報 文

ウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチン測定法の 室間共同試験による妥当性確認

熊谷雅孝^{1*}, 門倉雅史¹, 水田賢司¹, 田中真澄¹, 生駒吉識², 鈴木忠直^{1,3}, 安井明美³

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター

² 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所

³ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Validation of a Method for Determination of β -cryptoxanthin in Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) by Interlaboratory Study

Masataka Kumagai^{1*}, Masashi Kadokura¹, Kenji Mizuta¹, Masumi Tanaka¹,
Yoshinori Ikoma², Tadanao Suzuki^{1,3} and Akemi Yasui³

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, 2-1, Shintoshin, Chuo-ku, Saitama, Saitama 330-9731

² National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1, Fujimoto, Tsukuba, Ibaraki 305-8605

³ National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-12, Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

An interlaboratory study was performed to evaluate an analytical method for the determination of β -cryptoxanthin in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). The detection limit (S/N=3) and determination limit (S/N=10) of β -cryptoxanthin in this method were 0.4 mg/kg and 1.2 mg/kg, respectively. Eleven participating laboratories independently analyzed five test materials (five pairs of blind duplicates) using high performance liquid chromatography. After removal of outliers, the repeatability (RSD_r) and reproducibility (RSD_R) of the evaluated methods were 2.0-4.2% and 9.0-14%, respectively, in a concentration range from 4.7 mg/kg to 23 mg/kg. The HorRat values of the β -cryptoxanthin concentration were calculated to be 0.75 to 1.1. The present study showed that this method has acceptable precision. The expanded uncertainty $U(k=2)$ was 21%.

(Received Feb. 2, 2016; Accepted Jun. 16, 2016)

Keywords : satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.), β -cryptoxanthin, carotenoid, validation, interlaboratory study

キーワード : ウンシュウミカン, β -クリプトキサンチン, カロテノイド, 妥当性確認, 共同試験

β -クリプトキサンチンは、果実や野菜に存在するカロテノイド色素の一種で、ウンシュウミカンに多く含まれており¹⁾、その栄養特性は体内でビタミン A に代謝されるプロビタミン A としての働きが知られている。また、疫学調査により血清中濃度と種々の生活習慣病の発症リスクの低減に関連があること^{2)~4)}、ヒト介入試験により β -クリプトキサンチンの摂取量が一日あたり 3 mg 以上である場合、骨代謝を指標とした骨の健康維持に効果があることが報告されている⁵⁾。厚生労働省・農林水産省が決定した「食事バランスガイド」¹⁾によると、果物の一日に食べる量の目安はウンシュウミカンでは 2~3 個とされている。一般的な大きさのウンシュウミカンの質量は 100 g~150 g 程度であり、外果皮を除去する際の廃棄率を 20%⁶⁾ とすると、その

可食部は 80 g~120 g 程度である。したがって、一般的な大きさのウンシュウミカン を 2~3 個食べることで β -クリプトキサンチンを 3 mg 摂取するためには、その可食部の β -クリプトキサンチン含有量は 8.3 mg/kg~18.8 mg/kg となる。そこで、測定法の適用範囲がこの範囲を含むように材料の選定を行った。

平成 27 年 4 月 1 日、食品表示法(平成 25 年法律第 70 号)に基づく食品表示基準(平成 27 年内閣府令第 10 号)が施行され、「機能性表示食品」制度が新たに規定された。この制度に基づき、ウンシュウミカンについて β -クリプトキサンチンに関する機能性表示の届出が受理された⁴⁾。また、平成 25 年度~26 年度に農林水産省は、必要な量の機能性成分が含有されていることを保証する日本農林規格(JAS

¹ 〒330-9731 埼玉県さいたま市中央区新都心 2-1, ² 〒305-8605 茨城県つくば市藤本 2-1, ³ 〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

*連絡先 (Corresponding author), masataka_kumagai@nm.famc.go.jp

規格)を検討し、その一つにウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチンが挙げられた^{iv)}。 β -クリプトキサンチンの測定法については、6種のカロテノイド(α -カロテン、 β -カロテン、ルテイン、リコペン、 β -クリプトキサンチンおよびゼアキサンチン)を対象として、分析法の評価を行った報告^{v)}等はあるが、IUPAC 共同試験プロトコル⁶⁾に挙げられた条件を満たした室間共同試験の報告はない。

