

**JAS**  
**0002**

**日本農林規格**  
**JAPANESE AGRICULTURAL**  
**STANDARD**

---

**べにふうき緑茶中のメチル化カテキンの定量**  
**— 高速液体クロマトグラフ法**

**Determination of the O-methylated Catechin in ‘Benifuuki’ Green Tea**  
**(*Camellia sinensis* L.) — High-performance liquid chromatographic method**

2018年3月29日 制定

---

農林水産省

## 目 次

	ページ
1 適用範囲 .....	1
2 引用規格 .....	1
3 測定原理 .....	2
4 試薬 .....	2
5 装置及び器具 .....	4
6 試験用試料の調製 .....	5
7 手順 .....	5
7.1 抽出 .....	5
7.2 希釈 .....	5
7.3 測定 .....	5
7.4 同定 .....	6
8 計算 .....	6
8.1 一般事項 .....	6
8.2 定量 .....	6
8.3 結果の表現 .....	6
9 精度 .....	7
9.1 試験室間共同実験 .....	7
9.2 併行精度 .....	7
9.3 室間再現精度 .....	7
10 質管理 .....	7
11 試験報告書 .....	7
附属書 A (参考) 試験室間共同実験の結果 .....	8
附属書 B (参考) 典型的な HPLC クロマトグラム .....	9
参考文献 .....	13

## まえがき

この規格は、日本農林規格等に関する法律に基づき、農林物資規格調査会の審議を経て、農林水産大臣が制定した日本農林規格である。

この規格の一部が、特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権又は出願公開後の実用新案登録出願に抵触する可能性があることに注意を喚起する。農林水産大臣及び農林物資規格調査会は、このような特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権及び出願公開後の実用新案登録出願にかかわる確認について、責任はもたない。



## 日本農林規格

JAS  
0002 : 2018

# べにふうき緑茶中のメチル化カテキンの定量 － 高速液体クロマトグラフ法 Determination of the O-methylated Catechin in 'Benifuuki' Green Tea (*Camellia sinensis* L.) – High-performance liquid chromatographic method

**警告** この規格に基づいて試験を行う者は、通常の実験室での作業に精通していることを前提とする。この規格は、その使用に関連して起こる全ての安全上の問題を取り扱おうとするものではない。この規格の利用者は、各自の責任において安全及び健康に対する適切な処置をとり、法令等を遵守する。

## 1 適用範囲

この規格は、べにふうき（茶農林 44 号）だけの緑茶の茶葉及びその粉末中のメチル化カテキン類のうち (-)-エピガロカテキン 3-(3"-O-メチル)ガレート（以下、EGCG3"Me という。）の測定のための高速液体クロマトグラフ法について規定する。

## 2 引用規格

次に掲げる規格は、その内容の一部又は全てが、この規格に引用されることによって、この規格の規定の一部を構成する。これらの引用規格は、最新版（追補を含む。）を適用する。

**ISO 565** Test sieves — Metal wire cloth, perforated metal plate and electroformed sheet — Nominal sizes of openings

**ISO 648** Laboratory glassware — Single-volume pipettes

注記 対応日本工業規格： **JIS R 3505** ガラス製体積計（MOD）

**ISO 1042** Laboratory glassware — One-mark volumetric flasks

注記 対応日本工業規格： **JIS R 3505** ガラス製体積計（MOD）

**ISO 3310-1** Test sieves — Technical requirements and testing — Part 1: Test sieves of metal wire cloth

注記 対応日本工業規格： **JIS Z 8801-1** 試験用ふるい—第 1 部：金属製網ふるい（MOD）

**ISO 8655-2** Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Piston pipettes

注記 対応日本工業規格： **JIS K 0970** ピストン式ピペット（MOD）

**JIS K 0124** 高速液体クロマトグラフィー通則

**JIS K 0557** 用水・排水の試験に用いる水

**JIS K 8101** エタノール（99.5）（試薬）

**JIS K 8107** エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物（試薬）

**JIS K 9005** リン酸（試薬）

**JIS K 9502** L(+)-アスコルビン酸（試薬）

**JIS P 3801** ろ紙（化学分析用）

### 3 測定原理

粉碎した茶葉の測定試料から、30℃でリン酸/エタノール混合抽出溶媒によってEGCG3"Meを抽出する。抽出物は、メンブランフィルターでろ過する。紫外可視吸光光度検出器付き高速液体クロマトグラフ（以下、HPLCという。）を用いたグラジエント溶離で、抽出物の中のEGCG3"Meを測定する。

