

技術レポート**5 飼料及び愛玩動物用飼料中の砒素, カドミウム, 鉛及び水銀の迅速・多元素同時定量法の開発**田端 麻里^{*1}, 野村 昌代^{*1}, 鈴木 知華^{*2}**Development of the Rapid Simultaneous Determination Method of Arsenic, Cadmium, Lead and Mercury in Feed and Pet Food by ICP-MS**Mari TABATA^{*1}, Masayo NOMURA^{*1} and Chika SUZUKI^{*2}

(^{*1} Fertilizer and Feed inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC),
^{*2} Sendai Regional Center, FAMIC)

We have developed a rapid simultaneous quantitative determination method of the concentration of arsenic, cadmium, lead and mercury in feed and pet food using an inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS).

Having added 5 mL of nitric acid, 2 mL of hydrogen peroxide and 0.4 mL of gold-lutetium mixed solution to the samples, they were digested by a microwave digestion system at 1400W for 40 minutes. Having further added rhodium and rhenium as inner standard elements to the digested samples, arsenic, cadmium, lead and mercury were quantified by ICP-MS.

Recovery tests were conducted on fish meal, poultry by-product meal and rice straw. Fish meal was added with 15 mg/kg of arsenic, 3 mg/kg of cadmium, 7 mg/kg of lead, and 1 mg/kg of mercury. Poultry by-product meal was added with 7 mg/kg of arsenic, 3 mg/kg of cadmium, 7 mg/kg of lead, and 1 mg/kg of mercury. Rice straw was added with 7 mg/kg of arsenic, 1 mg/kg of cadmium, 3 mg/kg of lead, and 0.4 mg/kg of mercury. The resulting mean recoveries ranged from 98.8 % to 107 % for arsenic, 98.7 % to 105 % for cadmium, 93.1 % to 96.7 % for lead, and 89.5 % to 92.4 % for mercury. The repeatability in the form of the relative standard deviations (RSD_r) was less than 2.4 % for arsenic, less than 3.6% for cadmium, less than 2.1 % for lead, and less than 3.3 % for mercury.

Key words: arsenic; cadmium; lead; mercury; inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS); feed; pet food

キーワード：砒素；カドミウム；鉛；水銀；誘導結合プラズマ質量分析計；飼料；愛玩動物用飼料

1 緒 言

飼料及び愛玩動物用飼料中の有害重金属等（カドミウム, 水銀, 鉛及び砒素）については, 飼料の有害物質の指導基準及び管理基準¹⁾並びに愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令²⁾において基準値が定められており, カドミウムは配合飼料, 乾牧草等で 1 mg/kg, 魚粉, 肉粉及び肉骨粉で 3 mg/kg, 愛玩動物用飼料で 1 µg/g, 水銀は配合飼料, 乾牧草等で 0.4 mg/kg, 魚粉, 肉粉及び肉骨

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

^{*2} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部, 現 仙台センター

粉で 1 mg/kg, 鉛は配合飼料, 乾牧草等で 3 mg/kg, 魚粉, 肉粉及び肉骨粉で 7 mg/kg, 愛玩動物用飼料で 3 µg/g, 砒素は配合飼料, 乾牧草等(稲わらを除く.) で 2 mg/kg, 稲わらで 7 mg/kg, 魚粉で 15 mg/kg, 肉粉及び肉骨粉で 7 mg/kg, 愛玩動物用飼料で 15 µg/g である. 定量法としては, 試料の灰化(水銀及び砒素を除く.) の後, 酸による湿式分解を行い, 水銀については還元気化水銀測定装置により測定, カドミウム, 鉛及び砒素については原子吸光光度計により測定する方法が飼料分析基準³⁾及び愛玩動物用飼料等の検査法⁴⁾に記載されている. これらの分析法は, 前処理に時間を要し, 測定も元素ごとに個別に行う必要があるため迅速性に欠ける.

