MIURA Technical Report

SPEEDIA®
食品中残留農薬・動物用医薬品・カビ毒の迅速前処理法

三浦工業株式会社　三浦環境科学研究所

2026/07/23

SPEEDIA®膜ろ過カートリッジキットによる牛乳中の動物用医薬品の多成分一斉分析

【はじめに】

畜産物中の残留動物用医薬品検査は、食品の安全性を確保するため、日々さまざまな食品を対象に実施されており、効率的かつ高精度な分析法が求められています。特に牛乳は、タンパク質や脂質などのマトリックスを多く含むことから、分析対象成分を高感度かつ高精度に測定するには、マトリクスの影響を効果的に低減する前処理技術が重要となります。

膜ろ過法（SPEEDIA 法（LC））は、膜ろ過による精製技術を用いた新しい前処理手法です。従来の固相抽出における煩雑な工程を簡略化し、さらにマトリックスを効率的に除去することができます。そのため、簡易・迅速な操作で前処理が可能となり、分析時間の短縮や省力化だけでなく、技術習得や引継ぎの効率化も期待されます。

このアプリケーションでは、牛乳中の動物用医薬品を対象に、タンパク質変性法と膜ろ過法を組み合わせた前処理法を用いて添加回収試験を *n* = 5 で実施し、真度（回収率）と併行精度について評価を行いました。

【試験内容】

- 試料　　　：牛乳
- 前処理法　：抽出　タンパク質変性法
  　　　　　　精製　膜ろ過法（SPEEDIA 法（LC））
- 併行試験数：*n* = 5
- 添加濃度　：0.01 ppm
- 検量線　　：5 点　絶対検量線
  　　　　　　0.50、1.25、2.5、5.0、10 ppb
  　　　　　（混合液中で重複する成分は、この 2 倍）

【試薬】

<u>動物用医薬品標準品</u>

- 市販標準品（粉体・標準液）から混合標準液を調製
  対象成分は計 106 成分（P.3 以降を参照）

<u>試薬</u>

- アセトン（残留農薬・PCB 試験用）

【測定装置】

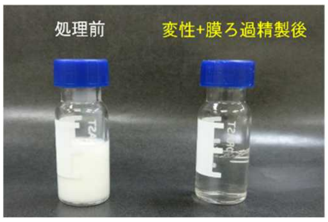
LC-MS/MS 測定条件

LC-MS/MS	LC : Vanquish (Thermo Fisher Scientific) MS : TSQ Quantis (Thermo Fisher Scientific)
分析カラム	InertSustain C18 メタルフリー※1 (GL Sciences) 長さ 150 mm、内径 2.1 mm、粒子径 3 μm
オーブン温度	25℃※2
注入量	2 μL
溶離液	A 液 0.1%ギ酸, 5 mM ギ酸アンモニウム水溶液 B 液 メタノール
流速	0.25 mL/min (0～23 min、34～35 min) 0.30 mL/min (23 min～34 min)
移動相条件	B 液 2% (0.1 min)→50% (4.9min)→98%(15 min) →hold 8 min→2% (0.1 min)→hold 6.9 min
イオン化法	H-ESI (Positive) H-ESI (Negative)
スプレー電圧	1000 V (Positive) 500 V (Negative)

【結果】

今回対象とした 106 成分のうち、妥当性評価ガイドラインの目標値である真度（回収率）70～120%、併行精度 25%未満を満たした成分数は、102/104 成分※3 と多くの化合物で良好な結果が得られました。

本法は、塩析工程が不要で、操作が非常にシンプルです。そのため、タンパク質の変性工程に 8 分、精製に 7 分と、前処理は合計約 15 分で完了します。また、遠心分離による精製のため、多検体であっても同一の遠心時間（5 分）で一括処理が可能です。牛乳中の動物用医薬品を迅速かつ効率的に分析できる、簡便な試験法として活用できます。



※1 TCs やニューキノロンのような金属配位性化合物が、カラムの金属表面に吸着することによるピーク形状不良を避けるため、メタルフリーカラムを使用
※2 TCs のケト・エノール互変異反応によるピーク形状不良を避けるため最適化
※3 分解する化合物、定量下限以下、元の試料に動物用医薬品が検出された化合物を除く

【前処理フロー】

※操作方法の詳細は弊社の HP にて動画を掲載しておりますので以下のリンクからご覧ください。
https://www.miuraz.co.jp/e_science/products/speedia.html