### 4 試薬

他に規定のない限り、分析用と認められた試薬だけ使用する。

**警告** 試薬の使用に関して、法律上の規制を遵守することは、この規格の使用者の責任である。

#### 4.1 水

JIS K 0557 が規定する A3 以上の品質のもの。

#### 4.2 EGCG3"Me

純度 99%以上（HPLC）のもの。

#### 4.3 リン酸

JIS K 9005 が規定する特級又は同等以上の品質のもの。

#### 4.4 エタノール

JIS K 8101 が規定する特級又は同等以上の品質のもの。

#### 4.5 メタノール

高速液体クロマトグラフ用のもの。

#### 4.6 アセトニトリル

高速液体クロマトグラフ用のもの。

#### 4.7 アスコルビン酸

JIS K 9502 が規定する特級又は同等以上の品質のもの。

#### 4.8 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物（以下、EDTA2Naという。）

JIS K 8107 が規定する特級又は同等以上の品質のもの。

#### 4.9 やぶきた緑茶

やぶきた（茶農林 6 号）緑茶の茶葉又は粉末茶。

#### 4.10 リン酸溶液 約 2%に相当する水溶液。

水（4.1）とりん酸（4.3）とを 49 : 1（体積分率）で混合する。

#### 4.11 抽出溶媒 リン酸溶液/エタノール混合液

エタノール（4.4）とりん酸溶液（4.10）とを 1 : 1（体積分率）で混合する。

#### 4.12 希釈用溶媒 1.00 g/L EDTA 含有 1.76 g/L アスコルビン酸水溶液

水（4.1）1000 mL 当たりアスコルビン酸（4.7）1.76 g と EDTA2Na（4.8）1.00 g とを溶解する。

#### 4.13 ブランク抽出液 やぶきた緑茶抽出液

箇条 6 及び 7.1 に従って、やぶきた緑茶（4.9）から抽出液を得る。7.3 に従って、ブランク試料の抽出液のクロマトグラムを得て、EGCG3"Me のピークが検出限界以下であることを確認する。

ブランク抽出液をラベルされた褐色不活性処理済バイアル（5.8）へ入れ、冷凍保存する。使用前に冷凍庫から取り出し、室温に解凍する。ブランク抽出液の残りは捨て、再凍結しない。

**注記 1** シグナル (S) とノイズ (N) の比 (S/N 比) の値が 3 であるときの目的成分量を検出限界とすることができる。検出器出力の平均値を線で結ぶことで得られるノイズを含まないク

ロマトグラムにおける、ベースラインから EGCG3"Me のピークの頂点までのピーク高さをシグナル (S) とする (JIS K 0124 参照)。ブランク試料の抽出液のクロマトグラムでの EGCG3"Me のピークの前後 (ピーク半値幅の 20 倍の範囲) のベースラインにおける出力信号の最大値と最小値の差の振れ幅の 1/2 をノイズ (N) とする (JIS K 0124 参照)。

**注記 2** -25 °C 以下で冷凍保存されたブランク抽出液は、少なくとも 3 か月間安定した状態を保つことが確認されている。

#### 4.14 HPLC 移動相

##### 4.14.1 移動相 A 0.2% に相当するりん酸水溶液

水 (4.1) とりん酸 (4.3) とを 420 : 1 (体積分率) で混ぜる。

**注記** 適切に脱気することによって、HPLC 測定への移動相内の溶存気体の影響が小さくなる。

##### 4.14.2 移動相 B メタノール/アセトニトリル混合液

メタノール (4.5) とアセトニトリル (4.6) とを 18 : 5 (体積分率) で混ぜる。

**注記** 適切に脱気することによって、HPLC 測定への移動相内の溶存気体の影響が小さくなる。

#### 4.15 EGCG3"Me 標準原液 100 µg/mL 相当

EGCG3"Me 濃度が 100 µg/mL となるように、EGCG3"Me (4.2) 2 mg 以上を 0.01 mg の桁まで全量フラスコ (5.3) にはかりとる。

希釈用溶媒 (4.12) を加え、十分に溶解させる (例えば超音波処理)。希釈用溶媒を標線まで加えて定容する。標準原液をラベルされた褐色不活性処理済バイアル (5.8) へ入れ、冷凍保存する。