近年, 食品検査等の分野では, マイクロ波分解装置を用いた前処理時間の短縮化, 誘導結合プラズマ質量分析計(以下「ICP-MS」という.) による多元素同時分析が実用化されている. そこで, 今回, 肥料等試験法⁵⁾(以下「肥料試験法」という.) 及び AOAC Official Method 2015.01⁶⁾(以下「AOAC 法」という.) を基に, 飼料及び愛玩動物用飼料中の有害重金属等の ICP-MS による迅速・多元素同時定量法を開発し, 飼料分析基準及び愛玩動物用飼料等の検査法への適用の可否を検討したので, その概要を報告する.

2 実験方法

2.1 試料

1) 飼料及び愛玩動物用飼料

魚粉, チキンミール, アルファルファ乾草, 稲わら, 愛玩動物用飼料(ドライ製品(犬用), ウェット製品(犬用), 成形ジャーキー(犬用), 素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用))は 1 mm 以下になるまで粉砕した. なお, ジャーキーで有姿のままでは粉砕が困難な試料は, はさみ等を用いて裁断したのち粉砕した. 愛玩動物用飼料(ウェット製品(犬用))はフードプロセッサで粉砕した. 粒度が 1 mm 以下であった粉ミルク(犬用)はそのまま使用した.

なお, 検討に用いた愛玩動物用飼料の原材料を Table 1 に示した.

2) 認証標準物質

認証標準物質として, BCR-627 (IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, EU) 供給, マグロミール) を使用した.

Table 1 Ingredients list of the pet foods used in this study

Pet food types	Ingredients
Dry food for dogs	Grains (corn, wheat flour, bread crumbs, corn gluten meal, brown rice), meats (chicken meal, minced chicken meats, chicken extracts), fishes (fish meal, dried minnows), animal fat, beans (soybean, soybean extracts), vegetables (beet pulp, carrot powdery, spinach powdery), beer yeast, cheese, oligosaccharide, minerals (Ca, Cl, Cu, I, K, Na, Zn), sorbitol, glyceline, vitamins (V. A, V. B ₁ , V. B ₂ , V. B ₅ , V. B ₁₂ , V. D, V. E, V. K, choline, pantothenic acid), glucosamine hydrochloride, preservative (potassium), fumaric acid, coloring (titanium dioxide, food red no.106, food yellow no.4, food yellow no.5, food blue no.1), antioxidants (sodium erythorbate, mixed tocopherol, herbal extracts), chondroitin sulfate
Wet food for dogs	Meats (beef, chicken, mutton), wheat flour, carrot, green pea, potato, oligosaccharide, tomato paste, seasoning, minerals, polysaccharide thickener, coloring (titanium dioxide, iron sesquioxide), emulsifier, vitamins, antioxidant (EDTA-Ca·Na), glucosamine, color former (sodium nitrite)
Formed jerky for dogs	Wheat flour, meats (chicken, beef, chicken white meat), cheese, sugar, gelatin, glyceline, propylene glycol, coloring (oxidized titanium, food yellow no.4, food red no.106), sorbitol, preservative (potassium sorbate), mineral (Na), pH adjuster, swelling agent, flavour, antioxidant (sodium erythorbate)
Dried jerky for dogs (hard type)	Deer meat
Milk powder for dogs	Milks (non-fat dry milk, casein), oils and fats (vegetable oil, animal fat, γ -linolenic acid), egg yolk powder, soybean protein, oligosaccharide, L-carnitine, minerals (Ca, P, K, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, I, Co), emulsifier, vitamins (V. A, V. B ₁ , V. B ₂ , V. B ₆ , V. B ₁₂ , V. D, V. E, V. K, nicotinic acid, pantothenic acid, folic acid, choline), flavour, taurine

2.2 試 薬

- 1) 塩酸及び硝酸は Ultrapur-100 (関東化学製) を用いた。過酸化水素は原子吸光分析用 (富士フイルム和光純薬製) を用いた。L-システイン酸は和光特級 (富士フイルム和光純薬製) を用いた。水は Milli-Q Integral 5 (Merck Millipore 製) により精製した超純水 (JIS K0211 の 5218 に定義された超純水) を用いた。
- 2) 希釈溶媒 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ L-システイン酸含有塩酸-硝酸-水 (1+2+37))
L-システイン酸 8 mg に水 740 mL, 塩酸 20 mL 及び硝酸 40 mL を加えて 800 mL とした。
- 3) 標準原液
砒素, カドミウム, 金, 鉛, ルテチウム, 水銀, レニウム及びロジウムの標準原液は, Table 2 に示した供給業者, 規格のものをを用いた。

