

HPLC による食品中の保存料および甘味料の一斉分析法について

—HPLC 測定条件および固相抽出による精製方法の基礎検討—

長谷川康行、橋本 博之、眞壁 祐樹、佐二木順子、宮本 文夫

Simultaneous Determination of Preservatives and Sweeteners in Foods by HPLC
—Investigation of HPLC Conditions and Clean-up Method Using Solid-phase Extraction—

Yasuyuki HASEGAWA, Hiroyuki HASHIMOTO, Yuhki MAKABE,
Junko SAJIKI and Fumio MIYAMOTO

Summary

Simultaneous determination of preservatives and sweeteners in foods by high-performance liquid chromatography (HPLC) were rarely reported until now. For the determination of 18 substances of preservatives and sweeteners, measurement conditions of HPLC and clean-up using solid-phase extraction method were investigated. Eighteen substances were detected at 6-24 minutes with 5 kinds of mobile phases when Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d.×250 mm) column was used for the separation of the substances. Fourteen and 16 substances were successfully retained in the cartridge columns of Oasis HLB and Oasis MAX, respectively. The 16 substances retained in Oasis HLB were eluted with methanol-water (1:1) mixture and methanol. And, the 14 substances retained in Oasis MAX were eluted with methanol, methanol containing 0.01 mol/L hydrochloric acid and methanol containing 0.2 mol/L hydrochloric acid.

キーワード：保存料；甘味料；高速液体クロマトグラフィー；固相抽出

Key Word：preservative；sweetener；HPLC；solid-phase extraction

はじめに

食品添加物の中で保存料および甘味料は広範囲の食品に使用が許可されており、使用基準も細かく定められていることが多い。保存料および甘味料の検査は、従来から化学的衛生行政検査において大きな割合を占めており、また行政処分等との関係から迅速かつ正確な検査が求められている。

食品中の保存料および甘味料の分析法については、単品目または系統別に抽出しガスクロマトグラフィー (GC)^{1), 2)} または高速液体クロマトグラフィー (HPLC)^{3)~21)} で測定する方法が報告されている。しかし、保存料および甘味料の同時一斉分析法については報告例がない。数多くの保存料および甘味料を迅速にスクリーニング分析するためには、保存料および甘味料を同時に抽出し、HPLC または高速液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) 等で一斉に分析することが望ましい。また、保存料および甘味料は使用可能な食品が数多くあるため、測定を妨害するマトリックスが食品中に存在する可能性があり、多種多様な食品に適応するためには、精製操作が必要である。

そこで、著者らは保存料および甘味料18種について、HPLC 測定条件ならびに固相抽出による精製方法の基礎検討を行ったところ、若干の知見を得たので報告する。分析対象とした保存料はソルビン酸 (SOA)、安息香酸 (BA)、デヒドロ酢酸 (DHA)、サリチル酸 (SA)、パラオキシ安息香酸 (PHBA)、パラオキシ安息香酸メチル (PHBA-Me)、パラオキシ安息香酸エチル (PHBA-Et)、

パラオキシ安息香酸イソプロピル (PHBA-isoPr)、パラオキシ安息香酸プロピル (PHBA-Pr)、パラオキシ安息香酸イソブチル (PHBA-isoBu)、パラオキシ安息香酸ブチル (PHBA-Bu) の11種類、甘味料はアセスルファムK (AK)、サッカリンナトリウム (SAC)、アスパルテーム (APM)、ズルチン (DU)、グリチルリチン酸 (GA)、ステビオシド (STV)、レバウディオシドA (REB) の7種類である。

実験方法

1. 試薬および試液

1) 標準品

SAC、SA、BA、SOA、DHA：和光純薬工業(株)製試薬特級品または特級品

APM、GA：和光純薬工業(株)製食品添加物試験用

STV、REB：和光純薬工業(株)製ステビオシド定量用

PHBA、PHBA-Me、PHBA-Et、PHBA-isoPr、PHBA-Pr、PHBA-isoBu、PHBA-Bu：東京化成工業(株)製特級品

AK、DU：関東化学(株)製食品分析用標準品

2) 標準溶液：SACは120℃で4時間乾燥後20mg、その他は20mgをメタノール・水 (1:1) 混液10mLまたはメタノール10mLに溶解した後、メタノール・水 (1:1) 混液10mLを加えて20mLとしたものを標準原液とした (各1000 μg/mL)。標準原液は冷蔵庫内で遮光・密閉して保存し、SOA および DHA は調製後1週間以内のものを使用した。各標準原液を用時メタノール・水 (1:1) 混液で希釈して1.0~10.0 μg/mLの標準溶液 (単独および混合) を調製した。