**注記 1** 溶液中の EGCG3"Me は分解しやすいため、標準原液へ EDTA を添加し、褐色不活性処理済バイアルで保存することは重要である。

**注記 2** -25 °C 以下で冷凍保存された標準原液は、少なくとも 2 か月間安定した状態を保つことが確認されている。

使用前に冷凍庫から取り出し、室温に解凍する。調製した標準原液中の実際の EGCG3"Me 濃度 (µg/mL) を算出する。

#### 4.16 標準液

##### 4.16.1 一般事項

EGCG3"Me の標準液を 5 段階以上の濃度に調製する。EGCG3"Me 濃度の最も高い標準液は、EGCG3"Me のピークに他のピークが重ならない濃度とする (7.3.2 参照)。一連の標準液は、EGCG3"Me 標準原液 (4.15) のバイアルの 1 つから調製する。使用する日に新たに溶液を調製する。標準原液の残りは捨て、再凍結しない。

**注記** EGCG3"Me がクロマトグラフの金属部分へ吸着すると考えられるので、一連の標準液にブランク抽出液 (4.13) を添加することは重要である。

##### 4.16.2 一連の標準液

全量ピペット (5.6) 又はピストン式ピペット (5.7) を用いて、EGCG3"Me 標準原液 (4.15) と希釈用溶媒 (4.12) とブランク抽出液 (4.13) とを、褐色不活性処理済バイアル (5.8) に移し、混合する。各標準液中の実際の EGCG3"Me 濃度 (µg/mL) を算出する。

**注記** 附属書 A に示す試験室間共同実験では、表 1 に示す標準液 A, B, C, D 及び E を使用した。

表 1 — 標準液 A, B, C, D 及び E の調製

標準液	EGCG3"Me 標準原液の採取量, $\mu\text{L}$	希釈用溶媒の採取量, $\mu\text{L}$	ブランク抽出液の採取量, $\mu\text{L}$	標準液の濃度, $\mu\text{g/mL}$ 相当
A	500	400	100	50.0
B	250	650	100	25.0
C	100	800	100	10.0
D	50	850	100	5.00
E	10	890	100	1.00

注記 与えられた値は、一例である。

## 5 装置及び器具

通常の実験器具及び装置のほか、特に次のものとする。

### 5.1 電子天びん

1 mg の桁の精度で量る機能を有するもの及び 0.01 mg の桁の精度で量る機能を有するもの。

### 5.2 ふるい

ISO 565 又は ISO 3310-1 が規定する公称目開き 355  $\mu\text{m}$  のもの。

### 5.3 全量フラスコ

ISO 1042 が規定するクラス A のもので、標準溶液及び試料抽出物の希釈並びに抽出のための容量範囲をカバーするもの。

### 5.4 恒温水槽

(30  $\pm$  3)  $^{\circ}\text{C}$  に温度設定が可能なもの。

### 5.5 メンブランフィルター

親水性 PTFE で、孔径が 0.45  $\mu\text{m}$  のもの。

### 5.6 全量ピペット

ISO 648 が規定するクラス A のもので、標準溶液と試料抽出物の希釈のための容量範囲をカバーするもの。

### 5.7 ピストン式ピペット

ISO 8655-2 が規定する容量可変で空気置換式 (type A) のピストン式ピペットで、標準溶液と試料抽出物の希釈のための容量範囲をカバーするもの。

### 5.8 褐色不活性処理済バイアル

褐色ガラス製の不活性処理済で容量が 2 mL のもの。蓋のセプタムは、PTFE 製又は PTFE でコーティングされたもの。希釈標準液用 (4.16.2 参照)。

## 5.9 HPLC 装置

### 5.9.1 高速液体クロマトグラフ

JIS K 0124 が規定する 2 液混合グラジエントが可能で、脱気装置、カラムオープン、オートサンプラー、UV 検出器 (272 nm) 及びデータ処理部を備えたもの。PDA 検出器を使用してもよい。

### 5.9.2 HPLC 用カラム

次の特性を持つ C18 (ODS) 逆相カラム。

— 長さ : 150 mm



- 内径 : 4.6 mm
  - 粒子径 : 5  $\mu\text{m}$
  - 12 分以内に EGCG3"Me が他の成分の影響を受けない状態で溶出するもの。7.3 に従って EGCG3"Me の保持時間を確認する。
- ガードカラムを使用する場合は、測定に用いるカラムに対応するものを使用する。

