

(様式第4号)

## 調査研究完了報告書

調査研究課題	セレウス菌嘔吐毒セレウリドの HPLC 検出法による簡便化の検討
研究期間	平成20年度～21年度 2年間
目的	LC/MS(/MS)による高感度なセレウリド測定法は、抽出操作が煩雑で高価な機械を使用するため普及していない。セレウリド定量法の改良と操作法の簡便化を図ることにより、HPLC-UV 測定法による定量法を確立し食中毒原因の迅速な判定ならびに食の安全・安心確保に寄与することを目的とする。
得られた成果	培地・食品からのセレウリド抽出方法の改良を試みアセトニトリル抽出後減圧乾固し、50%メタノール 2ml に再溶解した全量を Oasis MAX または Oasis HLB に負荷し、50%メタノール 3ml 洗浄後、Oasis MAX では 80%メタノール 3ml で溶出、または Oasis HLB では 80%メタノール 3ml 洗浄後、95%メタノールで溶出という条件でどちらも 90%以上の回収率であった。また、HPLC-UV 法によるセレウリド測定条件を検討し、カラム：Ascentis Express C18(2.7 $\mu$ m 150 $\times$ 2.1mm)、カラム温度：60 $^{\circ}$ C、移動相：0.1%ギ酸 90%メタノール、流量：0.4ml/min または移動相：0.1%ギ酸 86%メタノール、流量：0.5ml/min(夾雑物が多い場合)により定量限界 1 $\mu$ g/ml でセレウリドを定量で来た。この抽出・測定法を使用することにより、2,852 検体から分離した嘔吐毒産生セレウス菌 9 株が培地 1ml あたり 1.1 $\mu$ g $\sim$ 20.4 $\mu$ g のセレウリドを産生することを検証した。食品中からの回収についても 80 $\sim$ 90%の回収率を示した。これらの結果から改良抽出・測定法は実際の培地・食品中のセレウリド量を測定可能であることが分かった。セレウス菌嘔吐毒セレウリドは非常に安定な物質であり、食品・培地中のセレウリド量測定はきわめて重要で、今回の簡便な測定法は食品の安全性確保に寄与すると考えられる。
成果の普及・活用方法	分離菌株および原因食品中のセレウリド量を簡便に測定でき、セレウリド産生セレウス菌による食中毒等の早期原因究明に役立つものとする。これらの成果は、本年度の当所年報に掲載予定である。
残された課題・問題点	

※ 研究成果等の資料があれば添付すること。