3) 0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 : 0.01mol/Lリン酸二水素カリウムおよび0.01mol/Lリン酸を混和し、pH4.0に調整した。

4) 精製用カートリッジカラム : Oasis HLB (6cc、500mg、Waters 社製)、Oasis MAX (6cc、150mg、Waters 社製)、Bond Elut SAX (3mL、500mg、VARIAN社製)、Bond Elut SCX (3mL、500mg、VARIAN 社製)、Bond Elut PSA (3mL、500mg、VARIAN 社製)、Bond Elut DEA (3mL、500mg、VARIAN 社製)、Bond Elut NH2 (3mL、500mg、VARIAN 社製) を用い、各カートリッジカラムは使用前にメタノール 5mLおよび水10mLにより、コンディショニングしたものを用いた。

5) 水は精製水を用い、特に品質の記載のない試薬およびその他の試薬はいずれも試薬特級品を用いた。

2. 装置

高速液体クロマトグラフ : 日本分光(株)製980-PU型ポンプ、同860-CO型カラム恒温槽、同970-UV型紫外外部検出器、(株)島津製作所製CR-7A plus型データ処理装置を用いた。

3. HPLC条件

カラム : ジーエルサイエンス社製 Inertsil ODS-2 (4.6mm i.d.×250mm)

AK、SAC、PHBA、SA 検出用移動相および検出波長 : メタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液pH4.0 (15:85)、230nm

APM 検出用移動相および検出波長 : メタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液pH4.0 (6:12:82)、210nm

BA、DU、SOA、DHA、PHBA-Me検出用移動相および検出波長 : メタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (1:2:7)、230nm

STV、REB 検出用移動相および検出波長 : アセトニトリル-水 (3:7)、210nm

PHBA-Et、PHBA-isoPr、PHBA-Pr、PHBA-isoBu、PHBA-Bu、GA 検出用移動相および検出波長 : メタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (6:4)、254nm

流量 : 1.0mL/min

カラム温度 : 40°C

注入量 : 20 μ L

結果および考察

1. HPLC 条件の検討

Inertsil ODS-2、Inertsil ODS-3、TSK GEL ODS-80Ts および Mightysil RP-18の4種のカラム (4.6mm i.d.×250mm) について、移動相としてメタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (1:9)、メタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (1:2:7)、メタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (6:4)、アセトニトリル-水 (3:7) を用い、カラム温度40°C、流量1.0mL/minの条件で測定した時の各測定物質の保持時間、ピーク形状、カラム圧等を比較した。その結果、Inertsil ODS-2と

TSK GEL ODS-80Tsはいずれの測定物質もピークがシャープで分離は良好であったが、カラム圧がメタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (6:4) で160kg/cm²以上となる場合があった。Inertsil ODS-3とMightysil RP-18はカラム圧が110 kg/cm²以下と低かったが、カルボン酸を有する酸性化合物においてピークがテーリングを起しピーク高が低くなった。これらの結果および著者らはこれまで保存料および甘味料の測定に Inertsil ODS-2を用いている^{5), 6)}ことから、今回の検討では Inertsil ODS-2を用いることとした。

次に、Inertsil ODS-2についてカラムの内径および長さによる各測定物質の分離、カラム圧への影響を検討した。内径4.6mm、長さ150mmのカラムの場合、内径4.6mm、長さ250mmのカラムに比べてカラム圧が117kg/cm²以下と低くなったが、各測定物質のピーク高も低くなり、測定物質相互の分離がやや悪くなった。内径6.0mm、長さ150mmのカラムの場合、内径4.6mm、長さ250mmのカラムに比べてカラム圧が63kg/cm²以下と非常に低くなったが、各測定物質のピーク高も低くなり、測定物質相互の分離がやや悪くなった。これらの結果から内径4.6mm、長さ250mmのカラムを使用することとした。

