンド補正後の反射吸収を測定した。その結果を Fig. 3 に示した。 β -カロテンでは、極大吸収波長は 450 nm にあり、480 nm 付近にショルダーが認められた (Fig. 3A)。また、トウガラシ色素においては、Fig. 2C に示したけん化後の主スポットであるスポット 1 で、極大吸収波長は 480 nm にあり、510 nm 付近に小さいショルダーが認められ、カプサンチン標準品のスペクトルと完全に一致した (Fig. 3B)。各色素のスポットからはいずれも良好な可視

Fig. 3. Visible absorption spectra of standards of β -carotene, paprika color and capsanthin measured by scanning densitometry
 A) β -Carotene
 B) A: Paprika color (spot 1: after saponification)
 B: Capsanthin
 TLC conditions: see Fig. 2

Fig. 4. TLC chromatograms and visible absorption spectra of β -carotene extracted from various commercial foods under TLC/scanning densitometry

A: Standard of β -carotene
B: Candy
C: Jelly
D: Chocolate

TLC conditions: see Fig. 2

Fig. 5. TLC chromatograms and visible absorption spectra of paprika color extracted from various commercial foods under TLC/scanning densitometry

A: Standard of paprika color
B: Cuttlefish and Alaska pollack roe in red pepper (ika-mentai)
C: Korean pickles (kimuchi)
D: Rice-cracker (ebi-senbei)

TLC conditions: see Fig. 2

*1 Spot 1 (after saponification)

部吸収スペクトルが得られ、これらのスペクトルから両色素の同定は容易に実施できると思われた。

4. 市販食品への適用

以上の検討結果から、逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによる β -カロテン及びトウガラシ色素の同定法は市販食品に適用が可能であると考えられた。そこで、実験方法 1 に示した食品、合計 77 件 (β -カロテン

については 35 件、トウガラシ色素については 42 件) を用いて、実験方法 4 に示した C18 カートリッジによる色素試験溶液の精製法により試験溶液を調製し、その適用を試みた。

4.1 逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによる同定

試験溶液について逆相 TLC を実施した後に、プレー

Table 1. Average Ra/Rs Values of β -Carotene and Paprika Color in Foods on Reversed-phase TLC

	Rf value	Average Ra/Rs values* ¹	CV%	n
β -Carotene	0.34	1.00	1.9	35* ²
Paprika color (Spot 1)* ³	0.50	1.01	2.6	42* ⁴

*¹ Ratio of Rf (sample)/ Rf (standard)*² Juice, candy, jelly, chocolate, boiled fish paste (kamaboko), spaghetti sauce, etc.*³ After saponification*⁴ Pickles, spaghetti sauce, candy, jelly, boiled fish paste (kamaboko), rice-cracker (ebi-senbei), etc.

TLC conditions: see Fig. 2

ト上の色素スポットについてスキャニングデンシトメータを用いて可視部吸収スペクトルを測定した。得られた TLC クロマトグラムとスペクトルの代表例を Fig. 4 及び 5 に示した。トウガラシ色素においては、けん化後の主スポットであり、最も吸光度の強いスポット 1 について可視部吸収スペクトルの測定を実施した。食品から抽出・精製した色素の可視部吸収スペクトルの極大吸収波長及びスペクトルパターンは、いずれも標準品のそれとよく一致し、確実かつ簡便に同定できることが明らかとなった。

4.2 逆相 TLC における Rf 値の再現性

試料中のきょう雑物の Rf 値に与える影響を見るため、逆相 TLC で得られたスポットの Rf 値を比較検討した。プレート上での試料中の色素の Rf 値と標準色素の Rf 値の相違の度合いは前報^{15), 16)}と同様に、試料中色素の Rf 値(Ra)/標準色素の Rf 値(Rs)で表し、再現性はそれらの変動係数で評価した。その結果を Table 1 に示したが、 β -カロテンは平均 Ra/Rs 値が 1.00、変動係数が 1.9% であり、けん化後のトウガラシ色素の主スポットであるスポット 1 は平均 Ra/Rs 値が 1.01、変動係数が 2.6% であった。 Rf 値の相違の度合い、再現性ともに満足できる値が得られ、これらの色素は試料中のきょう雑物の影響を受けることなく、確実に同定できると考えられた。なお、トウガラシ色素において、けん化後の二つの副スポットは主スポットに比べ非常に色が薄く、逆相 TLC でこれらの副スポットが認められた試料が少なかったため、 Rf 値の再現性を検討することができなかった。

以上の検討から、本法における逆相 TLC は保健所などでの β -カロテン及びトウガラシ色素の現場検査に十分使用可能であると判断された。また、色素を単離することなく、確実に同定できる逆相 TLC/スキャニングデ

ンシトメトリーの両色素への応用も十分に確認された。

ま と め

食品中の β -カロテン及びトウガラシ色素を確実に同定するため、逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによる分析法の適用について検討し、以下に示す知見を得た。

