

汎用機器によるしょうが中の酢酸の定量分析

五十嵐 智大*, 中西 理紗*, 片山 貴之*

Quantitative analysis for acetic acid in ginger.

Tomihiko IGARASHI*, Risa NAKANISHI* and Takayuki KATAYAMA*

* Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

Salted ginger or ginger preserved in brine is classified differently in the Customs Tariff Schedule depending on the acetic acid content. In this study, we re-examined the quantitative analysis method for acetic acid using GC and HPLC which are already reported in the Reports of The Central Customs Laboratory. In addition, we studied the acetic acid quantitative analysis method using enzyme which is described in the international standardized methods and the post-column method which is reported in the Reports of The Central Customs Laboratory. Then we compared the quantitative values obtained by these methods including the HPLC and GC methods by their accuracy and precision and report the obtained results here.

1. 緒 言

2. 実 験

関税率表において塩蔵しょうがは、国内分類例規 0910.11, 0910.12 又は 2001.90 「1. 塩蔵 (塩水漬) しょうがの関税分類について」の規定により、酢酸の含有量が全重量の 0.5 % 以上のものは第 2001.90 号 (基本税率 12 % ; 特惠税率 9 %) に、0.5 % 未満の場合、第 0910.11 号又は第 0910.12 号 (協定税率 2.5 % - 9 %) に分類される。酢酸の含有率により税率格差が生じることから、酢酸の含有量を正確に確認する必要がある。

しょうが調製品中の酢酸の定量法については、近年、関税中央分析所報に報告されているが、分析に長時間を要する点、または測定精度が望まれる水準に達していない点など、課題を残している^{1)~5)}。また、前号では、ポストカラム法を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でのプロモチモールブルー (BTB) を用いた pH 指示薬の色変化を利用した酢酸の定量分析が報告されている⁶⁾が、ポストカラム法に必要な機器は税関に配備されていないことから、この手法を税関で統一的に実施することはできない。

本研究では、既報の HPLC 法^{3),5)}において酢酸の定量に影響するしょうが由来成分について、水蒸気蒸留⁷⁾により取り除くことを検討した。また、既報の GC 法¹⁾における機器内部への酢酸の残留を防ぐため、試料の調製法を再検討した。検討した HPLC 法、GC 法及び ISO⁸⁾、EN⁹⁾等の公定法で採用されている酵素法について、ポストカラム法と比較を行い、各手法によるしょうが中の酢酸の定量分析の精確性について検証したので報告する。

2.1 試 薬

2.1.1 標準溶液用試薬

酢酸、アクリル酸、こはく酸、1-プロパノール、メタノール、塩化ナトリウム、くえん酸一水和物 (以上、富士フイルム和光純薬 (株) 製)

酢酸水溶液 : 酢酸 15 g、塩化ナトリウム 360 g 及びくえん酸一水和物 20 g を量り取り、水で 2 kg に調製したもの

HPLC 法用及びポストカラム法用標準酢酸溶液 : 酢酸 300 mg を量り取り、水で 100 mL に定容したもの

GC 法用標準酢酸溶液 : 酢酸 300 mg を量り取り、メタノールで 100 mL に定容したもの

酵素法用標準酢酸溶液 : 酢酸 100 mg を量り取り、水で 200 mL に定容したもの

HPLC 法用内部標準液 : こはく酸 1.0 g を量り取り、水で 200 mL に定容したもの

GC 法用内部標準液 : 1-ペンタノール 300 mg を量り取り、メタノールで 200 mL に定容したもの

ポストカラム法用内部標準液 : アクリル酸 1.5 g を量り取り、水で 200 mL に定容したもの

2.1.3 HPLC 法用及びポストカラム法用試薬

りん酸、りん酸二水素カリウム、りん酸水素二ナトリウム十二水和物 (以上、富士フイルム和光純薬 (株) 製)、プロモチモールブルー (BTB) (純正化学 (株) 製) 酒石酸 (ナカライテスク (株) 製)

