

## 残留農薬の一斉分析法の開発

(社) 大阪府薬剤師会 試験検査センター 外海泰秀

演者らは昭和 60 年頃から残留農薬の分析に関わり、それまで個別分析が主体であったのを GC や HPLC を用いて系統別グループ分析する方法へ変更する検討を始めた。その後、ポストハーベスト農薬問題の発生や基準値設定農薬数が急増したので、各種の混在する農薬を出来るだけ同時に抽出して試験溶液を作製し、測定機器の方で分離・定量する方向にしたいと考え、多成分一斉分析法の開発に取り組んだ。この間、各種測定機器も大きく進歩発展したので、超臨界流体抽出(SFE)、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)、各種固相抽出ミニカラム、セミマイクロカラム HPLC、GC/MS、LC/MS なども試験法に取り入れて、不特定多数の農薬を対象とするスクリーニング試験法の開発を目指した。以下に示すこれらの検討した方法は、今後残留農薬基準へポジティブリスト制が導入された場合に、効率的な分析手法を導入するための有益な資料になると考えられる。

### 1) HPLC による青果物中残留農薬及びその代謝物の一斉分析法

HPLC でしか測定できない農薬、GC でテーリングや分解を起こす農薬、親水性で従来の溶媒抽出では回収されにくい 23 種農薬について検討した。ポストハーベスト農薬として使用頻度の高い野菜・果実中の各種殺菌剤類をアセトニトリルで抽出、アルカリ性食塩水で洗浄後濃縮し、SAX+PSA ミニカラムに負荷し、5, 15, 50% アセトン/ヘキサンで分画溶出した。妨害成分の多い柑橘類については、フロリジルミニカラムを追加し、各試験溶液を HPLC (UV, FL) で測定し、PDA 及び GC/MS で確認した。

本法ではカラムからの溶出液を分画して測定することにより、試料中の多くの妨害物及び農薬を分散させ、農薬の検出を容易にすることが出来た。従って、輸入果実中の各種殺菌剤類を低濃度まで測定する事が出来、検出頻度が高いが GC 分析が困難なためモニタリング調査などの対象外とされがちであった農薬の検査が可能となった<sup>1)</sup>。

### 2) SFE 及び GC, HPLC による農作物中残留農薬の多成分一斉分析法

穀類中 71 農薬を SFE で抽出し、Extrelut + C<sub>18</sub> で脱脂後、GPC 及びフロリジルミニカラムで精製し、HPLC (UV, FL)、GC (FPD, FTD, ECD)、GC/MS (SIM) で一斉分析する方法を作成した。玄米及び小麦に 0.2 - 0.5 ppm 添加したときの回収率は、フェンチオン、ジクロロボス、ジメチルビンホス、プロパモカルブを除いて良好であった。本法により輸入小麦及びトウモロコシについての残留実態調査を

行い、各種検出器による確認法及び感度の優劣を比較した。また、野菜・果実中 27 農薬を吸着ポリマーで脱水後 SFE で抽出し、Extrelut + C<sub>18</sub> 処理後フロリジル+ PSA ミニカラムで精製し、HPLC (PDA) で測定する一斉分析法を作成した。従来、SFE には不向きとされていた水分の多い野菜・果実についても、吸着ポリマーであらかじめ脱水処理することにより、穀類同様に SFE で抽出し一斉分析することが出来た<sup>69)</sup>。

### 3) HPLC, LC/MS による N-メチルカルバメート系農薬及びその代謝物の同時分析

農作物中の N-メチルカルバメート系農薬 21 種及びそれらの代謝物 12 種を溶媒抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配及び NH<sub>2</sub> ミニカラムで精製後、ポストカラム反応蛍光検出 HPLC で同時分析した。本法では類縁対象農薬を大幅に広げ、公定法では農薬ごとに異なっていた HPLC 条件を統一した。検出限界は殆どの農薬で試料中 0.01 ppm であった。また、妨害成分の多い柑橘類では精製に ENVI-Carb を使用し、カラムからの溶出を分画し、LC/MS で検出、定量する方法を確立した。各画分について HPLC と LC/MS により測定した定量値は良好な相関性を示した。本法では告示試験法で使用されているジクロロメタンを排除する方法とした<sup>67)</sup>。

