

LC-MS/MS による加工食品中セレウリド迅速分析法

(2021年3月25日受付)

(2021年6月28日受理)

河野嘉了、佐藤秀樹、古賀舞香、松永典久、日高千恵、中牟田啓子

福岡市保健環境研究所

Rapid method of cereulide analysis in processed foods using LC-MS/MS

(Received March 25, 2021)

(Accepted June 28, 2021)

Yoshinori Kawano, Hideki Sato, Maika Koga, Norihisa Matsunaga, Chie Hidaka, Keiko Nakamuta

Fukuoka City Institute of Health and Environment

Abstract

A rapid and simple method was developed for the determination of emetic toxin (CER; cereulide) produced by *Bacillus cereus* in processed foods. CER was extracted using 70% hydrated acetonitrile and *n*-hexane. The *n*-hexane layer was separated and evaporated. The residue was redissolved in acetonitrile and defatted with *n*-hexane saturated with acetonitrile, and the acetonitrile layer was then analyzed using LC-MS/MS. To validate this method, foods that cause food poisoning by *B. cereus*, including cooked rice, fried rice, pilaf, and pasta, were spiked with 1 ng/g or 100 ng/g CER, and recovery tests were performed. CER recovery rates from these 4 processed foods were 75%–92% at 1 ng/g, and 70%–91% at 100 ng/g with satisfactory repeatability and all other parameters. It was possible to detect CER in fried rice about 6 hours after inoculation with *B. cereus*.

Keywords: セレウリド、加工食品、チャーハン、高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 cereulide, processed food, fried rice, LC-MS/MS

I 緒言

セレウス菌は好気性の桿菌であり、食料、飼料中や自然環境中に広く分布している。セレウス菌による食中毒は、嘔吐型と下痢型があり、国内においては、嘔吐型が大半であり、事例数は少ないものの毎年発生している¹⁻³⁾。嘔吐型食中毒の原因は、セレウス菌が産生する嘔吐毒セレウリド（以下、CER）であり⁴⁻⁶⁾、CERは耐熱性を有していることから、通常の加熱等の調理では分解されず、再加熱した食品を喫食し発症した事例もある⁷⁾。

食中毒が発生した場合、迅速な原因の特定は、被害の拡大、再発防止の観点から非常に重要である。セレウス菌による嘔吐型食中毒発生時の検査法として、患者便、吐物または食品等からセレウス菌を検出する方法や、遺伝子検査により CER 合成遺伝子の有無を確認する方法がある¹⁾。しかし、いずれの方法も毒素を分析する手法ではないため、CER を原因とする食中毒を直接明らかにするものではない。さらに、加熱調理等により菌が死滅し培養できない場合もあるため、毒素である CER を迅速に

分析する方法が原因特定に非常に有効である。

CER 分析法としては、Hep-2 細胞に対する空胞化変性活性を測定する方法⁸⁻¹⁰⁾があるが、空胞化の判定に技術を要し、分析に数日を要する。近年、CER の標準品が安定的に販売されるようになり、迅速性および定量性に優れた高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（以下、LC-MS/MS）を用いて測定する方法^{11, 12)}が報告されている。これらの報告では、食品中に塩類や脂肪等多くのマトリックスが含まれるため、精製に固相カラムを用いているが、複数の溶媒を用いたコンディショニングや洗浄等の操作が必要であり、分析対象食品によっては目詰まりが生じる可能性もある。また、溶出後の溶媒である水・メタノール混合溶液の濃縮には時間を要する。

そこで、セレウス菌が原因と疑われる嘔吐型食中毒発生時を想定し、加工食品中の迅速な CER 分析法を開発した。水、アセトニトリル、*n*-ヘキサンによる液液分配のみで抽出および精製を行った後に、LC-MS/MS で分析する簡便な分析法で、食中毒事例として報告がある米飯、チャーハン、ピラフおよびパスタを対象に添加回収試験