HPLC 法用及びポストカラム法用溶離液 : りん酸二水素カリウム 2.86 g を量り取り、リン酸 600 μ L を加え、水で 1000 mL に定

容したもの

ポストカラム法用反応液：BTB 62.4 mg 及びりん酸水素二ナトリウム十二水和物 5.37 g を量り取り，水で 1000 mL に定容したもの

2.1.4 GC 法用試薬

トリフルオロ酢酸（TFA）（富士フイルム和光純薬（株）製）

0.1 %TFA 溶液：TFA100 mg をメタノール100 mL に溶解したもの

2.1.5 酵素法用試薬

F-kit 酢酸（roche 製），ヘキサシアノ鉄（II）酸カリウム，硫酸亜鉛七水和物（以上，富士フイルム和光純薬（株）製）

Carrez 試薬 A：ヘキサシアノ鉄（II）酸カリウム 3.6 g を水 100 mL に溶解したもの

Carrez 試薬 B：硫酸亜鉛七水和物 7.2 g を水 100 mL に溶解したもの

2.2 試料

生しょうが：市販品

模擬試料：皮を剥いた生しょうが約 100 g を，酢酸水溶液約 400 mL に漬けたもの

2.3 装置及び分析条件

2.3.1 HPLC 法及びポストカラム法

装置：HPLC 「1260 Infinity II」（Agilent Technologies 社）

分離カラム：Synergi 4 μ Hydro-RP 80A, 250 \times 4.6 mm I.D., 4 μ m (Phenomenex 社製)

ガードカラム：Security Guard Cartridge C18, 4.0 \times 3.0 mm I.D. (Phenomenex 社製)

検出器：ダイオードアレイ検出器

検出波長：UV 210 nm（参照波長 VIS 600 nm）（HPLC 法）

VIS 440 nm（参照波長 VIS 560 nm）（ポストカラム法）

溶離液：30 mM りん酸カリウム緩衝溶液 pH2.6

反応液：0.1 mM BTB + 15 mM りん酸水素二ナトリウム pH8.8（ポストカラム法）

移動相流速：0.6 mL / min

反応液流速：0.6 mL / min（ポストカラム法）

注入量：20 μ L

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

2.3.2 GC 法

装置：GC 「7890B」（Agilent Technologies 社）

分離カラム：HP-INNOWax, 30 m \times 0.25 mm I.D., 膜厚 0.25 μ m (Agilent Technologies 社製)

検出器：水素炎イオン化型検出器

検出器温度：300 $^{\circ}$ C

注入量：1 μ L

注入口温度：260 $^{\circ}$ C

スプリット比：10 : 1

カラム流量：0.75 mL / min

キャリアガス：ヘリウム

カラム温度：50 $^{\circ}$ C (0.5 min) - (50 $^{\circ}$ C / min) - 100 $^{\circ}$ C - (5 $^{\circ}$ C /

min) - 150 $^{\circ}$ C

ポストラン：250 $^{\circ}$ C, 3 min

2.3.3 酵素法

紫外／可視分光計：V-660（日本分光製）

検出波長：UV 340 nm

2.4 実験

2.4.1 HPLC 法

2.4.1.1 水蒸気蒸留の留分量の検討

酢酸 1.0 g を正確に 500 mL 容 2 ロフラスコに量り取り，水 100 mL 及び塩化ナトリウム 40 g を加え，受器を 100 mL 容メスフラスコとして，マントルヒーターで加熱しながら水蒸気蒸留を行った．留分がメスフラスコの首の部分に到達するごとに，5 回まで受器を取り換えた．1 回目の留分及び 2 回目の留分については，水を加えて定容したのち，それぞれ 5 mL 及び 20 mL をホールピペットで新たな 100 mL 容メスフラスコに移し入れた．1 回目並びに 2 回目の留分の一部を採取したもの及び 3 回目から 5 回目までの留分に HPLC 法用内部標準液 10 mL をホールピペットで加え，水で定容し，測定に供した．また，HPLC 法用標準酢酸溶液 5 mL，10 mL，15 mL，20 mL 及び 25 mL をホールピペットでそれぞれ 100 mL 容メスフラスコに量り取り，HPLC 法用内部標準液 10 mL をホールピペットで加えたのち，水を加えて定容し，検量線作成用の試料として，測定に供した．