### 4) LC/MS によるエマメクチン安息香酸塩類及びその代謝物の一斉分析法

マクロサイクリックラクトン系化合物であるエマメクチン安息香酸塩とその代謝物/異性体 (6 種) 並びに構造類似のアバメクチン、イベルメクチン、ミルベメクチンをアセトンで抽出し、C<sub>18</sub> ミニカラムで精製後、LC/MS (SIM) で測定する簡便な一斉分析法を作成した。本法では精製法の簡易化、LC/MS 測定条件の最適化を重点的に検討した。とまと、大根、茶に 0.1 - 0.5 ppm 添加したときの回収率は、茶のアバメクチン、ミルベメクチン以外で 90.1 - 120.9 % であった。測定に際していずれの場合にも農作物由来成分によるイオン抑制が見られたので、これらの影響を差し引くため標準添加法で定量する必要があるがあった。従来の告示試験法ではこれらエマメクチン類は蛍光誘導体化後、HPLC (FL) で測定する方法となっていたが、蛍光誘導体化率が脱水の程度により大きく変動することや作物によりさらなる精製を必要とするなど試験法が煩雑となっていた。本法ではエマメクチン類を誘導体化することなく、簡単な精製後直接 LC/MS で一斉分析する精度の良い方法を確立した<sup>8-10)</sup>。

### 5) イオントラップ型 GC/MS/MS による農産物中低濃度レベルの残留農薬測定

近年、中国野菜などに基準を上回る農薬の残留実態が次々と明らかになり、低濃度レベルにおける残留農薬検査の重要性が益々増加している。これまで基準値が低い農薬の中には、GC 測定時に食品マトリックスの妨害により定性、定

量が困難な事が多かった。また、GC/MSのSIM法では選択された数種類のターゲットイオンのみを用いて測定するため、食品マトリックスの多いときには農薬のターゲットイオンと重なり測定出来ない場合がある。また、GC/MSのスキキャン法ではマススペクトルが得られるため、農薬の同定を正確に行うことが出来るが、この測定にはSIM法より高濃度を必要とするため、基準の低い農薬の測定には適していない。これらの問題を解決するために、イオントラップ型GC/MS/MSを用いてこの問題の解決を図った。

食品中の夾雑物のためGC分析が困難な冷凍枝豆、とうもろこし、ほうれんそう、紅茶、ウーロン茶または緑茶を前処理した試験溶液に、有機リン系のクロルピリホス及び有機塩素系のBHC, DDT, DDE, アルドリン, ディルドリンを0.01 - 0.125  $\mu$  g/ml (エンドリンは0.02 - 0.25  $\mu$  g/ml) 添加し、GC/MS/MSの測定条件を設定し、高感度に測定することができた。また、各食品試験溶液にエンドリンが0.02  $\mu$  g/ml, それ以外の農薬が0.01  $\mu$  g/mlになるように添加したところ、61.2 - 138.3%回収された。これらの結果から、検出頻度が高く基準値が低いクロルピリホスや、食品マトリックスの影響を受けやすい茶抽出液中の低濃度有機塩素系農薬の測定などには、イオントラップ型GC/MS/MSが適していることを明らかにした。本法は食品中残留農薬検査の精度向上に貢献できる今後の有用な方法の一つと考えられた<sup>11)</sup>。

#### 6) 農作物中 104 種農薬残留スクリーニング分析に係わる試験技能評価の試み

国内の6指定検査機関及び2検疫所・検査センターを対象に、農作物中の104種農薬の残留スクリーニング分析に係わる試験技能評価を行った。評価項目は検出下限値・定量下限値、内部精度評価として4作物への添加回収試験（冷凍ほうれんそう、精米、生鮮いちご、乾燥とうもろこし）、外部精度評価として5作物へのブラインドスパイク試験（冷凍ほうれんそう、オイルシード、冷凍いちご、冷凍ブロッコリー、乾燥とうもろこし）等を行った。104項目の農薬に関して、GCの検出下限値及び添加回収率から、農作物中における一斉残留スクリーニングが全く不可能であると考えられるものはなかった。ブラインドスパイク試験においては延べ49の農薬を検出対象とし、5作物について残留基準値程度を添加して行った。4機関は98%以上の比率で正しく検出しており、これらの機関が高いモニタリング効率を持つことが推定された。しかし、農薬の検出効率の推定値は、機関によって65 - 100%と開きがあった。また、含有されていない農薬を検出したと判定した頻度は、5回の試験で15農薬の誤検出をした機関がある一方で、全く誤検出のない機関もあった。このように参加機関の間で多成分農薬スクリーニング技能水準にはかなりの開きのあることがうかがえた。広範囲の農薬の種類及び添加量未知の試料について、分析の精度評価を行ったのは初めての試みであり、今後とも登録検査機関等に対してこのような技能試験は継続的になされるべきであると考えられた<sup>12)</sup>。