Table 2 Standards used in this study

	Guaranteed value ($\mu\text{g/mL}$)	Manufacturers	Specification
Arsenic standard solution	99.4	Fujifilm Wako Pure Chemical	JCSS
Cadmium standard solution	100.2	Fujifilm Wako Pure Chemical	JCSS
Gold standard solution	1004	Kanto Chemical	for Atomic absorption spectrochemical analysis
Lead standard solution	100.3	Fujifilm Wako Pure Chemical	JCSS
Lutetium standard solution	1003	Kanto Chemical	for Atomic absorption spectrochemical analysis
Mercury standard solution	100.3	Fujifilm Wako Pure Chemical	JCSS
Rhenium standard solution	1005.1	ACROS ORGANICS	for Atomic absorption spectrochemical analysis
Rhodium standard solution	1007	Kanto Chemical	for Atomic absorption spectrochemical analysis

4) 重金属等混合標準原液

砒素，カドミウム，鉛及び水銀標準原液 1 mL を 20 mL 全量フラスコに正確に入れて混合し，更に標線まで希釈溶媒を加えて重金属等混合標準原液を調製した（この液 1 mL は，各重金属等としてそれぞれ 5 μg を含有する．）。

5) 混合内標準液

レニウム及びロジウム標準原液各 100 μL を 20 mL の全量フラスコに入れて混合し，更に標線まで硝酸（1+19）を加えて混合内標準原液を調製した（この液 1 mL は，各重金属等としてそれぞれ 5 μg を含有する．）。更に混合内標準原液 1 mL を 50 mL の全量フラスコに入れ，標線まで硝酸（1+19）を加えて混合内標準液を調製した（この液 1 mL は，各重金属等としてそれぞれ 100 ng を含有する．）。

6) 金-ルテチウム混合液

金及びルテチウム標準原液各 1 mL を 10 mL の全量フラスコに入れて混合し，更に標線まで硝酸（1+19）を加えて金-ルテチウム混合液を調製した（この液 1 mL は，各重金属等としてそれぞれ 100 μg を含有する．）。

7) 重金属等混合標準液

重金属等混合標準原液，混合内標準液及び金-ルテチウム混合液の一定量を希釈溶媒で正確に希釈し，1 mL 中に各重金属等として 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80 及び 100 ng，各内標準として 1 ng，金及びルテチウムとして 200 ng を含有する重金属等混合標準液を調製した。

同時に重金属等混合標準原液を加えずに同様に操作し，濃度 0 ng/mL の重金属等混合標準液を調製した。

2.3 装置及び器具

1) 粉砕機：

粉砕機 1（粉砕機 2 及び 3 以外の試料用）：ZM 200 Retsch 製（1 mm スクリーン，使用時回転数 14000 rpm）

粉砕機 2（稲わら用）：SM 100 Retsch 製（1 mm スクリーン，回転数（仕様）1690 rpm）

粉砕機 3（ジャーキー用）：GM 200 Retsch 製（使用時回転数 10000 rpm）

2) マイクロ波分解装置：Multiwave 3000 Anton-Paar 製

3) ポリロート：ケニス製（口径 30 mm）

4) スポイト：エコノスポイト 2 mL サンプラテック製

5) 遠心沈殿管 : 50 mL Super clear Labcon 製

6) ICP-MS :