2.4.1.2 添加剤の検討

粉碎した生しょうが 10 g を正確に三角フラスコに量り取り，水 100 mL を用いて塩化ナトリウム 40 g を加えた 500 mL 容 2 ロフラスコに移し入れた．さらに，HPLC 法用標準酢酸溶液 15 mL をホールピペットで加え，受器を 500 mL 容メスフラスコとして，マントルヒーターで加熱しながら，留分がメスフラスコの首の部分に到達するまで水蒸気蒸留を行った．留分に HPLC 法用内部標準液 10 mL をホールピペットで加え，水で定容し，測定に供した．また，水蒸気蒸留前に酒石酸 1 g を 500 mL 容 2 ロフラスコに加えたものについても同様に水蒸気蒸留を行い，留分に HPLC 法用内部標準液 10 mL をホールピペットで加え，水で定容し，測定に供した．また，2.4.1.1 と同様に検量線を作成した．

2.4.1.3 蒸留容器及び加熱条件の検討

粉碎した模擬試料 10 g を正確に三角フラスコに量り取り，水 100 mL を用いて塩化ナトリウム 40 g 及び酒石酸 1 g を加えた 300 mL 容 3 ロフラスコ，500 mL 容 2 ロフラスコ及び 1000 mL 容 3 ロフラスコに移し入れた．受器を 500 mL 容メスフラスコとして，マントルヒーター及び油浴で加熱しながら，留分がメスフラスコの首の部分に到達するまで水蒸気蒸留を行った．留分に HPLC 法用内部標準液 10 mL をホールピペットで加え，水で定容し，測定に供した．また，2.4.1.1 と同様に検量線を作成した．

2.4.1.4 添加回収試験

粉碎した生しょうが 10 g を正確に三角フラスコに量り取り，水 100 mL を用いて塩化ナトリウム 40 g 及び酒石酸 1 g を加えた 2 ロフラスコもしくは 3 ロフラスコに移し入れた．HPLC 法用標準酢酸溶液 15 mL をホールピペットで加えたのち，受器を 500 mL

容メスフラスコとして、内容物を焦がさないよう注意しながら、留分がメスフラスコの首の部分に到達するまで水蒸気蒸留を行った。留分にHPLC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加え、水で定容し、測定に供した。また、2.4.1.1と同様に検量線を作成した。

2.4.1.5 ポストカラム法と比較するための模擬試料の分析

粉碎した模擬試料10 gを正確に三角フラスコに量り取り、水100 mLを用いて塩化ナトリウム40 g及び酒石酸1 gを加えた2口フラスコもしくは3口フラスコに移し入れ、受器を500 mL容メスフラスコとして、内容物を焦がさないよう注意しながら、留分がメスフラスコの首の部分に到達するまで水蒸気蒸留を行った。留分にHPLC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加え、水で定容し、測定に供した。また、2.4.1.1と同様に検量線を作成した。

2.4.2 GC法

2.4.2.1 測定溶液調製方法の検討

粉碎した生しょうが10 gを正確に50 mL容メスフラスコに量り取った。これに、GC法用標準酢酸溶液15 mL及びGC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加え、メタノールで定容した。これをポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、測定に供した。また、定容前に、0.1 %TFA溶液1 mLを添加したのちに定容し、事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し、ポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものも作成し、測定に供した。また、それぞれの試料を測定した直後にメタノールを測定した。

2.4.2.2 添加回収試験

粉碎した生しょうが10 gを正確に50 mL容メスフラスコに量り取った。これに、GC法用標準酢酸溶液15 mL及びGC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、0.1 %TFA溶液1 mLを加えたのち、メタノールで定容し、事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し、ポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを、測定に供した。また、GC法用標準酢酸溶液5 mL、10 mL、15 mL、20 mL及び25 mLをホールピペットでそれぞれ50 mL容メスフラスコに量り取り、GC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、0.1 %TFA溶液1 mLを加え、メタノールで定容し、事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し、ポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを、検量線作成用の試料として、測定に供した。