## まとめ

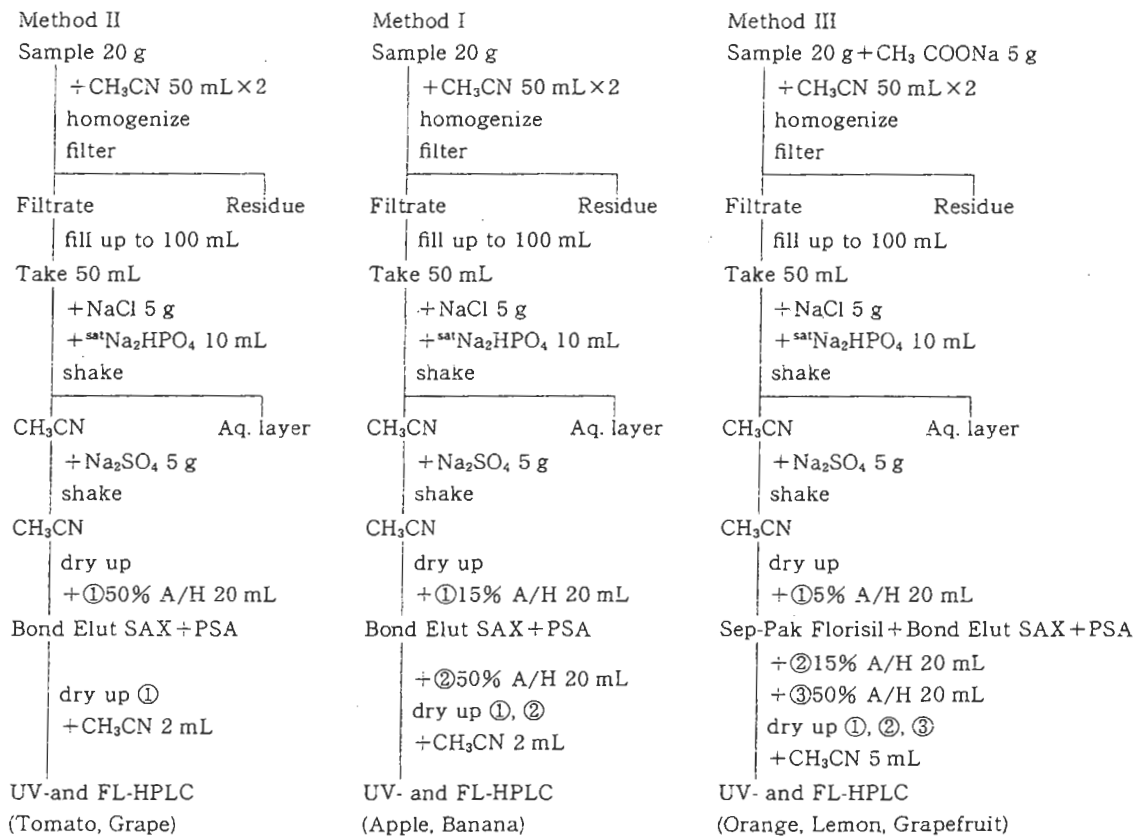
平成15年5月の食品衛生法の大改正で今後3年を目途として残留基準値のポジティブリスト制の導入が決定されたことにより、対象農薬数は約700に達し、対象食品は農作物のみならず動物性食品や加工食品にも拡大される。このような背景を勘案して多数農薬を一斉分析するには、本研究で検討し確立した各種の新規試験法などを行政検査の現場で導入し、食品中の残留農薬を効率的にスクリーニングすることが必要となる。

その結果、検査に要する時間の短縮と省力化とともに、分析値の精度向上が期待できる。ひいては検査件数の増加、出荷前検査の実施等の残留農薬に関する監視体制の充実につながり、食の安全性確保のより一層の向上が期待でき、さらに食品中の残留農薬に対する国民の不安を軽減することに貢献できると考えられる。