## 6 試験用試料の調製

適切な粉砕器を使用して茶葉を粉砕する。粉砕した試料又は粉末茶試料をふるい (5.2) に通す。直ちに 7.1 の操作を行う、又は試験用試料を冷凍保存する。

**注記**  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下で冷凍保存された粉砕試料は、少なくとも 1 週間安定した状態を保つことが確認されている。

冷凍保存した試験用試料を抽出 (7.1) 前に冷凍庫から取り出し、室温に解凍する。

## 7 手順

### 7.1 抽出

試験用試料 (箇条 6) 240 mg~260 mg を 1 mg の桁まで 25 mL 容の全量フラスコ (5.3) にはかりとる。抽出溶媒 (4.11) 20 mL を加え、軽く混合する。試料の入った全量フラスコを  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  に設定した恒温水槽 (5.4) に入れ、60 分間静置する。恒温水槽から全量フラスコを取り出し、室温になるまで静置する。水 (4.1) を標線まで加えて定容し、混ぜる。

混合物をろ紙でろ過する (最初のろ過した液は捨てる)。ろ過した液をメンブランフィルター (5.5) でろ過 (最初のろ液は捨てる) し、ろ液約 1.5 mL を回収する。試料抽出物を冷凍保存した場合は、希釈前に冷凍庫から取り出し、室温に解凍する。

**注記**  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下で冷凍保存された試料抽出物は、少なくとも 2 か月間安定した状態を保つことが確認されている。

### 7.2 希釈

全量フラスコ (5.3) , 全量ピペット (5.6) 又はピストン式ピペット (5.7) を用いて、試料抽出物 (7.1) を水 (4.1) で希釈する。試料抽出物と水とを 1 : 9 (体積分率) で混ぜることが望ましい。試料抽出物希釈液を褐色不活性処理済バイアル (5.8) に移す。直ちに 7.3 の操作を行う。

### 7.3 測定

#### 7.3.1 HPLC 条件の設定

メーカーの取扱説明書に従って、HPLC 装置 (5.9) をセットアップする。設定は次による。

- a) 移動相 (4.14) の流量 : 1.0 mL/min
- b) カラム (5.9.2) の設定温度 :  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$
- c) 検出波長 : 272 nm
- d) 注入量 : 10  $\mu\text{L}$
- e) 溶出条件 : 12 分間は移動相 A (4.14.1) を 77 %及び移動相 B (4.14.2) を 23 %とする。その後、移動相 B の比率を高くし、迅速に残りの成分を溶出する。次に、移動相 A を 77 %及び移動相 B を 23 %に再設定して、次の注入の前の約 10 分間、平衡化する。

**注記** 附属書 A に示す試験室間共同実験では、表 2 に示す 2 液グラジエント条件を使用した。

表 2—2 液グラジエント条件

時間 (分)	移動相 A (体積比率%)	移動相 B (体積比率%)
0~12	77	23
12~20	30	70
20~30	77	23
注記 与えられた値は、一例である。		

### 7.3.2 HPLC 測定

安定化させるために、全体のシステムを稼働させておく。設定した HPLC 条件 (7.3.1) で作動させた際、ベースラインの変動が EGCG3"Me の測定に支障がないことを確認する。一連の標準液 (4.16.2) のうち、最も濃度の高い標準液 (例えば表 1 に示す標準液 A) をカラムに注入し、得られたクロマトグラムで、EGCG3"Me の測定を妨害するピークがないことを確認する。その後、一連の標準液をそれぞれカラムに注入し、続いて試料抽出物希釈液 (7.2) を注入する。一定の間隔 (通常、5 つの試料溶液の後) を置いて、一つの濃度の標準液 (例えば表 1 に示す標準液 C) の注入を繰り返すことが望ましい。

注記 一定の間隔で注入された標準液の各ピーク面積の“最大値/最小値”の比を算出した値は、通常 11/9 以下である。

データ収集/総合システムを使用して、標準液及び測定用試料溶液全てのピークのデータを集める。

### 7.4 同定

試料溶液について、同じ HPLC 条件 (7.3.1) 下での標準液のクロマトグラムから得られた EGCG3"Me の保持時間と一致したピークを、EGCG3"Me と同定する。

注記 やぶきた緑茶及びべにふうき緑茶の典型的な HPLC クロマトグラムを附属書 B に示す。

## 8 計算

### 8.1 一般事項

EGCG3"Me の量は、ピーク面積から検量線によって分析成分の量を求める絶対検量線法を用いて算出する。JIS K 0124 に従って、標準液及び試料で同じベースラインの引き方をする。

### 8.2 定量

各標準液のためにデータ処理装置によって得られたピーク面積に対する EGCG3"Me の実際の濃度から、直線的な検量線を作成する。作成した検量線の相関係数は 0.995 以上であるものとする。