(独)農林水産消費安全技術センターでは、JAS 規格の基準値を担保するための測定法について、室間共同試験等により妥当性の確認を行っている⁷⁾。また、国際的な食品規格である Codex 規格等では、妥当性が確認された分析法を用いて求めた測定値に不確かさを付けることが求められており、測定値の基準値等への適合を評価する際に不確かさをを用いることが国際的な基準となっている^{vi)8)}。

そこで本研究では、ウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチン含有量の測定法について室間共同試験を行い、室間再現性が妥当な範囲に入っていることを確認し、測定値の不確かさを見積もった。

実 験 方 法

1. 材 料

平成 26 年 9 月～11 月に国内の市販のウンシュウミカン 18 商品を購入し、各商品の β -クリプトキサンチン含有量を測定し、室間共同試験用として、 β -クリプトキサンチン含有量が 8.3mg/kg～18.8mg/kg の範囲を含むような 5 種の材料を選定した。また、主催試験室における真度確認のための添加回収試験用として 1 種選定した。

2. 試 薬

β -クリプトキサンチン標準品は、CaroteNature (Ostermundigen, Switzerland) 製(純度>99.7% (HPLC))を約 0.1mg ずつ各試験室に配付した。 β -クリプトキサンチン標準品を除く試薬は、各試験室において準備した。パルミチン酸アスコルビルは 97.0% 以上 (Titration) の純度のもの、水は JIS K 0557 に規定する A3 又は A4 の質のものを、メタノールおよびクロロホルムは高速液体クロマトグラフ用のものを、その他の試薬は、市販の特級の品質のものを、用いた。

3. 装置および器具

ホモジナイザーは、(株)日本精機製作所(東京)エクセルオートホモジナイザーを用いた。分光光度計は、JIS K 0115 に規定する分光光度計又は光電光度計で光路長が 1 cm の吸収セルを固定できる吸収セルホルダーを備え、452 nm における吸光度を測定できるのを用いた。高速液体クロマトグラフ(HPLC)は、送液ポンプ、脱気装置、カラム槽、紫外可視吸光度検出器およびデータ処理装置を備えているのを用いた。HPLC カラムは、内径 4.6mm、長さ 150mm のステンレス管に粒径 3 μ m～5 μ m のオクタデシルシリル基(C18)を化学的に結合したシリカゲルを充

填したものを用いた。HPLC の測定条件は、以下のとおりとした。移動相：50mg/L パルミチン酸アスコルビル含有メタノール-クロロホルム(96:4)混液。カラム温度：40℃。測定波長：455nm。流量：1.5mL/min。注入量：20 μ L。

4. 材料の調製

外果皮を除去した後、 β -クリプトキサンチンの分解を防ぐために、可食部 150g に 15g のピロガロールを抗酸化剤として加えて⁹⁾、ホモジナイザーにより 12000rpm で 10 分間粉碎、均質化した。

5. 室間共同試験

(1) 材料の調製および配付

選定した 5 材料について、2.5g ずつ 6mL 容透明ガラス瓶に小分けし、番号を付けた。各材料につき均質性確認試験用 10 瓶、室間共同試験用 22 瓶(11 試験室×非明示 2 反復)、予備用 18 瓶の計 50 瓶に小分けした。各材料 50 瓶の中から 10 瓶を乱数を用いて無作為に抽出し、各瓶から分析試料 1g を 2 回採取、無作為な順序で測定し、一元配置分散分析(危険率 5%)によってその均質性を確認した¹⁰⁾。なお、小分けした試料は-20℃以下で保存した。

各試験室には、IUPAC 共同試験プロトコル⁶⁾に基づき、均質性が確認された 5 材料を非明示で 2 回測定させるために計 10 点の分析用試料および β -クリプトキサンチン標準品を冷凍で配付した。