2.4.2.3 ポストカラム法と比較するための模擬試料の分析

粉碎した模擬試料10 gを正確に50 mL容メスフラスコに量り取った。これに、GC法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、0.1 %TFA溶液1 mLを加えたのち、メタノールで定容し、事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し、ポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを、測定に供した。また、2.4.2.2と同様に検量線を作成した。

2.4.3 酵素法

2.4.3.1 添加回収試験

粉碎した生しょうが1.5 gを正確に100 mL容メスフラスコに量り取った。酵素法用標準酢酸溶液15 mLをホールピペットで加え

たのち、Carrez試薬A及びBをそれぞれ10 mL加え、加えるごとに攪拌した。これに0.1 N NaOH水溶液を10 mL加えたのち、水を加えて定容した。この溶液の上澄みを採取し、測定に供した。測定方法はF-Kit酢酸のプロトコルに従い、反応時間中は30 $^{\circ}\text{C}$ に設定した自然対流式乾燥機に保管し、セルが室温に戻った後に紫外光吸収を測定した。また、酵素法用標準酢酸溶液5 mL、10 mL、15 mL、20 mL及び25 mLをホールピペットでそれぞれ100 mL容のメスフラスコに量り取り、水を加えて定容した。この溶液の上澄みを採取し、検量線作成用の試料として、同様に測定に供した。

2.4.3.2 ポストカラム法と比較するための模擬試料の分析

粉碎した模擬試料1.5 gを正確に100 mL容メスフラスコに量り取った。Carrez試薬A及びBをそれぞれ10 mL加え、加えるごとに攪拌した。これに0.1 N NaOH水溶液を10 mL加えたのち、水を加えて定容した。この溶液の上澄みを採取し、測定に供した。測定方法はF-Kit酢酸のプロトコルに従い、反応時間中は30 $^{\circ}\text{C}$ に設定した自然対流式乾燥機に保管し、セルが室温に戻った後に紫外光吸収を測定した。また、2.4.3.1と同様に検量線を作成した。

2.4.4 ポストカラム法

2.4.4.1 添加回収試験

粉碎した生しょうが10 gを正確に100 mL容メスフラスコに量り取り、ポストカラム法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、水を加えて定容し、ブランク試料とした。また、定容前にポストカラム法用標準酢酸溶液15 mLをホールピペットで加えたものも作成し、添加回収試験用試料とした。いずれもポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、測定に供した。また、ポストカラム法用標準酢酸溶液5 mL、10 mL、15 mL、20 mL及び25 mLをホールピペットでそれぞれ100 mL容メスフラスコに量り取り、ポストカラム法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、水を加えて定容し、検量線作成用の試料として、測定に供した。

2.4.4.2 HPLC法、GC法及び酵素法と比較するための模擬試料の分析

粉碎した模擬試料10 gを正確に100 mL容メスフラスコに量り取り、ポストカラム法用内部標準液10 mLをホールピペットで加えたのち、水を加えて定容した。これをポアサイズ0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、測定に供した。また、2.4.4.1と同様に検量線を作成した。

3. 結果及び考察

3.1 HPLC法の検討

3.1.1 水蒸気蒸留における留分の検討

2.4.1.1に従って、酢酸を水蒸気蒸留し、その留分ごとの酢酸回収率を確認した結果をTable 1に示す。

400 mL - 500 mL留分における回収率が0.3%であり、500 mLまでで99.9%を回収できたことから、留分量として500 mLを採用した。

3.1.2 水蒸気蒸留における添加剤の検討

2.4.1.1に従って、酢酸を水蒸気蒸留し、その留分ごとの酢酸回

収率を合計したもの及び 2.4.1.2 に従って、標準酢酸溶液を添加したしょうが（以下、疑似試料という）を水蒸気蒸留した酢酸の回収率を Table 2 に示す。

疑似試料をそのまま水蒸気蒸留した場合には、留分中に酢酸が検出できなかったが、疑似試料に対して酒石酸を添加し蒸留することで、酢酸を定量的に回収可能であった。これは、疑似試料溶液中では酢酸 ($\text{pK}_a = 4.756^{10)}$ が解離して揮発しなくなっており、酢酸よりも強い酸である酒石酸 ($\text{pK}_{a1} = 3.036^{10)}$ を加えることで解離が抑えられることによるものと考えられる (Scheme 1)。