各試料溶液中の EGCG3"Me の濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) を算出する。べにふうき茶葉試料又は粉末試料中の EGCG3"Me の含有量  $w_C$  (g/kg) は、次の式によって与えられる。

$$w_C = \frac{C \times V \times d \times 1000}{m \times 1000}$$

ここに、

$C$  : 試料抽出物希釈液中の EGCG3"Me の濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$V$  : 抽出溶媒の量 (mL) , 通常 25

$d$  : 試料抽出物希釈液調製時 (7.2) の希釈倍率, 通常 10

$m$  : 測定用試料の質量 (mg)

### 8.3 結果の表現

有効数字 2 桁（例えば質量分率 16 g/kg）で結果を表示する。

## 9 精度

### 9.1 試験室間共同実験

この試験方法の精度を判断するための試験室間共同実験の詳細は**附属書 A**にまとめられる。この試験室間共同実験から得られた値は、そこで与えられた濃度範囲（11 g/kg～19 g/kg）及びマトリックス以外に適切でないこともある。

### 9.2 併行精度

同一とみなせる試料で同じ試験者が同じ装置を使って可能な限り短い時間間隔で試験して得られた 2 つの測定結果の差が、**表 A.1**に示す併行許容差 ( $r$ ) を越えるのは、規定の操作を間違いなく行っていれば平均して 20 回に 1 回以下であると期待される<sup>[1]</sup>。

### 9.3 室間再現精度

同一とみなせる試料について同じ方法を用い、異なる試験室で、異なる試験者が、異なる装置を用いて得られた測定結果の差が、**表 A.1**に示す再現許容差 ( $R$ ) を越えるのは、規定の操作を間違いなく行っていれば平均して 20 回に 1 回以下であると期待される<sup>[1]</sup>。