抽出

牛乳 5 g 秤量
｜　+ アセトン 15 mL
手で振とう 1 分間
｜
遠心分離（2,330×g、5 分間）
｜
上清液を別の容器に移し、蒸留水で 20 mL に定容

精製

膜ろ過カートリッジに先ほどメスアップした上清液 1.0 mL を添加
｜
遠心分離（1,490×g、5 分間）
｜
LC-MS/MS 測定
（最終試料濃度 0.25 g/mL 相当、動物用医薬品濃度 2.5 ppb）

◇検量線は 50%アセトン水溶液を使用して各濃度に調製した

《なぜアセトンを選んだの？》

タンパク質は有機溶媒や酸を加えることで変性・凝集します。しかし、「どの有機溶媒でも同じ」というわけではありません。そこで、LC-MS 分析で使用可能なアセトン、アセトニトリル、メタノール、および各溶媒に 1%ギ酸を添加した条件で比較しました（下図）。

その結果、1%ギ酸を添加した条件では、どの溶媒でも上清は白濁したままで十分なタンパク質の凝集・沈殿は確認できませんでした。

一方、ギ酸を添加しない条件では、アセトンとアセトニトリルで固液分離が確認されました。さらに、異なる製造元の牛乳 3 種で評価したところ、アセトニトリルでは一部の牛乳で上清液の濁りや、膜の目詰まりが発生しました。

アセトンは、今回検討した全ての牛乳で透明な上清液が得られ、膜の目詰まりも確認されませんでした。そのため、本法では安定したタンパク質変性が可能なアセトンを最適溶媒として選択しました。

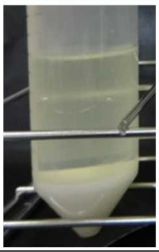
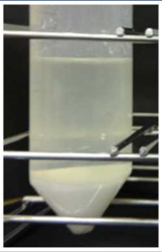
アセトン	アセトニトリル	メタノール	1%ギ酸 アセトン	1%ギ酸 アセトニトリル	1%ギ酸 メタノール
					