オートサンプラー部 : ASX-560 Teledyne Technologies 製

誘導結合プラズマ質量分析計部 : iCAP RQ ICP-MS Thermo Fisher Scientific 製

2.4 定量方法

1) 抽出

分析試料 0.5 g を正確に量ってテフロン TFM 製の高压分解容器に入れ, 硝酸 5 mL, 過酸化水素 2 mL 及び金-ルテチウム混合液 0.4 mL を加え, 発泡がおさまった後マイクロ波分解装置を用いて Table 3 の分解プログラムによって分解した. 放冷後, 分解液を 20 mL の全量フラスコに水で移し込み, 更に全量フラスコの標線まで水を加えた. この液の全量を 50 mL の遠心沈殿管に入れ, 1700×g で 5 分間遠心分離した. 上澄み液 1 mL 及び混合内標準液 0.1 mL を 10 mL の全量フラスコに正確に入れ, 希釈溶媒を全量フラスコの標線まで加え, ICP-MS による測定に供する試料溶液とした.

同時に試料を用いないで同一操作を行い, 空試験溶液を調製した.

Table 3 Operating conditions of microwave digestion equipment

Process	Electric power (W)	Time (min)
step 1 (Heating)	0→1400	10
step 2 (Fixed electric power)	1400	40
step 3 (Cool)	0	30

2) ICP-MS による測定

試料溶液及び各重金属等混合標準液を ICP-MS に導入し, 各モニターイオンにおけるイオンカウント値を得た. 測定条件を Table 4 に示した.

Table 4 Operating conditions of ICP-MS

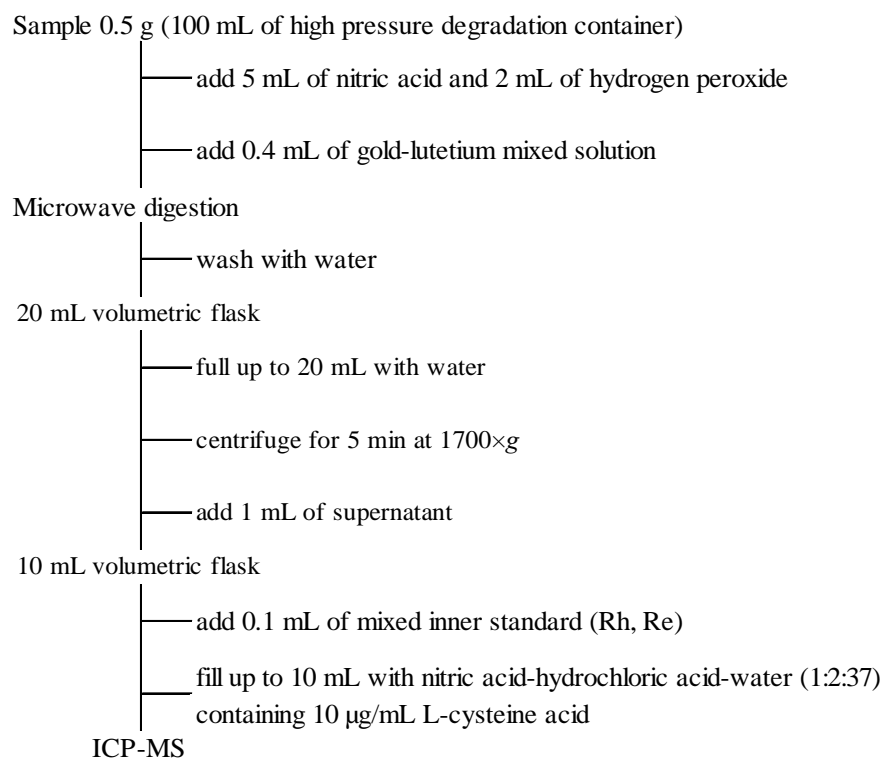
Nebulizer gas	Ar (1.08 L/min)
Plasma gas	Ar (14.0 L/min)
Auxiliary gas	Ar (0.80 L/min)
Collision gas	He (4.34 L/min)
High-frequency output	1550 W
Monitor ion	^{114}Cd , ^{202}Hg , ^{208}Pb , ^{75}As , ^{103}Rh , ^{187}Re

3) 計算

得られたイオンカウント値から砒素及びカドミウムはロジウムで, 鉛及び水銀はレニウムで内標準補正し, 試料中の砒素, カドミウム, 鉛及び水銀量を算出した.