## 文 献

- 1) 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 食衛誌, 39, 13 ~ 25 (1998).
- 2) 吉井公彦, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 食衛誌, 39, 184 ~ 191 (1998)
- 3) 吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光 進, 外海泰秀, 土屋 鍛: 食衛誌, 40, 68 ~ 74 (1999)
- 4) Kaihara A., Yoshii K., Tsumura Y., Nakamura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: J. Health Sci., 46, 336 ~ 342 (2000)
- 5) Kaihara A., Yoshii K., Tsumura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: J. Health Sci., 48, 173 ~ 178 (2002)
- 6) 津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 肥後真美子, 柴田 正: 食衛誌, 39, 357 ~ 367 (1998)
- 7) 津村ゆかり, 吉井公彦, 石光 進, 外海泰秀: 食衛誌, 43, 330 ~ 338 (2002)
- 8) Yoshii K., Kaihara A., Tsumura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: J. Chromatog. A, 896, 75 ~ 85 (2000)
- 9) Yoshii K., Kaihara A., Tsumura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: J. AOAC Int., 84, 910 ~ 917 (2001)
- 10) Yoshii K., Ishimitsu S., Tonogai Y., Arakawa K., Murata H., Mikami H.: J. Health Sci., 50, 17 ~ 24 (2004)
- 11) 井上智子, 佐々木さおり, 内川誠二, 平原嘉親, 塩見幸博, 外海泰秀: 食衛誌, 44, 310 ~ 315 (2003)
- 12) 津村ゆかり, 石光 進, 大滝佳代, 内海宏之, 松本延之, 駄場正樹, 土屋鍛, 右京政補, 外海泰秀: 食衛誌, 44, 234 ~ 245 (2003)

# 1) HPLC による青果物中残留農薬及びその代謝物の一斉分析法



Scheme 1. Preparation of tests solution for pesticide analysis by HPLC  
\* A/H: acetone/hexane

# 2) 超臨界流体抽出及び HPLC による穀類中 15 種農薬の一斉分析法の検討

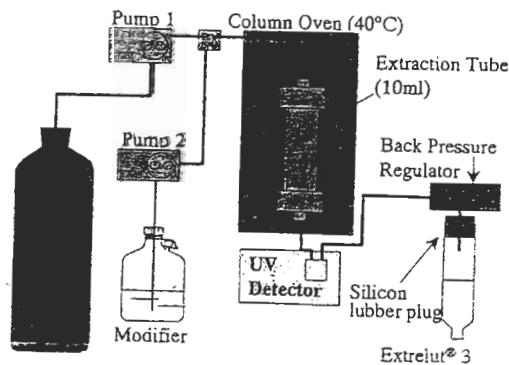
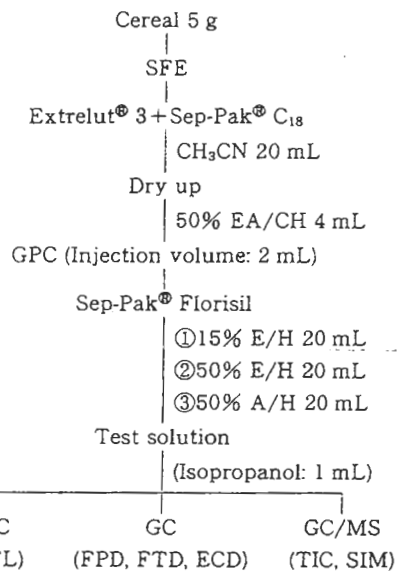


Fig. 3. SFE instrument



Scheme 1. Procedure of multiresidue analysis of pesticides in cereals  
EA: ethyl acetate, CH: cyclohexane, E: ether, H: hexane, A: acetone