(2) 測 定

各試験室は、到着後速やかに β -クリプトキサンチン標準品を標準原液の調製に用いた。標準原液および配付された分析用試料は、試験実施まで-20℃以下で保存した。試験実施時に室温で静置した後、測定手順に従って測定を行った。測定手順は、「食品表示基準について(平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号)別添 栄養成分等の分析方法等^{vi)}」におけるカロテンの高速液体クロマトグラフ法による測定法を一部変更し、以下のように各試験室に指示した。

試料 2g を 50mL 容の遠心管に量り取り、3% (w/v) ピロガロール含有エタノール 15mL と硫酸ナトリウム 10g を加え、5 分間振とうする。遠心分離後、底部の試料残渣および硫酸ナトリウムが入らないように、ピペットを用いて黄色の上澄み液を 50mL 全量フラスコへ移す。同様の操作を繰り返し、さらに 2 回抽出して抽出液を合わせた後、3% (w/v) ピロガロール含有エタノールで定容する。定容した抽出液 10mL を 50mL 容の遠心管に正確に量り取り、60% (w/v) 水酸化カリウム水溶液 1mL を加え、暗褐色の溶液となるまで穏やかに振り混ぜる。遠心管に栓をして、70℃の水浴中で 30 分間加熱する。水冷後、1% (w/v) 塩化ナトリウム水溶液 20mL、2-プロパノール 5mL および *n*-ヘキサン-酢酸エチル(9:1)混液 12mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、暗褐色の下層が入らないように、ピペットを用いて可能な限り上層をなす形フラスコへ移し、下層液を同様の操作を繰り返してさらに 2 回抽出して、

表1 室間共同試験におけるウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチン (mg/kg^{a)}) の測定結果

試験室	材料 A		材料 B		材料 C		材料 D		材料 E	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	3.95	3.98	6.66	6.34	10.02	10.19	13.37	12.45	21.71	20.47
2	4.99	4.77	7.18	7.24	11.02	11.07	14.85	14.89	25.63	25.01
3	4.46	4.36	6.85	6.79	10.73 ^{e)}	8.72 ^{e)}	12.32	14.43	24.86	24.33
4	4.33	4.33	6.64 ^{c)}	5.28 ^{c)}	8.43 ^{f)}	9.72 ^{f)}	14.06 ^{e)}	9.42 ^{e)}	24.36	23.99
5	5.86	5.52	13.47 ^{d)}	13.30 ^{d)}	17.18 ^{d)}	15.55 ^{d)}	14.34 ^{c)}	26.34 ^{c)}	26.06 ^{b)}	18.51 ^{b)}
6	4.86	5.05	6.85	6.87	10.29	10.38	13.28	13.28	22.04	21.94
7	4.55	4.42	7.36	7.01	11.84	11.92	16.20	16.54	28.82	29.66
8	3.56 ^{c)}	4.39 ^{c)}	5.76	5.65	8.84	9.03	12.77	12.44	21.98	21.01
9	4.26	4.30	6.55	6.48	9.93	10.19	13.26	12.99	23.69	23.51
10	4.30	4.27	6.33	6.09	9.56	9.55	12.37	12.66	21.36	20.93
11	5.90	6.17	7.69	7.80	11.19	11.15	13.78	14.22	21.39	22.23
有効試験室数 ^{g)}	10		9		9		9		10	
(外れ試験室数)	(1)		(2)		(2)		(2)		(0)	
平均値 (mg/kg)	4.73		6.75		10.2		13.7		23.4	