空試験溶液について, 正の値が得られた場合は結果を差し引いた.

なお, 定量法の概要を Scheme 1 に示した.



Scheme 1 Analytical procedure for arsenic, cadmium, lead and mercury in feed and pet food

2.5 添加回収試験

2.2 の 4) の重金属等混合標準原液を希釈溶媒で正確に希釈し添加に用いた。

魚粉について、砒素として 15 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 37.5 ng/mL），カドミウムとして 3 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 7.5 ng/mL），鉛として 7 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 17.5 ng/mL）及び水銀として 1 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 2.5 ng/mL），チキンミールについて、砒素として 7 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 17.5 ng/mL），カドミウムとして 3 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 7.5 ng/mL），鉛として 7 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 17.5 ng/mL）及び水銀として 1 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 2.5 ng/mL）並びに稲わらについて、砒素として 7 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 17.5 ng/mL），カドミウムとして 1 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 2.5 ng/mL），鉛として 3 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 7.5 ng/mL）及び水銀として 0.4 mg/kg 相当量（最終試料溶液中 1 ng/mL）になるようにそれぞれ添加後よく混合し、一夜静置した後に本法に従って添加回収試験を実施し、平均回収率及び繰返し精度を求めた。なお、回収率は各試料のブランク値を差し引いて算出した。

3 結果及び考察

3.1 検量線の検討

肥料試験法を参考に調製した 0.05~100 ng/mL 各重金属等混合標準液（各内標準として 1 ng/mL を含有する）を ICP-MS に導入し、得られたイオンカウント値から内標準法により検量線を作成した。肥料試験法では、標準液を硝酸（1+19）で希釈しているが、水銀は ICP-MS で測定していない。標準液を硝酸（1+19）で希釈したところ、水銀の検量線は直線性を示さず、全体的にばらつきが認められたため、水銀の肥料試験法で使用している L-システイン酸を加えることとし、

10 µg/mL L-システイン酸含有硝酸 (1+19) で希釈した。得られた検量線の一例は Fig 1-1 のとおり、水銀の高濃度側のばらつきは改善したが、水銀として、0.05~100 ng/mL の範囲で検量線が直線性を示さなかった。また、水銀はメモリー効果の影響が大きく、100 ng/mL 標準液を測定した直後に測定した硝酸 (1+19) は、1 ng/mL 標準液と同程度のイオンカウント値となった。

そこで、メモリー効果を軽減するため、各重金属等の濃度を 10 ng/mL までとし、AOAC 法を参考に 200 ng/mL となるように金-ルテチウム混合液を加えた後、塩酸を追加した希釈溶媒で重金属等混合標準液を 2.2 の 7)により調製した。その結果、0.05~10 ng/mL の範囲で直線性を示したが、鉛の低濃度範囲 (0.05~1 ng/mL) では相関係数が 0.995 を下回ることがあり、経時変化及び容器等使用器具からの鉛の溶出等の可能性が示唆されたため、鉛については検量線の範囲を 1~10 ng/mL とすることとした。得られた検量線の一例を Fig 1-2 に示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、各重金属等を 0.02~4 mg/kg (鉛は 0.4~4 mg/kg) 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各重金属等濃度範囲に相当する。