3.1.3 水蒸気蒸留における蒸留容器及び加熱条件の検討

2.4.1.3 に従って、模擬試料を水蒸気蒸留したところ、1000 mL 容 3 ロフラスコを用いた際に、内容物が焦げてしまう場合があり、酢酸やこはく酸のピークに干渉するような夾雑ピークが現れた。内容物が焦げなかった場合のクロマトグラムを Fig. 1、内容物が焦げてしまった場合のクロマトグラムを Fig. 2 及び Fig. 3 に示す。これは、大きな容器を用いたことで液面が低くなり、液面よりも高い部分がマントルヒーターによって過熱されたことによるものと考えられる。

また、模擬試料を水蒸気蒸留した場合の酢酸の定量結果を Table 3 に示す。500 mL 容 2 ロフラスコをマントルヒーターで加熱し水蒸気蒸留を行った場合の結果を基準として、蒸留容器を変えた場合の結果及び加熱方法を変えた場合の結果と t 検定を実施したところ、いずれも $p > 0.05$ となり、信頼区間 95 % で有意差は認められなかった。

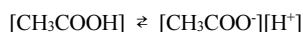
Table 1 Recovery rate of acetic acid with steam distillation of acetic acid solutions.

Fraction	Volume (mL)	Recovery rate (%)	Total recovery rate (%)
1st	100	85.9	85.9
2nd	100	11.0	96.9
3rd	100	2.2	99.1
4th	100	0.5	99.6
5th	100	0.3	99.9

Table 2 Recovery rate of acetic acid with steam distillation of ginger solutions.

sample	additive	Recovery rate (%)
AcOH*	NaCl only	99.9
ginger with AcOH	NaCl only	not detected
ginger with AcOH	NaCl + tartaric acid	108.1

* this data is identical to total recovery rate of 500 mL from Table 1



Scheme 1 Chemical equation of acetic acid and acetate ion.

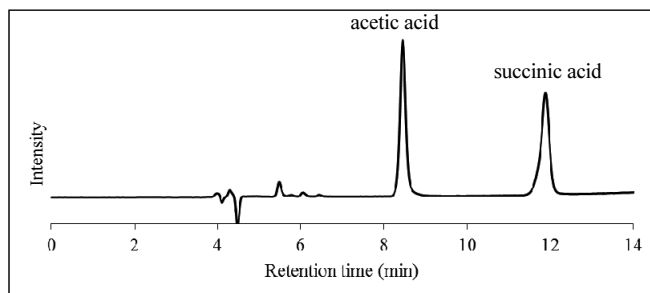


Fig. 1 Liquid chromatogram of a distilled solution of spiked ginger without scorching. Succinic acid is added as an internal standard.

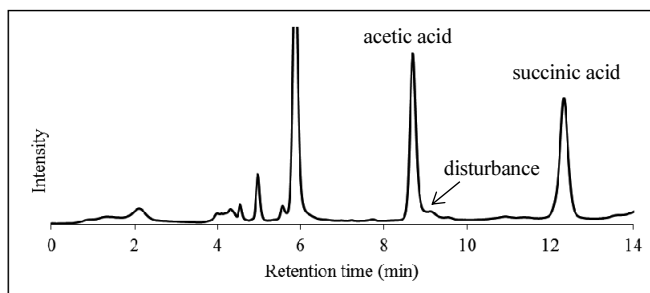


Fig. 2 Liquid chromatogram of a distilled solution of spiked ginger with scorching occurring and interfering with the peak of acetic acid. Succinic acid is added as an internal standard.

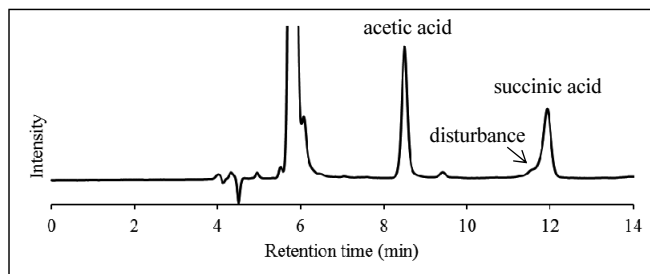


Fig. 3 Liquid chromatogram of a distilled solution of spiked ginger with scorching occurring interfering with the peak of succinic acid. Succinic acid is added as an internal standard.

