

セフキノム試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

セフキノム

2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（500 mg） 内径10～12 mmのポリエチレン製のカラム管に、スチレンジビニルベンゼン共重合体500 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

セフキノム硫酸塩標準品 本品はセフキノム硫酸塩 95%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵、魚介類及びはちみつの場合

筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合は、試料10.0 gを量り採る。はちみつの場合は、試料10.0 gを量り採り、水70 mLを加えて溶かす。これにアセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液50 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液30 mL及び*n*-ヘキサン30 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせた後、下層を分取し、アセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液を加えて正確に200 mLとする。この40 mLを採り、40℃以下で、はちみつ以外の場合は4 mL以下まで、はちみつの場合は18 mL以下まで濃縮した後、水20 mLを加え超音波処理を行いよく混合する。

② 脂肪の場合

試料5.00 gにアセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液50 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液30 mL及び*n*-ヘキサン30 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせた後、下層を分取し、アセトニトリル、ギ酸及び水（900：1：100）混液を加えて正確に200 mLとする。この80 mLを採り、40℃以下で8 mL以下まで濃縮した後、水20 mLを加え超音波処理を行いよく混合する。

2) 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（500 mg）にアセトニトリル及び水各10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、水10 mL、アセトニトリル及び水（1：19）混液10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（1：4）混液10 mLを注入し、溶出液にギ酸10 µLを加えた後、アセトニトリル及び水（1：4）混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

セフキノム標準品のアセトニトリル、ギ酸及び水（200 : 1 : 800）混液の溶液を数点調製し、それぞれ5 µLをLC-MS/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、定量限界に相当する試験溶液中濃度は0.002 mg/Lである。

6. 定量

試験溶液5 µLをLC-MS/MSに注入し、5の検量線でセフキノムの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

（例）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（1 : 9）から（3 : 7）までの濃度勾配を10分間で行い、（3 : 7）で2分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 529、プロダクトイオン 396、134

保持時間の目安：9分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

セフキノムを試料から*n*-ヘキサン存在下でアセトニトリル、ギ酸及び水（900 : 1 : 100）混液で抽出する。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ①セフキノムはメタノール溶液中で不安定なため留意すること。
- ②セフキノムのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 529、プロダクトイオン 134
確認イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 529、プロダクトイオン 396
- ③抽出において濃縮後に水20 mLを加えて溶解する操作では、食品によっては不溶物が存在するので、セフキノムの溶解を助けるために超音波処理を行いよく混合する。この場合には、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムへの負荷は、懸濁状態で行う。

11. 参考文献

なし

1 2. 類型

C