- 1) β -カロテンはそのまま、トウガラシ色素はけん化後、逆相 C18TLC (展開溶媒: アセトニトリル-アセトン-*n*-ヘキサン (11:7:2)) を実施することにより、まとまりのよいスポットと良好な分離が得られた。
- 2) β -カロテン及びトウガラシ色素の精製には C18 カートリッジによる方法が有効であった。
- 3) 展開した TLC プレート上の色素スポットにスキャニングデンシトメータを適用したところ、良好な可視部吸収スペクトルが得られ、市販食品の色素スポットと標準品のスポットのスペクトルは完全に一致した。
- 4) 市販食品 77 試料 (β -カロテン 35 試料, トウガラシ色素 42 試料) について、本法における Rf 値の再現性を検討したところ、標準色素の Rf 値との相違の度合い及び変動係数が小さく、優れた再現性を示した。

以上のことから、本法は食品中の β -カロテン及びトウガラシ色素の確実な分析法として使用できることが判明した。

本研究の一部は本学会第 76 回学術講演会 (1998 年 11 月, 新潟) において発表した。

文 献

- 1) 日本食品添加物協会技術委員会編著“第一版化学的合成品以外の食品添加物リスト注解書”東京, 日本添加物協会, 1991, p. 31-135.
- 2) Tanimura, A. *et al.* eds., “Shokuhin Tenkabutsu Koteisho Kaisetsusho, 6th Ed.”, Tokyo, Hirokawa Shoten, 1992, D-249-D-256. (ISBN 567-01851-6)
- 3) Hsieh, Y. P. C., Karel, M., Rapid extraction and determination of α - and β -carotenes in foods. *J. Chromatogr.*, **259**, 515-518 (1983).
- 4) 日本薬学会編“衛生試験法・注解 1990”東京, 金原出版, 1990, p. 522. (ISBN 4-307-47028-1)
- 5) Goda, Y., Nakanishi, T., Sakamoto, S., Sato, K., Maitani, T., Yamada, T., Analyses of coloring constituents in commercial paprika color by HPLC. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **37**, 20-28 (1996).
- 6) Hagiwara, T., Yasuno, T., Funayama, K., Suzuki, S., Determination of lycopene, α -carotene and β -carotene in vegetable juice by liquid chromatography-atmospheric-pressure-chemical-ionization mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg.

- Soc. Japan), **38**, 211–218 (1997).
- 7) Bueno, M. P., Determination of retinol and carotene by high-performance liquid chromatography. *Food Chem.*, **59**, 165–170 (1997).
 - 8) Sommerburg, O., Zang, L. Y., Van-Kuijk, F., Simultaneous detection of carotenoids and vitamin E in human plasma. *J. Chromatogr. B*, **695**, 209–215 (1997).
 - 9) Weissenberg, M., Levy, A., Schaeffler, I., Menagem, E., Barzilai, M., Rapid isocratic HPLC analysis of beta-carotene in red peppers (*Capsicum annuum*), and food preparations. *Chromatographia*, **46**, 399–403 (1997).
 - 10) Weissenberg, M., Schaeffler, I., Menagem, E., Barzilai, M., Levy, A., Isocratic non-aqueous reversed-phase high-performance liquid-chromatographic separation of capsanthin and capsorubin in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika and oleoresin. *J. Chromatogr. A*, **757**, 89–95 (1997).
 - 11) Mínguez-Mosquera, M. I., Hornero-Méndez, D., Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1616–1620 (1993).
 - 12) Ittah, Y., Kanner, J., Granit, R., Hydrolysis study of carotenoid pigments of paprika (*Capsicum annuum* L. variety Lehava), by HPLC-photodiode array detection. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 899–901 (1993).
 - 13) Czinkotai, B., Daood, H. G., Biacs, P. A., Hajdu, F., Separation and detection of paprika pigments by HPLC. *J. Liq. Chromatogr.*, **12**, 2707–2717 (1989).
 - 14) Fisher, C., Kocis, J. A., Separation of paprika pigments by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 55–57 (1987).
 - 15) Itakura, Y., Ueno, E., Ito, Y., Oka, H., Ozeki, N., Hayashi, T., Yamada, S., Kagami, T., Miyazaki, Y., Otsuji, Y., Hatano, R., Yamada, E., Suzuki, R., Analysis of lac and cochineal colors in foods using reversed-phase thin-layer chromatography/scanning densitometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **40**, 183–188 (1999).
 - 16) Ozeki, N., Oka, H., Ikai, Y., Ohno, T., Hayakawa, J., Hayashi, T., Aoyama, T., Kushibiki, Y., Sato, T., Ito, M., Suzuki, R., Applicability of reversed-phase TLC to the analysis of coal tar dyes in food. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **34**, 542–546 (1993).
 - 17) Ueno, E., Flying spot scanning densitometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **39**, J-339 (1998).
 - 18) Ueno, E., Ohno, T., Oshima, H., Saito, I., Ito, Y., Oka, H., Kagami, T., Kijima, H., Okazaki, K., Identification of small amounts of coal tar dyes in foods by reversed-phase TLC/scanning densitometry with sample concentration techniques. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **39**, 286–291 (1998).