Table 3 Results of the investigation of distilling devices

Volume of distilling flask (mL)	Heating device	Acetic acid (%) (n=3)	RSD (%)	p-value
500	muntle heater	0.681	0.22	- *
300	muntle heater	0.681	1.11	0.971
1000	muntle heater	0.677	1.13	0.437
500	oil bath	0.664	2.71	0.181
500	burner	0.671	0.81	0.067

* regarded as standard

3.2 GC 法の検討

2.4.2.1 に従って調製した疑似試料溶液について、イオン交換樹脂処理を行わなかった場合のクロマトグラム及び直後に測定したメタノールのクロマトグラムを Fig. 4 に、TFA を添加し、イオン交換樹脂処理を行った場合のクロマトグラム及び直後に測定したメタノールのクロマトグラムを Fig. 5 に示す。

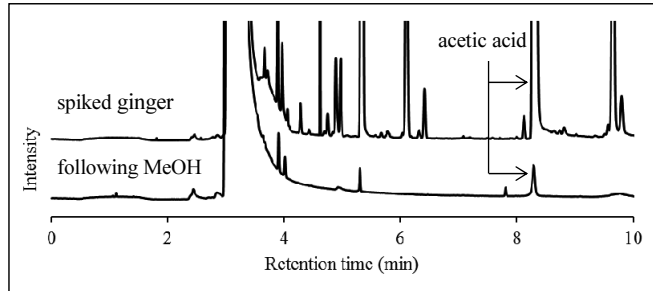


Fig. 4 Gas chromatogram of spiked ginger without any treatment and following methanol.

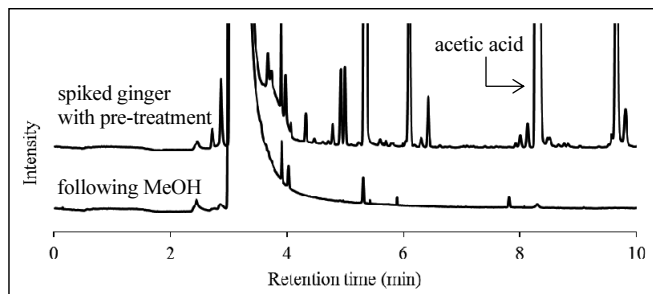


Fig. 5 Gas chromatogram of spiked ginger treated with an ion-exchange filter and following methanol.

前処理を実施しなかった疑似試料溶液では、溶液中の酢酸が機器内に残留し、次回測定時に検出されている。一方、TFA を添加し、イオン交換樹脂で処理した疑似試料溶液では、次回測定時に酢酸が検出されず、機器内部への酢酸の残留は認められなかった。これは、水蒸気蒸留の際と同様に、疑似試料溶液中では酢酸の一部が解離して揮発しなくなったため注入口に残留し、続いて注入されたメタノールにより新たに Scheme1 の平衡により分子状になり揮発することで、酢酸が検出されていたところ、TFA 添加、イオン交換樹脂処理により、疑似試料溶液中での酢酸の解離を防ぐことによって、注入口での残留を防ぐことができたと考えられる。

3.3 各分析法における酢酸回収率の確認

2.4.1.4, 2.4.2.2, 2.4.3.1 及び 2.4.4.1 に従い酢酸の添加回収試験を実施した結果を Table 4 に示す。

いずれの分析法においても、100 %に近い回収率で酢酸を回収することができた。これを統計的に確認するため、母平均回収率を 100 %として、各分析法の結果との t 検定を実施したところ、いずれも $p > 0.05$ となり、信頼区間 95 %で有意差は認められなかった。