a) 可食部生鮮質量

b) 操作上の過失があったため、統計処理から除外した。

c) 1回目コクラン検定(上側危険率2.5%)の外れ値

d) 1回目シングルグラブス検定(両側危険率2.5%)の外れ値

e) 2回目コクラン検定(上側危険率2.5%)の外れ値

f) 3回目コクラン検定(上側危険率2.5%)の外れ値であったが、棄却する試験室数が2/9を超えるため棄却しなかった。

g) 外れ値検定開始時の試験室数から外れ試験室数を除いた数

合わせて抽出液とした。抽出液をロータリーエバポレーターを用いて、浴温度40℃で減圧留し、残留物をエタノールに溶解し、5mLに定容して試験溶液とする。

HPLCの標準溶液は以下のように調製する。 β -クリプトキサンチン標準品を10 μ g/mL程度となるように石油エーテルに溶解し、標準原液とする。標準原液2mLを正確に量り取り、石油エーテルで10mLに定容し、分光光度計を用いて452nmの吸光度を測定する。 β -クリプトキサンチンの比吸光度を $E(1\%, 1\text{cm})=2386$ として、標準原液の β -クリプトキサンチン濃度を求める。標準原液0.5mL又は1mLを正確に量り取り、窒素を穏やかに吹き付け石油エーテルを除去し、エタノールで適宜定容し、 β -クリプトキサンチン濃度が0.25, 0.5, 1.0および2.0 μ g/mL程度の標準溶液を調製する。標準溶液および試験溶液は、-20℃以下で保存し、1週間以内にHPLCによる測定を行う。

標準溶液および試験溶液をHPLCに注入し、 β -クリプトキサンチンを紫外可視吸光度検出器により検出し、データ処理装置を用いてシス体およびトランス体のピーク面積を合算した面積値から絶対検量線法により試験溶液中の β -クリプトキサンチン濃度を算出し、ウンシュウミカンの β -クリプトキサンチン含有量を求める。

(3) 結果の解析

結果の解析は、試験結果に影響を与える操作上の過失があった結果を異常値として除外した後、IUPAC共同試験プロトコル⁶⁾に従い、コクラン検定およびグラブス検定に

より外れ値検定を行った。外れ値を棄却した結果から、併行標準偏差(S_r)、併行相対標準偏差(RSD_r)、室間再現標準偏差(S_R)および室間再現相対標準偏差(RSD_R)を求めた。計算には、Microsoft Excel 2010を使用した。

実験結果および考察

1. 添加回収試験

添加回収試験用として β -クリプトキサンチン含有量が6.0mg/kgの材料を選定し、試料2gに10.17 μ g/mLの β -クリプトキサンチン標準溶液を1mL加え、添加回収試験を行ったところ、回収率は98%および101%($n=2$)であった。このとき、検量線の決定係数(R^2)は0.9996であった。

また、本測定法の検出限界および定量限界を、それぞれシグナルとノイズの比が3および10となる β -クリプトキサンチン濃度から求めたところ¹¹⁾、0.4mg/kgおよび1.2mg/kgであった。

2. 室間共同試験

(1) 外れ値検定、併行精度および室間再現精度

共同試験は、11試験室で行った。共同試験の結果を表1に示す。材料Eの試験室5の試験結果は、1つの分析用試料で全量フラスコを用いて定容する際に標線を越える過失があったため、対になる結果を含め外れ値検定を行う前に異常値として除外した。異常値を除外した結果について、外れ値検定を行った。1回目のコクラン検定において、材料Aで試験室8、材料Bで試験室4、材料Dで試験室5が

表 2 ウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチン測定法の室間共同試験結果

材料	有効試験室数 ^{a)} (外れ試験室数)	平均値 (mg/kg ^{b)})	S_r	$2.8 \times S_r$	S_R	$2.8 \times S_R$	RSD_r (%)	RSD_R (%)	Predicted RSD_R (%) ^{c)}	HorRat ^{d)}
A	10 (1)	4.73	0.12	0.34	0.67	1.9	2.6	14	13	1.1
B	9 (2)	6.75	0.13	0.37	0.61	1.7	2.0	9.0	12	0.75
C	9 (2)	10.2	0.32	0.89	1.0	2.8	3.1	9.9	11	0.88
D	9 (2)	13.7	0.57	1.6	1.3	3.7	4.2	9.6	11	0.89
E	10 (0)	23.4	0.50	1.4	2.6	7.2	2.1	11	10	1.1

S_r , 併行標準偏差; $2.8 \times S_r$, 併行許容差; S_R , 室間再現標準偏差; $2.8 \times S_R$, 室間再現許容差
 RSD_r , 併行相対標準偏差; RSD_R , 室間再現相対標準偏差.