## 10 質管理

試験所は、試験のための内部質管理手順を持つものとする。

## 11 試験報告書

試験報告書には少なくとも次の事項を記載する。

- a) この規格の名称又は規格番号
- b) 試験試料を識別する詳細
- c) 試験年月日
- d) 試験結果

## 附属書 A (参考)

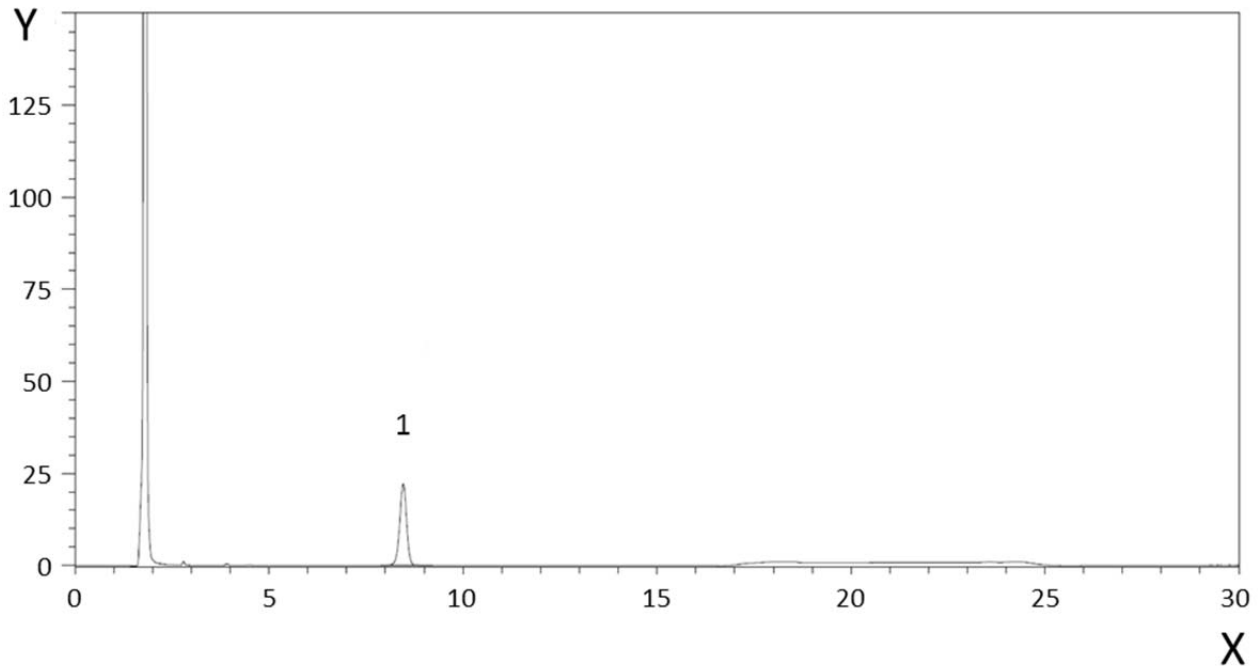
### 試験室間共同実験の結果

この試験室間共同実験は、平成 27 年に IUPAC 共同実験ガイドライン<sup>[2]</sup>に従って国内で行われ、表 A.1<sup>[3]</sup>に示す統計結果が得られた。市販のべにふうき茶葉及び粉末茶から、均質な<sup>[4]</sup>試験試料が調製された。この試験室間共同実験の主催機関である独立行政法人農林水産消費安全技術センターは、手順書及び試験試料だけでなく、既知濃度の EGCG3"Me 標準原液及びブランク抽出液も参加試験室に配付した。各参加試験室は、手順書に従って、合計 10 試験試料（5 濃度の非明示試料を各 2 点）を試験した。

表 A.1 — 試験室間共同実験の結果

試料識別	試料 1 (茶葉)	試料 2 (粉末茶)	試料 3 (粉末茶)	試料 4 (粉末茶)	試料 5 (粉末茶)
参加試験室数	10	10	10	10	10
採択された試験結果の数	10	8	10	8	10
EGCG3"Me 含有量の平均値, g/kg	10.85	10.77	13.65	15.59	18.89
併行標準偏差 $s_r$ , g/kg	0.22	0.15	0.20	0.21	0.30
併行相対標準偏差, %	2.0	1.4	1.5	1.4	1.6
併行許容差 $r$ ( $r = 2.8 s_r$ ), g/kg	0.61	0.42	0.57	0.59	0.25
室間再現標準偏差 $s_R$ , g/kg	0.62	0.17	0.54	0.25	0.76
室間再現相対標準偏差, %	5.7	1.6	4.0	1.6	4.0
室間再現許容差 $R$ ( $R = 2.8 s_R$ ), g/kg	1.7	0.47	1.5	0.71	0.21

附属書 B  
(参考)  
典型的な HPLC クロマトグラム



凡例

X 保持時間 (min)

Y レスポンス (mAU)