移動相溶媒としてメタノール系を用いた時とアセトニトリル系を用いた時とでは、測定物質によっては保持時間が全く異なる場合がある。また、リン酸緩衝液の代わりに水を用いた場合には、酸性の測定物質は速く溶出する傾向が見られた。これらの性質を利用して各測定物質を効率良く検出できる移動相を検討し選定した。選定した5種の移動相における各測定物質の保持時間をTable 1に示した。AK、SAC、PHBA、SAはメタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (15:85) で6~21分に、APMはメタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (6:12:82) で12分に、BA、DU、SOA、DHA、PHBA-Meはメタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (1:2:7) で7~13分にSTV、REBはアセトニトリル-水 (3:7) で12~14分に、PHBA-Et、PHBA-isoPr、PHBA-Pr、PHBA-isoBu、PHBA-Bu、GAはメタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (6:4) で6~24分に溶出した。

2. 固相抽出による精製方法の検討

7種の各カートリッジカラムに、各測定物質50 μ gを含有する25%メタノールに溶解した混合標準溶液10mL (10.0 μ g/mLの標準溶液 5mLに水 5mLを加えたもの) を負荷し 2mL/minで流出させ、流出液について各物質を測定し保持率を算出した。ただし、Oasis HLBについては中性条件下では酸性物質が十分保持されないため、水 5mLの代わりに0.1mol/Lリン酸溶液 5mLを加えて酸性条件下⁹⁾で負荷を行った。

各カートリッジカラムにおける各測定物質の保持率をTable 2に示した。

Table 1. Retention time of 18 substances in 5 mobile phases

Substance	Retention time (min)				
	Methanol-0.01 mol/L phosphoric buffer (pH4.0) (15:85)	Methanol-acetonitrile-0.01 mol/L phosphoric buffer (pH4.0) (6:12:82)	Methanol-acetonitrile-0.01 mol/L phosphoric buffer (pH4.0) (1:2:7)	Acetonitrile-water (3:7)	Methanol-0.01 mol/L phosphoric buffer (pH4.0) (6:4)
A K	6.2	4.8	3.7		
S A C	9.9	5.5	3.8		
P H B A	12.5	6.7	4.3		
S A	20.5	10.2	5.3		
A P M	38.6	12.0	4.9		
B A	41.4	20.1	9.1	2.5(△)	4.4
D U	44.9	19.5	7.9	5.8	3.9
S O A	54.9	24.7	10.4	2.9(△)	4.7
D H A	57.7	29.7	13.0	4.1(×)	4.8
PHBA-Me	73	31.4	11.8	8.7	4.6
PHBA-Et		80.8	23.3	15.3	6.1
PHBA-isoPr			46.3	27.8	8.3
PHBA-Pr			52.1	30.6	9.1
PHBA-isoBu				60.7	14.0
PHBA-Bu				64.8	14.7
R E B				12.7	16.6
S T V				13.2	16.4
G A				3.3(×)	24

(△) : weak tailing peak, (×) : strong tailing peak

Table 2. Retaining rate of 18 substances on 7 cartridge columns

Substance	Retaining rate (%)						
	Oasis HLB	Oasis MAX	Bond Elut SAX	Bond Elut NH2	Bond Elut PSA	Bond Elut DEA	Bond Elut SCX
A K	81.8	100.0	100.0	100.0	57.4	55.0	2.4
S A C	100.0	100.0	100.0	100.0	57.0	53.6	1.3
P H B A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	66.8	2.0
S A	100.0	99.2	3.6	98.7	62.1	64.7	0.0
A P M	46.4	16.4	2.1	100.0	70.8	58.2	100.0
B A	100.0	100.0	99.5	98.1	71.1	57.6	2.9
D U	100.0	57.6	2.4	8.1	6.9	11.8	13.5
S O A	100.0	100.0	86.6	100.0	60.7	48.6	2.6
D H A	100.0	99.1	47.9	100.0	72.8	45.7	4.7
PHBA-Me	100.0	100.0	0.0	58.4	18.0	24.1	0.0
PHBA-Et	100.0	100.0	0.0	57.3	19.5	24.5	0.0
PHBA-isoPr	100.0	100.0	0.0	53.7	18.1	25.0	0.0
PHBA-Pr	100.0	100.0	0.0	57.3	19.1	26.6	0.0
PHBA-isoBu	100.0	100.0	0.0	57.4	18.3	29.1	0.0
PHBA-Bu	100.0	100.0	0.0	56.1	18.2	29.2	0.0
R E B	100.0	29.2	2.8	5.8	7.2	18.1	2.8
S T V	100.0	31.4	4.7	4.0	6.6	7.3	1.9
G A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0