3.4 各分析法における模擬試料の酢酸定量結果の比較

2.4.1.5, 2.4.2.3, 2.4.3.2 及び 2.4.4.2 に従い、模擬試料の酢酸含有量を定量した結果を Table 5 に示す。

HPLC 法、GC 法及び酵素法は、いずれもポストカラム法と遜色ない定量値が得られた。これらの結果がポストカラム法と等しい結果であるか確認するため、ポストカラム法の結果と各分析法の結果の間で t 検定を実施したところ、いずれも $p > 0.05$ となり、信頼区間 95 %で有意差は認められず、各分析法の結果はポストカラム法と等しいと確認できた。

Table 4 Results of the recovery rate of acetic acid from spiked ginger.

spiked sample (n=3)	Post-column method			HPLC method			GC method			Enzymatic method		
	recovery rate (%)	RSD (%)	p-value*	recovery rate (%)	RSD (%)	p-value*	recovery rate (%)	RSD (%)	p-value*	recovery rate (%)	RSD (%)	p-value*
No.1	100.6	2.92	0.683	100.3	0.82	0.490	100.2	0.39	0.318	100.0	0.96	0.916
No.2	100.5	1.41	0.487	100.4	3.30	0.824	100.1	0.37	0.624	100.6	2.02	0.564
No.3	100.1	0.40	0.717	101.3	2.82	0.368	100.1	0.23	0.308	100.3	3.27	0.824

* comparison to 100% recovery rate

Table 5 Results of the quantitative analysis of acetic acid in pseudo samples.

pseudo sample (n=3)	Post-column method		HPLC method			GC method			Enzymatic method		
	acetic acid (%)	RSD (%)	acetic acid (%)	RSD (%)	p-value*	acetic acid (%)	RSD (%)	p-value*	acetic acid (%)	RSD (%)	p-value*
No.1	0.670	0.30	0.668	1.75	0.739	0.677	1.50	0.356	0.677	1.50	0.356
No.2	0.693	0.78	0.686	2.17	0.504	0.687	0.13	0.184	0.708	1.73	0.154
No.3	0.660	0.69	0.666	1.11	0.266	0.669	0.60	0.056	0.665	1.18	0.410

* comparison to Post-column method

4. 要 約

HPLC 法による正確な酢酸の定量法を再検討し、水蒸気蒸留により、酢酸の定量に影響するしょうが成分が除かれることが確認できた。また、GC 法による正確な酢酸の定量法を再検討し、酢酸の定量に影響する機器内部への酢酸の残留を防げることが確認できた。

これらの結果をもとに、ポストカラム法、HPLC 法、GC 法及び

酵素法についてしょうがにおける酢酸の添加回収試験を実施したところ、いずれの方法においても酢酸の回収率が 100 %に近いことが確認できた。

また、各分析法により模擬試料の酢酸の定量を行い、HPLC 法、GC 法及び酵素法において得られた定量値は、ポストカラム法において得られた定量値と有意差がないことが確認できた。

これらの結果から、今回実施した各分析法により、高精度の酢酸の定量が可能となった。

文 献

- 1) 斎藤義和，河嶋優美，松本啓嗣，山崎幸彦：関税中央分析所報, **51**, 17(2011).
- 2) 斎藤義和，河嶋優美，松本啓嗣，赤崎哲也：関税中央分析所報, **52**, 55(2012).
- 3) 鐵岡浩平，中野匡，廣瀬達也，甲田正人：関税中央分析所報, **52**, 25(2012).
- 4) 北島章光，松本啓嗣，河嶋優美，赤崎哲也，刈嘉寿：関税中央分析所報, **52**, 37(2012).
- 5) 斎藤義和，杉島紋子，大田朋楓，赤崎哲也：関税中央分析所報, **53**, 51(2013).
- 6) 竹元賢治，五十嵐智大，片山貴之：関税中央分析所報, **58**, 13(2019).
- 7) 日本食品分析センター編：“分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説”：P.242(2001)，（中央法規）
- 8) ISO 11213, Modified Starch – Determination of acetyl content – Enzymatic method
- 9) EN 12632, Fruit and vegetable juices – Enzymatic determination of acetic acid (acetate) content
- 10) 日本化学会編：“化学便覧基礎編 II”：P.1056(1966)，（丸善）