1 EGCG3"Me

図 B.1 — EGCG3"Me 溶液

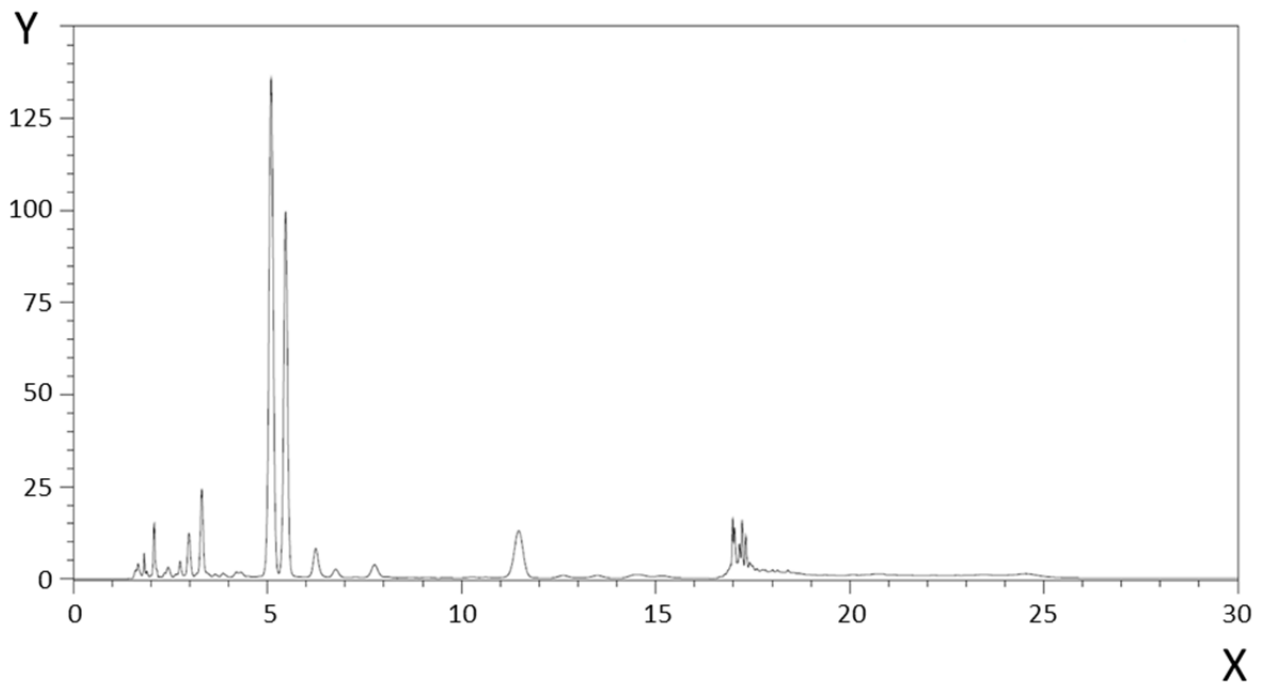
HPLC 条件

HPLC 条件は 7.3.1 によるほか、次による。

- a) カラム : Wakopak<sup>®</sup> Navi C18-5<sup>1)</sup>
- b) 2 液グラジエント条件 : 表 2

---

1) Wakopak<sup>®</sup>は、商業的に入手可能な適切な製品の一例である。この情報は、この規格の利用者の便宜のために示しており、農林水産省が、この製品を推奨するものではない。



凡例

X 保持時間 (min)

Y レスポンス (mAU)

図 B.2 — やぶきた緑茶抽出液

HPLC 条件

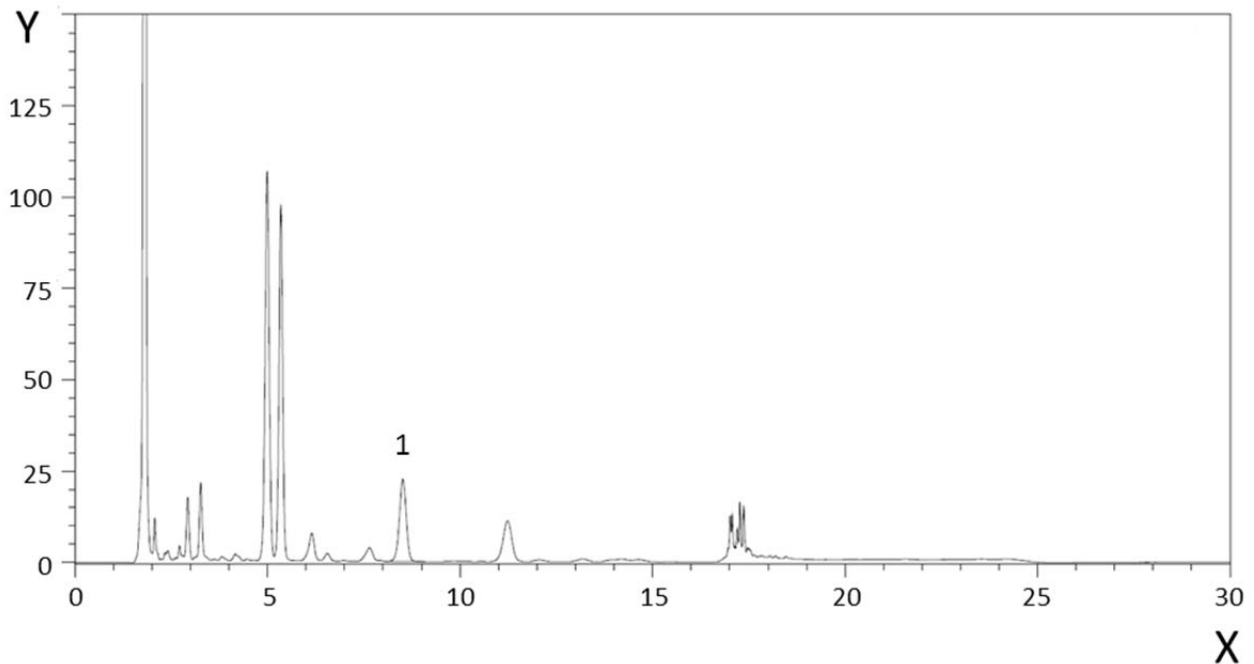
HPLC 条件は 7.3.1 によるほか、次による。

a) カラム : Wakopak<sup>®</sup> Navi C18-5<sup>2)</sup>

b) 2 液グラジエント条件 : 表 2

---

2) Wakopak<sup>®</sup>は、商業的に入手可能な適切な製品の一例である。この情報は、この規格の利用者の便宜のために示しており、農林水産省が、この製品を推奨するものではない。

**凡例**

X 保持時間 (min)

Y レスポンス (mAU)