Oasis HLB は AK と APM が一部流出したが、他の16物質はカラムに100%保持された。Oasis MAX は APM、DU、REB、STV が十分保持されなかったが他の14物質はカラムに100%保持された。Bond Elut SAX と Bond Elut NH₂ は酸性物質については概ね保持されたが、パラオキシ安息香酸エステル (PHBA-Es) 類のような中性物質については、十分保持されなかった。Bond Elut PSA は GA と PHBA 以外の物質が十分保持されなかった。Bond Elut DEA も GA 以外の物質が十分保持されなかった。また、Bond Elut SCX は APM 以外の物質がほとんど保持されなかった。

Table 2 の結果から、Oasis HLB と Oasis MAX が一斉分析の精製方法として適しているものと推定された。そこで、Oasis HLB と Oasis MAX について保持された物質の溶出条件を検討することとした。

Oasis HLB に保持された物質は水10mLで洗浄後、メタノール-水 (1:1) 混液10mLにより2mL/min で溶出さ

せたところ、SAC の大部分、AK、および APM の一部が溶出したが、その他の15物質はほとんど溶出しなかった。次にメタノール 5mLにより 2mL/min で2回溶出させたところ、1回目で15物質の90%以上が溶出し、2回目で残りが溶出した。(Table 3)

この結果から、Oasis HLB を用いる場合には水10mLで洗浄後メタノール10mLで溶出させれば、AK および APM 以外の16物質を溶出させ、定量的に回収することが可能であるものと判断された。

また、AK および APM は25%メタノールに溶解した標準溶液では、Oasis HLB に十分保持されなかったが、2%メタノールに溶解した標準溶液では両物質ともほぼ100%保持された。この Oasis HLB を水10mLで洗浄後、メタノール-水 (1:1) 混液10mLで溶出させたところ、両物質の回収率は99.4~101.2%であった。この結果から、食品試料抽出液が水 (水溶性液状食品のような水のみで測定物質の抽出が可能な食品) の場合には、Oasis HLB

で18種の測定物質の全てを定量的に回収することが可能と考えられる。

Oasis MAX に保持された物質は水10mLで洗浄後、メタノール 5mLにより 2mL/minで溶出させたところ、PHBA の一部、SOA の一部、DHA の一部、DU、REB、STV、PHBA-Es 類の全てが溶出した。次に0.01mol/L塩酸含有メタノール 5mLで溶出させたところ、PHBA、SOA、DHA の残り、およびAK、SAC、SA、BA の全てが溶出した。また0.2mol/L塩酸含有メタノール 5mLで溶出させたところGA の大部分が溶出した。(Table 4)

塩酸の代わりにリン酸を用いた場合には、塩酸の場合とほぼ同様な溶出状況であったが、AK の溶出が不完全であった。これらの結果から、Oasis MAX を用いる場合には、水10mLで洗浄後、0.2mol/L塩酸含有メタノール 5mLで溶出すれば、保持されている物質を溶出することが可能であり、APM、DU、REB、STV 以外の14物質を定量的に回収できるものと考えられた。

著者らは、保存料および甘味料の系統的分析あるいは個別分析においては、APM の分析に Bond Elut SCX を用いている⁵⁾以外はエチルエーテルや酢酸エチル等の溶

媒による抽出精製法を用いている。溶媒抽出精製法で測定可能な物質は AK、SAC、PHBA、SA、BA、DU、SOA、DHA、6 種の PHBA-Es 類、GA の15種類である^{1)~6), 8), 13)}。Oasis HLBは上記の AK 以外の測定物質を93.0%以上回収でき、また Oasis MAX は DU 以外の上記の測定物質をほぼ100%回収できることから、溶媒抽出精製法に代わる精製方法として用いることが可能と考えられる。