^{a)} 外れ値検定開始時の試験室数から外れ試験室数を除いた数

^{b)} 可食部生鮮質量

^{c)} $\text{Predicted } RSD_R (\%) = 2 \times (\text{平均値} \times 10^{-6})^{-0.1505}$

^{d)} $\text{HorRat} = RSD_R / \text{Predicted } RSD_R$

外れ値となった。シングルグラブ検定において、材料 B および材料 C で試験室 5 が外れ値となった。2 回目のコクラン検定において、材料 C で試験室 3, 材料 D で試験室 4 が外れ値となった。さらに、3 回目のコクラン検定において材料 C で試験室 4 が外れ値となったが、棄却する試験室数は検定開始時の試験室数の 2/9 以内とされている⁶⁾ ことから、棄却せずに検定を終了した。試験室 5 の測定値が他の試験室の測定値に比べて高く、材料 B, C, D において外れ値となったが、これは試験室 5 が測定に用いたバイアルのセプタムが HPLC に適合していなかったことが原因であると考えられた。異常値および外れ値を除いた各試験室の結果より求めた併行精度および室間再現精度を表 2 に示す。共同試験を行った材料の β -クリプトキサンチン含有量の平均値は 4.7 mg/kg~23 mg/kg, S_r は 0.12 mg/kg~0.57 mg/kg, RSD_r は 2.0%~4.2%, S_R は 0.61 mg/kg~2.6 mg/kg, RSD_R は 9.0%~14% であった。このとき、Horwitz の式¹²⁾ から予測される室間再現相対標準偏差 (Predicted RSD_R) は 10%~13% であり、 RSD_R と Predicted RSD_R の比率である HorRat は 0.75~1.1 となった。食品分析の分野においては、化学分析法によって得られる定量値のばらつきの判断基準として Horwitz の式¹²⁾ が広く利用されており、HorRat が 0.5~2 の範囲であれば室間再現性が妥当であると判断される¹³⁾。今回の共同試験では、材料 A から E の HorRat はいずれもこの範囲にあり、 β -クリプトキサンチン含有量が 4.7 mg/kg~23 mg/kg の範囲で、室間再現性が妥当な範囲に入っていることが確認された。

(2) 測定法の不確かさ

回帰分析によって、 β -クリプトキサンチン含有量と S_R について関数関係を求めた¹⁴⁾。その結果、以下の関係式 (1) が得られ、 S_R の β -クリプトキサンチン含有量に対する従属性が認められた ($p=1.9 \times 10^{-5}$) (図 1)。

$$S_R = 0.105 \times (\beta\text{-クリプトキサンチン含有量}) \quad (1)$$

また、拡張不確かさ (U) ($k=2$) は、次式 (2) で表すこ

図 1 β -クリプトキサンチン含有量と室間再現標準偏差 (S_R) の関係

実線：共同試験の結果 (○) から求めた関係式
 $(S_R = 0.105 \times (\beta\text{-クリプトキサンチン含有量}))$

とができる。

$$U = 0.21 \times (\beta\text{-クリプトキサンチン含有量}) \quad (2)$$

したがって、本測定法は 4.7 mg/kg~23 mg/kg の範囲で、関係式 (2) によりウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチンの測定値の不確かさを推定することができる。

要 約

ウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチンの測定法について、妥当性を確認するため、5 種類の市販の果実試料を用いて 11 試験室で室間共同試験を行った。その結果、 β -クリプトキサンチン含有量が 4.7 mg/kg~23 mg/kg の範囲で、 RSD_r は 2.0%~4.2%, RSD_R は 9.0%~14% となった。このとき、HorRat は 0.75~1.1 となり、2 以下であることから測定法の妥当性が確認された。また、拡張不確かさは $0.21 \times (\beta\text{-クリプトキサンチン含有量})$ となった。

共同試験にご協力いただいた (一財)食品環境検査協会清

水事業所, (一財)日本食品分析センター多摩研究所, (一財)日本冷凍食品検査協会関西事業所, (株)えひめ飲料および(独)農林水産消費安全技術センター(本部規格検査課, 横浜事務所, 札幌センター, 仙台センター, 名古屋センター, 神戸センター, 福岡センター)の担当者の皆様に感謝します。