3) HPLC によるかんきつ類中の *N*-メチルカルバメート系農薬及び  
それらの代謝物の含ハロゲン溶媒不使用同時分析

Table 4. Recovery (%) of NMC Added to Citrus Fruits\*<sup>i</sup>

Name	Lemon		Orange		Grapefruit	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD
1 Butocarboxim sulfoxide (B1)	6.5	1.4	68.9	8.0	ND	—
2 Aldicarb sulfoxide (A1)	66.3	0.9	87.6	6.0	74.0	5.2
3 Butoxycarboxim (B2)	88.0	11.6	87.8	8.3	76.6	5.0
4 Aldicarb sulfone (A2)	70.7	2.8	80.4	1.9	71.5	8.4
5 Oxamyl	73.4	6.7	82.8	8.6	76.3	3.1
6 Methomyl	70.5	1.2	77.9	1.8	15.1	26.2
7 Ethiofencarb sulfone (E2)	92.6	13.4	81.2	4.8	80.0	4.9
8 Ethiofencarb sulfoxide (E1)	67.2	6.4	78.8	13.0	60.2	4.1
9 Thiofanox sulfoxide (T1)	71.1	7.7	78.2	3.0	74.9	2.7
10 Thiofanox sulfone (T2)	<u>78.4</u> * <sup>2</sup>	<u>1.6</u>	60.1	5.2	<u>73.8</u>	<u>1.5</u>
11 Methiocarb sulfoxide (M1)	<u>97.8</u>	<u>12.8</u>	78.9	5.8	<u>84.8</u>	<u>3.9</u>
12 3-Hydroxycarbofuran	<u>81.0</u>	<u>2.8</u>	83.3	8.9	<u>88.3</u>	<u>1.0</u>
13 Methiocarb sulfone (M2)	82.7	4.6	72.9	5.4	ND	—
14 Butocarboxim (B0)	72.2	14.9	50.7	18.9	55.6	16.8
(B1)	(ND)* <sup>3</sup>	(—)	(10.2)	(1.3)	(ND)	(—)
15 Aldicarb (A0)	86.9	15.7	68.4	10.4	64.8	14.0
(A1)	(4.5)	(7.8)	(16.4)	(10.6)	(14.6)	(14.1)
16 Metolcarb (MTCM)	80.8	1.6	76.9	2.0	76.2	1.2
17 Aminocarb	ND	—	79.3	6.8	ND	—
18 Propoxur (PHC)	80.0	0.5	74.2	0.6	80.3	4.7
19 Bendiocarb	95.9	10.1	74.3	6.0	87.5	4.6
20 Carbofuran	80.4	5.9	82.2	5.1	83.8	4.6
21 Carbaryl (NAC)	88.2	10.3	69.2	8.0	72.0	4.2
22 Xylylcarb (MPMC)	<u>82.1</u>	<u>7.9</u>	82.2	4.0	<u>76.8</u>	<u>3.6</u>
23 Ethiofencarb (E0)	<u>57.0</u>	<u>3.6</u>	24.6	7.5	<u>65.8</u>	<u>3.1</u>
(E1)	(7.2)	(1.7)	(37.0)	(4.9)	(6.0)	(0.9)
24 XMC	<u>77.1</u>	<u>27.2</u>	69.4	6.7	<u>60.5</u>	<u>1.7</u>
25 Thiofanox (T0)	<u>51.4</u>	<u>7.8</u>	67.9	3.9	(ND)	(—)
(T1)	(13.0)	(3.4)	(8.2)	(1.6)	(8.5)	(2.2)
26 Thiodicarb	<u>48.5</u>	<u>11.0</u>	65.3	7.4	<u>77.5</u>	<u>6.7</u>
(Methomyl)	(2.2)	(0.7)	(2.2)	(0.2)	(1.8)	(0.2)
27 Isoprocarb (MIPC)	75.7	4.1	85.0	2.1	ND	—
28 2,3,5-Trimethacarb	73.2	0.4	76.3	3.6	72.2	4.4
29 3,4,5-Trimethacarb	81.5	10.9	69.6	6.1	<u>93.3</u>	<u>8.7</u>
30 Fenobucarb (BPMC)	75.6	3.9	83.5	5.9	<u>150.2</u>	<u>6.5</u>
31 Methiocarb (M0)	68.7	0.4	62.5	4.6	84.3	4.6
(M1)	(ND)	(—)	(ND)	(—)	(ND)	(—)
32 Promecarb	95.8	10.5	70.4	1.8	73.0	0.9
33 Mexacarbate	40.6	8.7	86.0	8.3	65.1	2.8
Number of NMCs with recovery of more than 60% in HPLC	22/33		33/33		16/33	
Number of NMCs with recovery of more than 60% in HPLC and LC/MS	29/33		33/33		26/33	

\*<sup>1</sup> Fortification level was 0.5 ppm for thiofanox, and 0.1 ppm for the other NMCs.

\*<sup>2</sup> Underlined values were obtained by LC/MS because the peak of NMC was overlapped by interfering peak(s) in HPLC.

\*<sup>3</sup> Some NMCs were metabolized during the analytical procedure (recoveries are shown in parentheses).

#### 4) Simultaneous Determination of Emamectin, its Metabolites, Milbemectin, Ivermectin and Abamectin in Tomato, Japanese Radish and Tea by LC/MS

Table 2. Retention Time, Ion Peaks, Calibration Curve and Detection Limits of Target Chemicals