表 1　牛乳　動物用医薬品 添加回収試験結果一覧 回収率と併行精度（RSD）（*n* = 5）

化合物名	回収率 (%)	RSD (%)	化合物名	回収率 (%)	RSD (%)	化合物名	回収率 (%)	RSD (%)
テトラサイクリン系			**マクロライド系**			**サルファ剤**		
オキシテトラサイクリン	74	4.5	ミロサマイシン	98	8.0	スルファジメトキシン	101	1.9
テトラサイクリン	69 (58)	4.3	オレアンドマイシン	92	6.4	スルファキノキサリン	96	4.1
クロルテトラサイクリン	63 (56)	6.5	ジョサマイシン	85	3.4	スルファブロモメタジン	109	10.2
ドキシサイクリン	79	5.3	モキシデクチン	–	–	スルファニトラン (Neg)	84	3.5
アンフェニコール類			イベルメクチン B1a	113	17.3	スルファグアニジン	98	2.9
チアンフェニコール	–	–	**キノロン剤**			スルファモイルダプソン	92	6.2
クロラムフェニコール (Neg)	105	14.4	マルボフロキサシン	92	6.3	**β-ラクタム系**		
フロルフェニコール (Neg)	81	14.3	ノルフロキサシン	80	4.7	セファゾリン	115	9.2
ベンズイミダゾール系			オフロキサシン	90	3.9	ベンジルペニシリン	104	3.6
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	92	6.9	シプロフロキサシン	81	2.4	オキサシリン	99	6.4
チアベンダゾール	98	0.6	ダノフロキサシン	84	4.3	フェノキシメチルペニシリン	105	6.7
オクスフェンダゾール	97	2.5	エンロフロキサシン	96	7.1	クロキサシリン	92	4.0
オキシベンダゾール	98	9.0	オルビフロキサシン	95	8.5	ナフシリン	82	2.7
メベンダゾール	98	3.6	サラフロキサシン	85	11.5	**その他**		
フルベンダゾール	105	2.6	ジフロキサシン	99	7.7	レバミソール	90	3.8
アルベンダゾール	88	2.5	オキソリン酸	95	9.2	リンコマイシン	92	6.1
フェンベンダゾール	91	3.5	ナリジクス酸	93	6.1	クロピドール	88	5.4
アルベンダゾールスルホン	97	2.9	フルメキン	97	7.4	ラクトパミン	81	3.3
葉酸代謝拮抗剤			ピロミド酸	83	5.0	キシラジン	85	2.0
ジアベリジン	92	9.1	ミロキサシン	97	8.1	クレンブテロール	86	3.4
トリメトプリム	93	4.3	**サルファ剤**			モランテル	85	2.6
オルメトプリム	92	5.3	スルファセタミド	94	2.4	クロルスロン (Neg)	90	5.2
ピリメタミン	98	9.3	スルフィソミジン	96	3.8	カルバドックス	100	8.0
ホルモン剤			スルファジアジン	102	9.2	トリクロルホン(DEP)	88	7.9
プレドニゾロン	96	8.3	スルファチアゾール	103	10.4	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール (Neg)	100	2.2
メチルプレドニゾロン	90	8.6	スルファピリジン	100	8.9	エトパベート	102	6.7
トレンボロン (α,β)	73	3.8	スルファメラジン	94	6.8	ファムフール	100	3.1
ゼラノール (Neg)	80	1.8	スルフィソゾール	110	8.2	フェノブカルブ(BPMC)	98	2.2
クロステボル	98	2.1	スルファメトキシジアジン	99	5.4	プラジクアンテル	98	0.8
ヒドロコルチゾン (Neg)	96	7.9	スルファジミジン	108	3.0	ナイカルバジン (Neg)	92	3.5
デキサメタゾン	90	5.1	スルファメトキシピリダジン	110	5.7	ジクラズリル (Neg)	98	5.2
マクロライド系			スルファモノメトキシン	95	3.3	フルニキシン	90	4.2
ネオスピラマイシン	74	7.7	スルファクロルピリダジン	99	1.9	エマメクチンB1a	96	2.3
スピラマイシン	98	7.0	スルファメトキサゾール	106	9.8	アレスリン	103	7.3
チルミコシン	90	3.9	スルファドキシン	106	4.1	テメホス	107	3.8
エリスロマイシンA	94	5.0	スルファトロキサゾール	97	7.6	モネンシン	100	2.3
タイロシン	99	6.6	スルファエトキシピリダジン	104	3.4	サリノマイシン	107	3.5
チアムリン	99	2.6	スルフィソキサゾール	103	8.2			
ロイコマイシンA5	92	4.8	スルファベンズアミド	97	3.3			

◇ 回収率横の(　)内の数値は、マトリックス STD を用いて算出した回収率
◇ 化合物名に(Neg)と記載のあるものは LC-MS/MS の ESI (Negative)モードにて測定
◇　―：測定装置の定量限界以下または検量線の R^2 が 0.990 未満
◇ N/A (I)：妨害ピークにより定量不可
◇ N/A (D)：元の試料から対象成分と思われるピークが検出された事により定量不可

- 回収率(%) ＞ 150%
- 回収率(%)　120%～150%
- 回収率(%)　50～70%
- 回収率(%) ＜ 50%
- RSD(%) ＞ 30%　室内精度の目標値※4

※4 食安発第1115001号 「妥当性評価ガイドライン」より

〈テトラサイクリン系について〉

一部のテトラサイクリン系は、回収率の低下が確認されました。これは、牛乳中の金属イオンやタンパク質などとキレート錯体を形成し、固形相へ残留することが原因と考えられます。そこで，錯体形成を抑制するため、牛乳 5 g に対して，EDTA 含有クエン酸緩衝液 5 mL およびアセトン 10 mL を添加し、得られた上清を膜ろ過しました。

その結果、オキシテトラサイクリン 84%、テトラサイクリン 88%、クロルテトラサイクリン 93%、ドキシサイクリン 82%と、4 化合物全てで 80%以上の回収率が得られました。しかし，EDTA の添加により、約 10 成分でマトリックス効果（主にサプレッション）の影響が確認されました。

そのため、<u>テトラサイクリン系を対象とする場合は、別法（レポート No. TR-NRS-031）の適用を推奨</u>します。この方法は、テトラサイクリン系を安定して回収できるだけでなく、EDTA 含有クエン酸緩衝液に起因するマトリックス効果も回避できます。

MIURA
グリーンテクノロジーを創成する
三浦環境科学研究所
愛媛県松山市北条辻864番地1　〒799-2430
TEL 089-960-2350　FAX 089-960-2351
三浦工業株式会社
https://www.miuraz.co.jp