Oasis HLB は食品中の SA、BA、SOA、DHA、6 種の PHBA-Es 類の HPLC 測定の精製に用いられ^{8), 9), 11), 12)}しており、また Oasis MAX は GA、REB、STV の精製に用いられている^{17), 19)}。Table 3 および Table 4 の結果から両者ともその他の保存料や甘味料の精製にも適用できることが分かった。また、測定物質の分画についても、Oasis HLB を用いる場合は AK、SAC、APM とその他の15物質との分画が可能であり、Oasis MAX を用いる場合は PHBA-Es 類と AK、SAC、BA、SA の 4 物質と GA の分画が可能（ただし PHBA、SOA、DHA は 2 分画に分割される）であることが分かった。

Table 3. Recoveris of 18 substances during clean-up procedure using an Oasis HLB cartridge column

Substance	Recovery (%)			Total
	Methanol-water mixture eluate 10 mL	Methanol eluate 0-5 mL	Methanol eluate 5-10 mL	
A K	65.7	0.2	0.1	66.0
S A C	96.1	1.1	0.2	97.4
P H B A	1.4	95.4	0.0	96.8
S A	0.0	99.3	4.0	103.3
A P M	42.6	0.6	0.0	43.2
B A	0.0	95.5	0.7	96.2
D U	1.9	96.5	0.2	98.6
S O A	0.0	97.5	0.2	97.7
D H A	0.0	90.5	2.5	93.0
PHBA-Me	0.0	101.0	0.9	101.9
PHBA-Et	0.0	98.7	1.7	100.4
PHBA-isoPr	0.0	98.9	1.2	100.1
PHBA-Pr	0.0	97.2	1.3	98.5
PHBA-isoBu	0.0	97.2	1.8	99.0
PHBA-Bu	0.0	96.6	3.7	100.3
R E B	0.0	108.4	0.0	108.4
S T V	0.0	98.9	0.0	98.9
G A	0.0	97.5	0.0	97.5

Table 4. Recoveris of 18 substances during clean-up procedure using an Oasis MAX cartridge column

Substance	Recovery (%)			Total
	Methanol eluate 5 mL	Methanol containing 0.01 mol/L hydrochloric acid eluate 5 mL	Methanol containing 0.2 mol/L hydrochloric acid eluate 5 mL	
A K	0.0	104.3	0.0	104.3
S A C	0.0	103.3	0.0	103.3
P H B A	87.0	18.2	0.0	105.2
S A	0.0	107.2	0.0	107.2
A P M	0.0	0.0	0.0	0.0
B A	0.0	102.0	0.0	102.0
D U	33.4	0.0	0.0	33.4
S O A	63.3	41.9	0.0	105.2
D H A	51.9	50.5	0.0	102.4
PHBA-Me	103.1	0.0	0.0	103.1
PHBA-Et	103.5	0.0	0.0	103.5
PHBA-isoPr	102.7	0.0	0.0	102.7
PHBA-Pr	103.3	0.0	0.0	103.3
PHBA-isoBu	102.4	0.0	0.0	102.4
PHBA-Bu	103.4	0.0	0.0	103.4
R E B	18.8	0.0	0.0	18.8
S T V	18.3	0.0	0.0	18.3
G A	0.0	0.0	88.5	88.5

まとめ

甘味料および保存料18種について、HPLC 測定条件ならびに固相抽出による精製方法について基礎検討を行った。HPLC 測定条件としてはカラムに Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d.×250mm) を用い、5 種の移動相で各測定物質を6～24分で溶出させ、検出することが可能であった。固相抽出による精製方法については、7 種のカートリッジカラムに各測定物質を保持させたところ、Oasis HLB と Oasis MAX が測定物質の多くを保持することが可能であった。Oasis HLB に保持された物質はメタノール水 (1:1) 混液およびメタノールで溶出させることが可能であった。また、Oasis MAX に保持された物質はメタノール、0.01mol/L塩酸含有メタノールおよび0.2mol/L塩酸含有メタノールで溶出させることが可能であった。