Target compounds	RT (min)	<i>m/z</i>	linearity of calibration curve <i>R</i> <sup>2</sup> Value (range, $\mu\text{g/ml}$ )	detection limits <sup>b)</sup> (ng/ml)	
				LC/MS	FL
Amino	11.56	872 <sup>a)</sup> (M)	0.9955 (0.05–0.5)	0.2	0.2
		894 (M–H+Na)			
Emamectin B <sub>1a</sub>	11.70	886 <sup>a)</sup> (M)	0.9999 (0.05–1.0)	0.2	0.2
		908 (M–H+Na)			
8,9-Z isomer	12.18	886 <sup>a)</sup> (M)	1.000 (0.05–1.0)	0.2	0.2
		908 (M–H+Na)			
FA	11.81	922 <sup>a)</sup> (M–H+Na)	0.9972 (0.05–0.5)	0.2	0.2
MFA	12.63	936 <sup>a)</sup> (M–H+Na)	0.9980 (0.05–1.0)	0.5	0.5
Abamectin	12.45	895 <sup>a)</sup> (M)	0.9798 (0.05–0.5)	0.2	0.5
Ivermectin	14.38	897 <sup>a)</sup> (M–H+Na)	0.9821 (0.05–1.0)	0.2	0.5
Milbemectin A <sub>3</sub>	12.56	551 <sup>a)</sup> (M–H+Na)	0.9793 (0.05–1.0)	0.2	0.5
Milbemectin A <sub>4</sub>	13.28	565 <sup>a)</sup> (M–H+Na)	0.9889 (0.05–1.0)	0.1	0.5

a) The values with single asterisk are target ion peaks for LC/MS measurement. b) Detection limits are provided as  $S/N > 3$ .

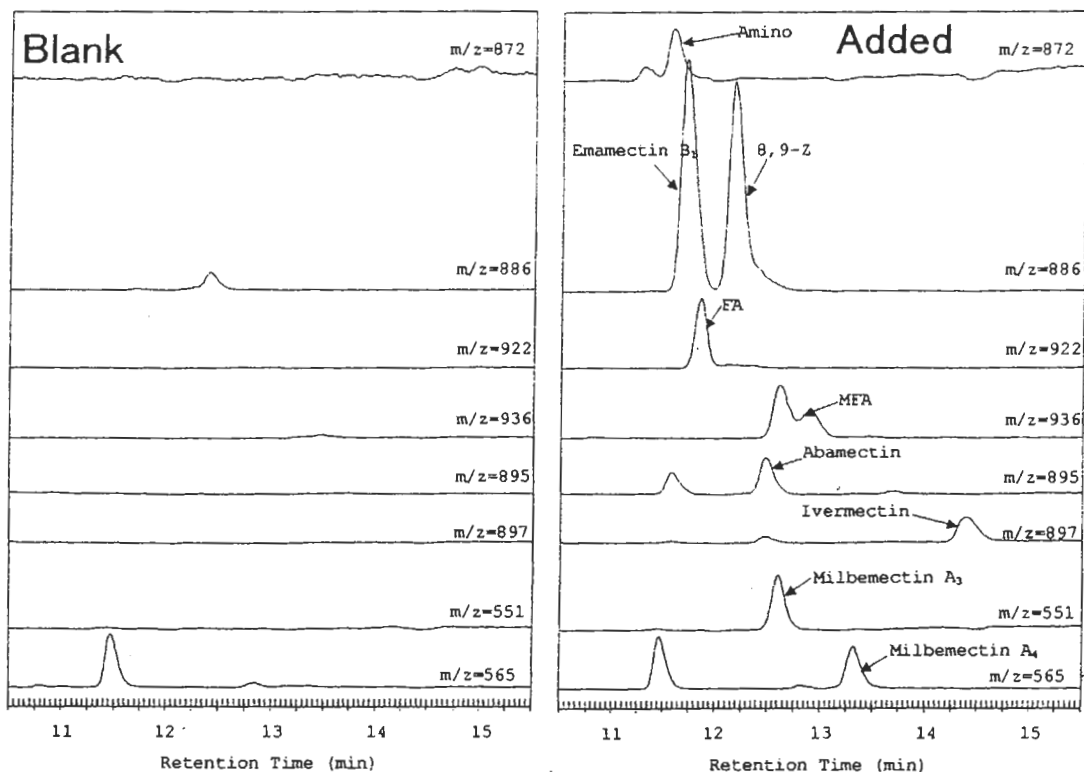


Fig. 4. Typical Mass Chromatograms of Tomato

## 5) イオントラップ型 GC/MS/MS による農産物中低濃度レベルの残留農薬測定

### 食品中の定量値

食品の試験溶液中に低濃度に含有するクロルピリホスや有機塩素系農薬の GC/MS/MS による定量性について検討した。すなわち、ほうれんそう、冷凍枝豆およびとうもろこし試験溶液にクロルピリホス 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、紅茶、ウーロン茶および緑茶試験溶液にエンドリンが 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、それ以外の有機塩素系農薬が 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$  になるように添加し、各農薬を GC/MS/MS で定量した。その結果、Table 3 に示すように、いずれも添加量に対して 61.2~138.3% が回収された。このことから、検討した低濃度の 12 種類の農薬はきょう雑物が存在する試験溶液中においても良好に定量できることが明らかになった。