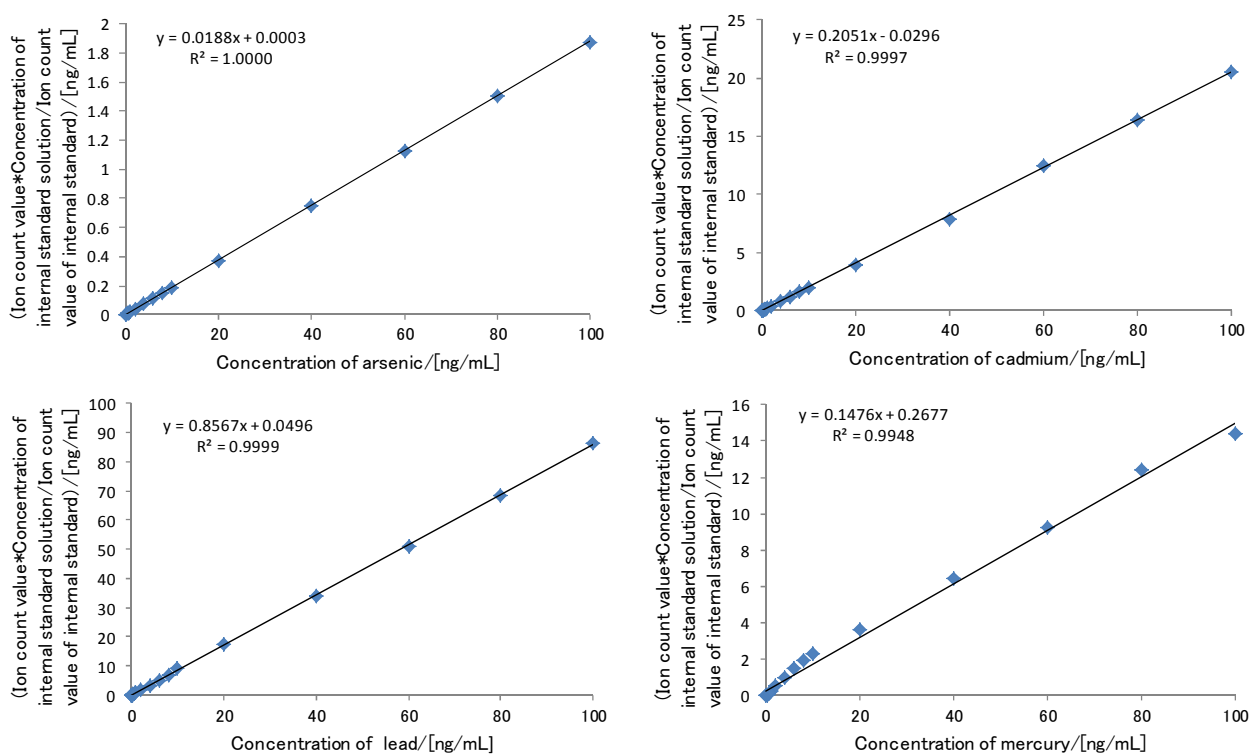


Fig. 1-1 Calibration curves of arsenic, cadmium, lead and mercury (Diluted with nitric acid (1:19) containing 10 µg/mL L-cysteine acid)