これらの知見を、今後の食品中の甘味料と保存料の一斉分析に応用していきたいと考える。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局監修 (1989) : 食品衛生検査指針・食品中の食品添加物分析法、14-32、190-195、日本食品衛生協会。
- 2) 中家陽子、与儀達也、笈 浩一、井上大作、渡瀬英昭、橋本 智、外海泰秀 (1999) : 食品中のサッカリンおよびアセスルファムKのGC-NPDによる簡易同時分析、食衛誌、40、223-229。
- 3) 厚生省生活衛生局監修 (2003) : 食品衛生検査指針 (食品添加物編)、12-25、216-241、580-588、日本食品衛生協会。
- 4) 日本薬学会編 (2005) : 衛生試験法・注解2005、302-306、333-347、金原出版
- 5) 千葉県衛生部衛生指導課編 (1993) : 千葉県食品添加物標準検査法、12-23、61-72。
- 6) 土田千鶴子、宮本文夫、小野悦子、佐伯政信 (2000) : 高速液体クロマトグラフィーによる食品中の合成甘味料および合成保存料の一斉分析法の改良、千葉衛研報告、第24号、10-15。
- 7) 河野美幸、中里光男、小林千種、山嶋裕季子、大野郁子、安田和男 (2000) : 食品中のパラオキシ安息香酸エステル類の分析法、東京衛研年報、51、80-84。
- 8) 松野伸広、加藤文秋、石橋 亮、伊藤 武、坂井千三、川崎洋子、石綿 肇 (2001) : 食品中の安息香酸、ソルビン酸、デヒドロ酢酸、およびサリチル酸の簡易一斉分析法の検討、日本食品衛生学会第81回学術講演会講演要旨集、32。
- 9) 粕屋陽子、松田敏晴、中里光男、安田和男 (2003) : 透析法を応用した食品中の保存料の一斉分析、東京健安研年報、54、104-108。
- 10) 都田路子、山田洋子、天川映子、安田和男 (2004) : 直接抽出法による食品中の保存料の分析、東京健安研年報、55、101-106。
- 11) 食安監発第1207003号 平成17年12月7日 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「食品中のパラオキシ安息香酸メチルの分析法について」。
- 12) 岸 弘子、山田利治 (2007) : HPLC による食品中の9種保存料の一斉分析、食衛誌、48、58-63。
- 13) 立花光雄、青山光雄、谷口力夫、穴吹公子、鎌田郁、井上典子、小林 純 (1996) : 高速液体クロマトグラフィーによるアセスルファム K、サイクラミン酸、ズルチンおよびサッカリンの系統分析、東京都杉並区衛生試験所年報、第13号、74-79、平成7年版。
- 14) 小林千種、中里光男、牛山博文、川合由華、立石恭也、安田和男 (1999) : HPLC による食品中の合成甘味料の一斉分析法、食衛誌、40、166-171。
- 15) 小沢秀樹、広門雅子、嶋村保洋、中島和雄、木村圭介、安田和男 (2000) : 高速液体クロマトグラフィーによるステビア甘味成分の分析法、東京衛研年報、51、75-79。
- 16) 都田路子、青柳陽子、佐藤 寛、高田千恵子、山田洋子、萩原 勉、天川映子、安田和男 (2001) : ジャムおよびママレード中のサッカリンおよびズルチンの HPLC 分析、東京衛研年報、52、57-61。
- 17) 萩野賀世、松本ひろ子、坂牧成恵、中里光男、安田和男 (2002) : 乾燥梅製品に使用された甘味料の分析、東京衛研年報、53、73-77。
- 18) 小沢秀樹、広門雅子、田口信夫、小林千種、山嶋裕季子、斉藤和夫 (2003) : 固相抽出を用いた HPLC による食品中のグリチルリチン酸、ステビオンドおよびレバウディオシド A の同時分析法、東京健安研年報、54、93-98。
- 19) 坂牧成恵、松本ひろ子、萩野賀世、中里光男、安田和男 (2004) : HPLC を用いた食品中のステビオンド、レバウジディオシド A およびグリチルリチン酸の一斉分析、食衛誌、45、81-86。
- 20) 松本ひろ子、萩野賀世、坂牧成恵、粕谷陽子、永山敏廣 (2005) : 電気伝導度検出器付き HPLC による食品中サイクラミン酸の直接分析と7種甘味料の系統的分析、東京健安研年報、56、153-156。
- 21) 小山政道、吉田和郎、内堀伸健、和田伊知朗、秋山和幸、佐々木珠美 (2005) : LC/MS による食品中の9種甘味料の一斉分析法、食衛誌、46、72-78。