### まとめ

本研究により、汎用されている GC/MS では食品マトリックスの妨害によって測定が困難であった 12 種類の農薬が、GC/MS/MS を用いることによってより正確に定性および定量できた。このことから、GC/MS/MS は日常分析の中で基準が低濃度に設定されている農薬をはじめ茶などのように食品マトリックスの妨害によって GC/MS では測定が困難な農薬の測定に特に適しており、食品中の残留農薬検査の精度向上に貢献できる有用な検出法の 1 つであることが明らかにされた。

本研究は、平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）「中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析の開発に関する研究」の一環として行った。

Table 2. Detection Limits of MS for 12 Kinds of Pesticides in Matrix of Spinach or Green Tea by GC/MS/MS-Scan and GC/MS-Scan Analysis

Matrix	Pesticide added	Detection limit of each pesticide in matrix ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
		GC/MS/MS-Scan	GC/MS-Scan
Spinach	Chlorpyrifos	0.01	0.2
	$\alpha$ -BHC	0.01	1.0
	$\beta$ -BHC	0.01	1.0
	$\gamma$ -BHC	0.01	1.0
	$\delta$ -BHC	0.01	1.0
	Aldrin	0.01	1.0
Green tea	Dieldrin	0.01	1.0
	Endrin	0.02	2.0
	<i>p,p'</i> -DDD	0.01	1.0
	<i>o,p'</i> -DDT	0.01	5.0
	<i>p,p'</i> -DDT	0.01	1.0
	<i>p,p'</i> -DDE	0.01	0.1

Matrices were extracted from spinach and green tea by the standard method. Chlorpyrifos was added to the matrix of spinach (4 g/mL), and the concentration was adjusted to 0.01, 0.04, 0.2, 0.4 and 2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Aldrin, dieldrin, endrin,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE were added to the matrix of green tea (2 g/mL), and the concentration was adjusted to 0.1, 0.2, 1.0, 2.0 and 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in each case. Each pesticide in the matrix was measured by GC/MS/MS-Scan and GC/MS-Scan analysis.

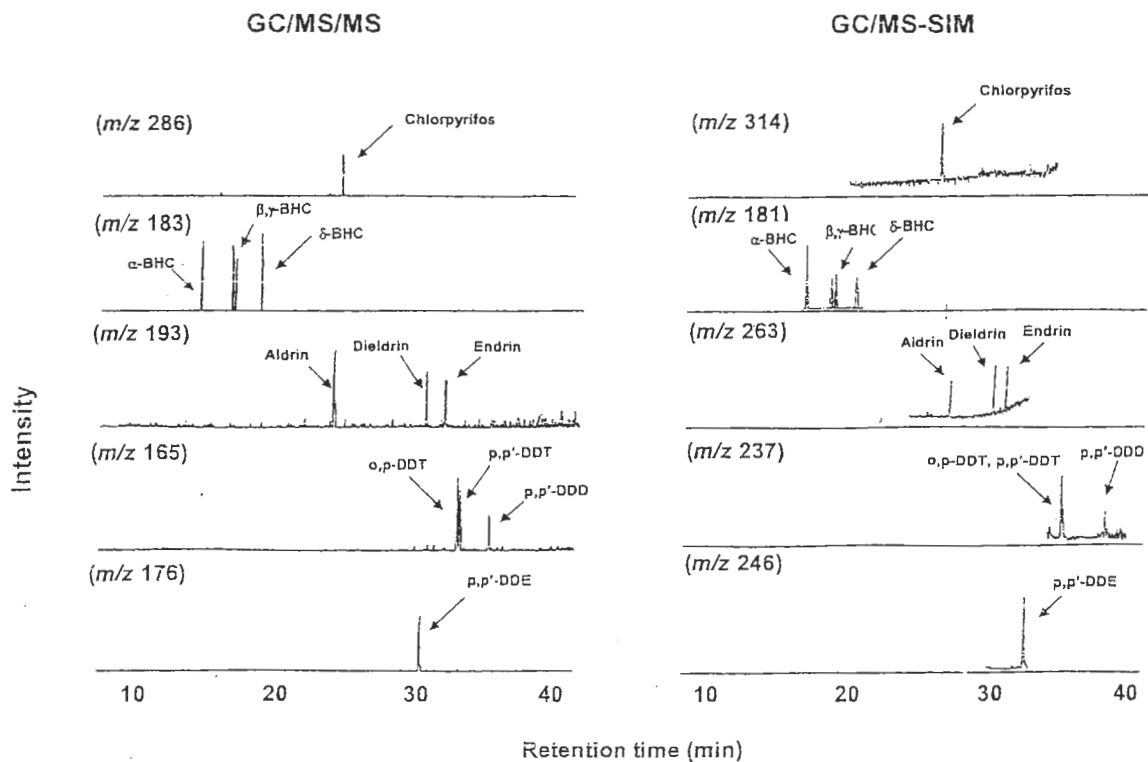


Fig. 1. Mass chromatograms of chlorpyrifos and 11 kinds of organochlorine pesticide standards by GC/MS/MS and GC/MS-SIM

The concentration of each pesticide was 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , with the exception of endrin (0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).