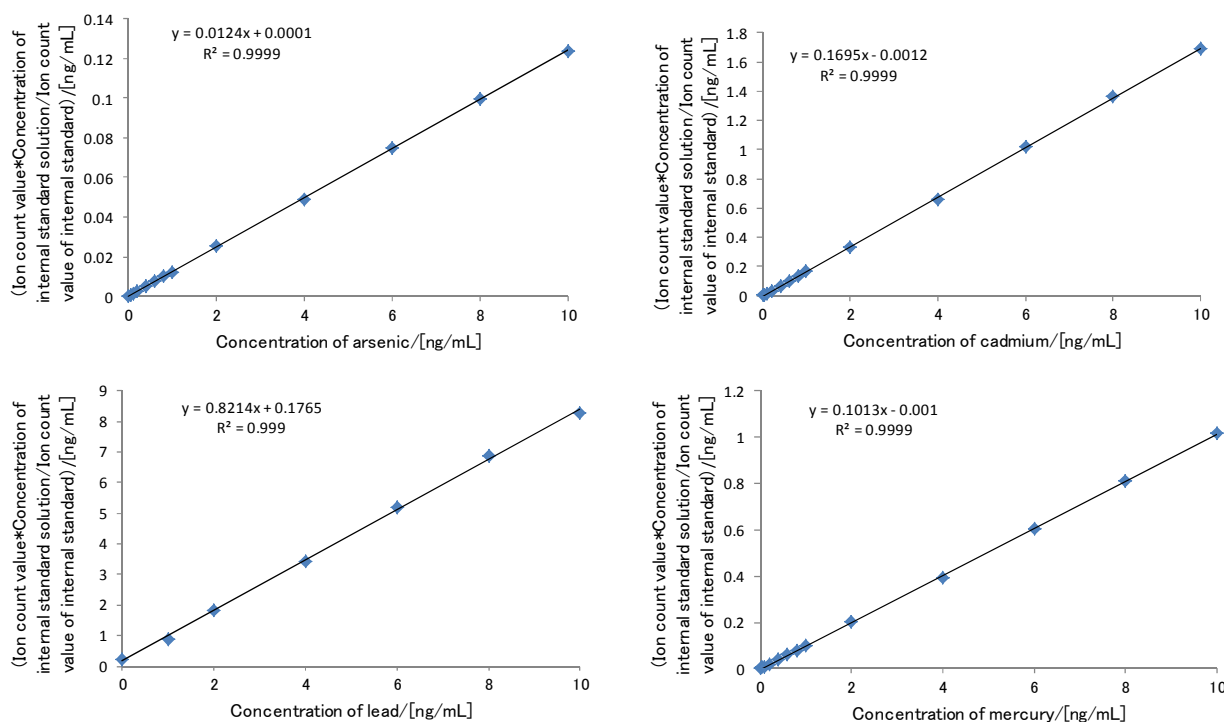


Fig. 1-2 Calibration curves of arsenic, cadmium, lead and mercury
(Diluted with nitric acid-hydrochloric acid-water (1:2:37) containing 10 $\mu\text{g/mL}$ L-cysteine acid)
(Containing 200 ng/mL gold and lutetium)
(Concentration range of lead: 1~10 ng/mL)

3.2 予備試験

予備的に 2.1 の 1)の試料を用い、肥料試験法を基に操作の確認を行った。肥料試験法の抽出条件は、試料（液状肥料 20.0 g（水分含有量から換算して 20.0 g 中の固形分含有量は 0.5 g 程度を上限とする。））。固形肥料中のカドミウムの分析法については 0.2 g）に硝酸 2.5 mL 及び過酸化水素 2 mL を加え、マイクロ波分解装置で 1400 W で 10 分以上加熱する方法である。肥料試験法の条件では、一部の試料（チキンミール及び稲わら）において、分解液の着色及び混濁又は黒褐色沈殿物が認められ、マイクロ波分解装置による分解が不十分であった。そのため、硝酸 5 mL 及び過酸化水素 2 mL を加え、マイクロ波分解装置で 1400 W で 40 分間加熱（この時の分解温度は約 140~200 $^{\circ}\text{C}$ であった。）するように変更した。さらに、AOAC 法を参考にしてマイクロ波分解装置での分解前に金-ルテチウム混合液 0.4 mL を加えるよう変更した。また、操作由来の重金属等の測定値が出る可能性があることから、空試験溶液を調製するよう変更した。さらに、器具由来の重金属等が検出される可能性があることから、濃度 0 ng/mL の標準液を作成するように肥料試験法から変更した。

器具由来の重金属等の測定値を抑えるため、器具は、可能な限りポリプロピレン等の樹脂製を使用し、使用前に硝酸 (1+3) に 12 時間以上浸した後、超純水で十分すすいでから用いた。全量フラスコ等のガラス器具を用いる場合は、無砒素のホウケイ酸ガラス製のものを用い、JIS K 8007 に準じて硝酸 (1+1) で 1 日間以上浸した後、超純水で十分すすいでから使用した。

3.3 BCR 認証標準物質の分析

本法の真度を確認するため, 認証標準物質 BCR-627 を用いて 5 点併行で 2.4 に従って定量を行った。

その結果, Table 5 に示すように砒素は本法では 4.6 mg/kg となり, 認証値との間に有意差は認められなかった。

Table 5 Determination of a BCR certified reference material

Arsenic	
Certified value of BCR-627 (mg/kg)	4.8 ± 0.3 ^{a)}
Determined value ^{b)} (mg/kg)	4.6
RSD _r ^{c)} (%)	1.8

a) Uncertainty: half width of the 95 % confidence interval

b) Mean ($n = 5$)