また, 共同試験の設計および結果の評価は, (独)農林水産消費安全技術センターに設置された妥当性確認調査検討・評価委員会において行った。ご協力いただいた各委員に感謝します。

文 献

- 1) Yano, M., Kato, M., Ikoma, Y., Kawasaki, A., Fukazawa, Y., Sugiura, M., Matsumoto, H., Oohara, Y., Nagano, A. and Ogawa, K., Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. *Food Sci. Technol. Res.*, **11**, 13-18 (2004).
- 2) Sugiura, M., Nakamura, M., Ikoma, Y., Yano, M., Ogawa, K., Matsumoto, H. and Kato, M., Ohshima, M. and Nagao, A., Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes. Res. Clin. Pract.*, **71**, 82-91 (2006).
- 3) Nakamura, M., Sugiura, M. and Aoki, N., High β -carotene and β -cryptoxanthin are associated with low pulse wave velocity. *Atherosclerosis*, **184**, 363-369 (2006).
- 4) Sugiura, M., Nakamura, M., Ikoma, Y., Yano, M., Ogawa, K., Matsumoto, H., Kato, M., Ohshima, M. and Nagao, A., The homeostasis model assessment-insulin resistance index is inversely associated with serum carotenoids in non-diabetic subjects. *J. Epidemiol.*, **16**, 71-78 (2006).
- 5) Yamaguchi, M., Igarashi, A., Uchiyama, S., Sugawara, K., Sumida, T., Morita, S., Ogawa, H., Nishitani, M. and Kajimoto, Y., Effect of β -cryptoxanthin on circulating bone metabolic markers: Intake of juice (*Citrus unshiu*) supplemented with β -cryptoxanthin has an effect in menopausal women. *J. Health Sci.*, **52**, 758-768 (2006).
- 6) Horwitz, W., Protocol for the design, conduct and interpretation of method - performance studies. *Pure Appl. Chem.*, **67**, 331-343 (1995).
- 7) 箱田晃子, JAS規格と分析法, 日本食品科学工学会誌, **57**,

134-141 (2010).

- 8) International Organization for Standardization, ISO/IEC 17025:2005 General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, Geneva (2005).
- 9) 財団法人日本食品分析センター, α -カロテン及び β -カロテン, 「五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説」, 第1版(中央法規出版, 東京), pp. 131-138 (2001).
- 10) 内藤成弘, 塚越芳樹, データの統計的取り扱い, 食糧, **46**, 27-62 (2008).
- 11) 日本規格協会, JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則 (2011).
- 12) Horwitz, W., Kamps, L.R. and Boyer, K.W., Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1344-1354 (1980).
- 13) AOAC Int., Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. In "Official Methods of Analysis of AOAC Int.", 19th ed., Gaithersburg, MD, USA (2012).
- 14) 日本規格協会, JIS Z8402-2:1999 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)第2部:標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本的方法 (1999).

引用 URL

- i) 農林水産省, 「食事バランスガイド」について, http://www.maff.go.jp/j/balance_guide/index.html (2016. 1. 29)
 - ii) 文部科学省, 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂), http://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1365297.htm (2016. 1. 29)
 - iii) 消費者庁, 機能性表示食品の届出情報, http://www.caa.go.jp/foods/todoke_76-100.html (2016. 1. 29)
 - iv) 農林水産省, 新分野 JAS 規格化委託事業, <http://www.maff.go.jp/j/jas/yosan.html> (2016. 1. 29)
 - v) 農林水産省農林水産技術会議事務局, 安全で信頼性機能性が高い食品農産物供給のための評価管理技術の開発, <http://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2039017285.pdf> (2016. 1. 29)
 - vi) Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 54-2004 Guidelines on Measurement Uncertainty, http://www.codexalimentarius.org/download/standards/10129/CXG_054e.pdf (2016. 1. 29)
 - vii) 消費者庁, 食品表示基準について 別添 栄養成分等の分析方法等, http://www.caa.go.jp/foods/pdf/150914_tuchi4-betu2.pdf (2016. 1. 29)
- (平成 28 年 2 月 2 日受付, 平成 28 年 6 月 16 日受理)