## 6) 農作物中の104種農薬残留 スクリーニング分析 に関わる試験技能評価の試み

Homogenized sample 20 g

- ethyl acetate 80 mL, 50 mL
- anhydrous sodium sulfate 50-100 g
- homogenize for 3 min
- filter through filter paper No. 5A

Filtrate

- evaporate
- acetone-*n*-hexane (2 : 8) 5 mL
- separate the precipitation using a centrifuge

Supernatant

3 mL aliquot

- load on SAX + PSA\*
- elute with acetone-*n*-hexane (2 : 8) 10 mL
- elute with acetone-*n*-hexane (7 : 3) 10 mL
- evaporate each fraction
- acetone 3 mL

Test solution for GC (FPD, NPD, ECD) and GC/MS

Scheme 1-1. Suggested analytical method for multi-pesticide residue determination in vegetables and fruits

\* Bond Elut SAX and PSA. Product of Varian, 6 cc and 1 g, part number 1225-6061. Conditioned with acetone-*n*-hexane (2 : 8) 5 mL prior to use.

Ground sample 10 g

- 35 vol% water in acetonitrile 100 mL
- homogenize for 3 min
- filter through filter paper No. 5A
- wash the residue with acetonitrile 30 mL

Filtrate

- NaCl 7 g
- phosphate buffer (pH 7.0, 1 mol/L)\*1 10 mL
- shake and remove aqueous layer

Acetonitrile layer

- evaporate
- ethyl acetate 30 mL
- anhydrous sodium sulfate
- dissolve the residue using ultrasonic machine
- filter through filter paper No. 5A

Filtrate

- homogenize for 3 min
- filter through filter paper No. 5A

Filtrate

- evaporate
- acetonitrile 5 mL
- *n*-hexane 1.5 mL
- shake and remove *n*-hexane layer

Acetonitrile layer

- evaporate
- acetone-*n*-hexane (2 : 8) 5 mL
- separate the precipitation using a centrifuge

Supernatant

4 mL aliquot

- load on SAX + PSA\*2
- elute with acetone-*n*-hexane (2 : 8) 10 mL
- elute with acetone-*n*-hexane (7 : 3) 10 mL
- evaporate each fraction
- acetone 2 mL

Test solution for GC (FPD, NPD, ECD) and GC/MS

Scheme 1-2. Suggested analytical method for multi-pesticide residues in grains

\*1 Dissolve K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 105 g and KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 61 g in water and adjust the pH to 7 by addition of 1 mol/L HCl and NaOH solution.

\*2 Bond Elut SAX and PSA. Product of Varian, 6 cc and 1 g, part number 1225-6061. Conditioned with acetone-*n*-hexane (2 : 8) 5 mL prior to use.

Table 8 外部精度評価結果の解析(検出効率)

番号	検体名	添加農薬数	各機関において正しく検出した農薬の数							
			A	B	C	D	E	F	G	H
1	冷凍ほうれんそう	10	8	6	9	8	8	10	10	10
2	冷凍いちご	10	5	8	10	5	10	10	10	9
3	冷凍ブロッコリー	13	7	11	13	8	11	13	12	13
4	乾燥とうもろこし	14	11	11	14	9	12	14	14	14
5	オイルシード	2	1	2	2	2	2	2	2	2
	合計	49	32	38	48	32	43	49	48	46

オイルシードについては、添加された農薬ではなく残留農薬。

番号	検体名	添加された農薬を正しく検出した比率	各機関において正しく検出した比率(%)							
			A	B	C	D	E	F	G	H
1	冷凍ほうれんそう		80	60	90	80	80	100	100	100
2	冷凍いちご		50	80	100	50	100	100	100	90
3	冷凍ブロッコリー		54	85	100	62	85	100	92	100
4	乾燥とうもろこし		79	79	100	64	86	100	100	100
5	オイルシード		50	100	100	100	100	100	100	100
	全体		65	78	98	65	88	100	98	98
	母比率の95%信頼区間	下限	51	64	89	51	76	93	89	89
		上限	77	87	99.6	77	94	100	99.6	99.6