c) Relative standard deviation of repeatability

3.4 添加回収試験

2.5 により添加回収試験を実施した。その結果は Table 6 のとおり, 砒素については平均回収率は 98.8~107 %, その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD_r) として 2.4 % 以下, カドミウムについては平均回収率は 98.7~105 %, RSD_r は 3.6 % 以下, 鉛については平均回収率は 93.1~96.7 %, RSD_r は 2.1 % 以下, 水銀については平均回収率は 89.5~92.4 %, RSD_r は 3.3 % 以下の成績が得られ, 飼料分析基準別表 3 の試験法の妥当性確認法ガイドライン (以下「妥当性確認法ガイドライン」という。) に定められた真度及び併行精度の目標値を満たす良好な結果であった。

Table 6 Recoveries for arsenic, cadmium, lead and mercury

Spiked level (mg/kg)	Fish meal		Poultry by-product meal		Rice straw	
	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)
Arsenic	7	—	107	0.5	98.8	1.4
	15	104	—	—	—	—
Cadmium	1	—	—	—	98.7	1.4
	3	105	102	3.6	—	—
Lead	3	—	—	—	93.1	2.1
	7	95.7	96.7	2.0	—	—
Mercury	0.4	—	—	—	89.5	0.5
	1	92.4	91.2	3.3	—	—

—: Not tested

a) Mean ($n = 5$)

b) Relative standard deviation of repeatability

4 まとめ

飼料及び愛玩動物用飼料に含まれる有害重金属等の定量について, 肥料試験法及び AOAC 法を基に, ICP-MS を用いた迅速・多元素同時定量法の飼料分析基準及び愛玩動物用飼料等の検査法へ

の適用の可否について検討したところ、以下の結果が得られた。

- 1) 200 ng/mL となるように金-ルテチウム混合液を加えた後、希釈溶媒で調製した標準液を測定して得られた検量線は、砒素、カドミウム及び水銀では各 0.05~10 ng/mL (注入量として 0.02~4 mg/kg) , 鉛では 1~10 ng/mL 相当量 (注入量として 0.4~4 mg/kg) の範囲で直線性を示した。
なお、当該検量線の濃度範囲は、各重金属等を 0.02~4 mg/kg (鉛は 0.4~4 mg/kg) 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各重金属等濃度範囲に相当する。
- 2) 抽出条件は、硝酸 5 mL, 過酸化水素 2 mL 及び金-ルテチウム混合液 0.4 mL を添加後、マイクロ波分解装置で 1400 W, 40 分間加熱するよう肥料試験法から変更した。また、操作由来の重金属等の測定値が出る可能性があることから、空試験溶液を調製するよう変更した。さらに、器具由来の重金属等が検出される可能性があることから、濃度 0 ng/mL の標準液を作成するように変更した。
- 3) 認証標準物質を分析して、本法による砒素の分析値の正確さを確認したところ、標準試料の砒素の認証値との間に有意差は認められなかった。
- 4) 魚粉、チキンミール及び稲わらに、砒素として 7 又は 15 mg/kg 相当量、カドミウムとして 1 又は 3 mg/kg 相当量、鉛として 3 又は 7 mg/kg 相当量、水銀として 0.4 又は 1 mg/kg 相当量を添加し、本法に従って 5 点併行分析を実施し、回収率及び繰返し精度を求めたところ、妥当性確認法ガイドラインに定められた真度及び併行精度の目標値を満たす良好な結果が得られた。

文 献

- 1) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について、昭和 63 年 10 月 14 日、63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 2) 農林水産省令・環境省令：愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令、平成 21 年 4 月 28 日、農林水産省令・環境省令第 1 号 (2009).
- 3) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について、平成 20 年 4 月 1 日、19 消安第 14729 号 (2008).
- 4) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター理事長通知：「愛玩動物用飼料等の検査法」の制定について、平成 21 年 9 月 1 日、21 消技第 1764 号 (2009).
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター：肥料等試験法 (2018).
- 6) George W. Latimer, Jr.: Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL 20th edition, AOAC official method 2015.01 heavy metals in food, Gaithersburg, MD, USA (2016) (ISBN: 978-0-935584-87-5).