1 EGCG3"Me

**図 B.3 — やぶきた緑茶抽出液を含む EGCG3"Me 標準液****HPLC 条件**

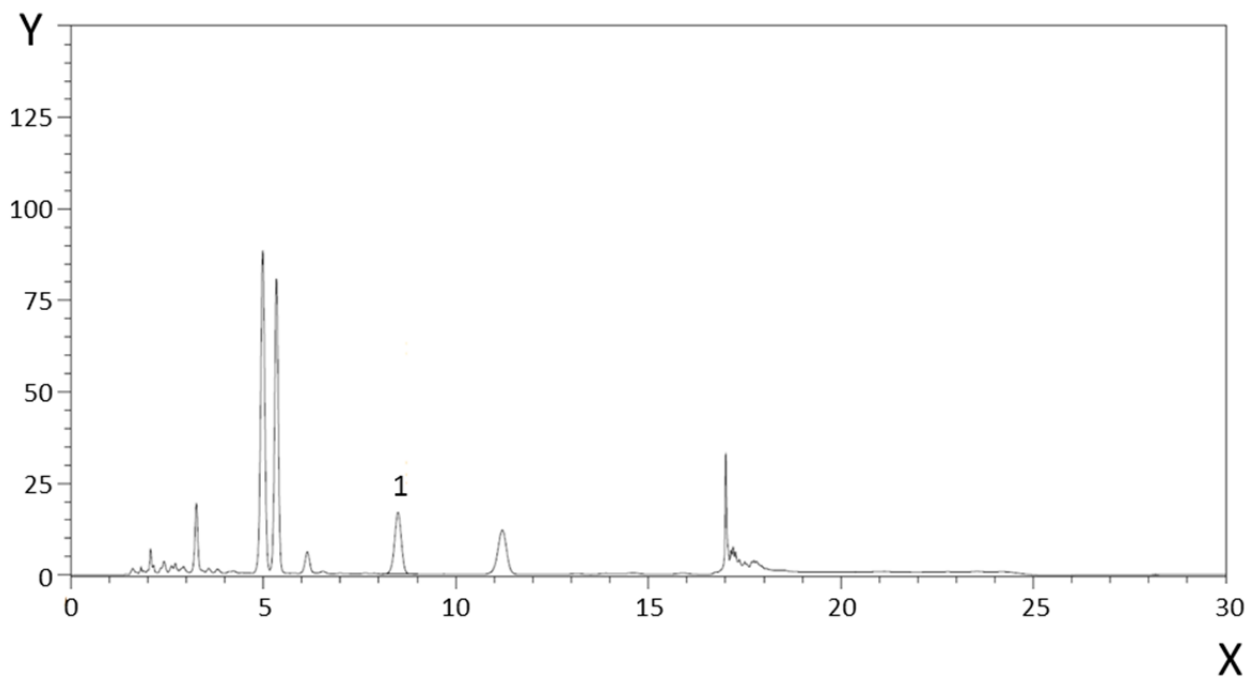
HPLC 条件は 7.3.1 によるほか、次による。

a) カラム : Wakopak<sup>®</sup> Navi C18-5<sup>3)</sup>

b) 2 液グラジエント条件 : 表 2

---

3) Wakopak<sup>®</sup>は、商業的に入手可能な適切な製品の一例である。この情報は、この規格の利用者の便宜のために示しており、農林水産省が、この製品を推奨するものではない。



凡例

X 保持時間 (min)

Y レスポンス (mAU)

1 EGCG3"Me

図 B.4 — ペにふうき緑茶抽出物希釈液

HPLC 条件

HPLC 条件は 7.3.1 によるほか、次による。

- a) カラム : Wakopak<sup>®</sup> Navi C18-5<sup>4)</sup>
- b) 2 液グラジエント条件 : 表 2

---

4) Wakopak<sup>®</sup>は、商業的に入手可能な適切な製品の一例である。この情報は、この規格の利用者の便宜のために示しており、農林水産省が、この製品を推奨するものではない。



## 参考文献

- [1] **ISO 5725** (規格群) Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results  
注記 対応日本工業規格 : **JIS Z 8402** (規格群) 測定方法及び測定結果の精確さ (真度及び精度)  
(IDT)
- [2] Horwitz, W., Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, *Pure & Appl. Chem.*, 1995, **67**(2), p. 331–343
- [3] 法邑雄司, 稗島佑介, 児玉貴志, 田中真澄, 堀江秀樹, 鈴木忠直, 安井明美, ベにふうき緑茶中のメチル化カテキン測定法の室間共同試験による妥当性確認, *日本食品科学工学会誌*, 2016, **63**(7), p. 312–318.
- [4] 内藤成弘, 塚越芳樹, データの統計的取り扱い, *食糧*, 2008, **46**, p. 27–62.