

食品産業における MALDI-MS 微生物同定の展開

1980年代後半に実用化されたMALDI-MSは、ポリマーなどの化学品の分析に用いられてきた。その後、タンパク質の分析法が開発され、生化学分野の研究は大きく進展した。2010年頃になると、この技術を応用した微生物同定法が、臨床分野や食品分野において盛んに活用されるようになってきた。本稿では、HACCPに代表される食品安全の取組みにおける微生物同定の重要性、MALDI-MSによる微生物同定の原理と応用、更に最近の産学官の取組みについて解説する。

宮 下 隆

1 はじめに

近年の食品にまつわる事件事故は、1990年代頃からサルモネラ等の微生物が原因となった食中毒が多発し、1996年には腸管出血性大腸菌O-157による大規模食中毒で9000人以上の感染者を出した。その後2000年に入り、牛海綿状脳症(BSE)問題、黄色ブドウ球菌による大規模食中毒、輸入農産物の残留農薬基準値超過による回収の多発、異物の混入など、食品にまつわる事件・事故などが多発し、消費者の食と食品への不安は増大してきた。

このような食の安全安心への関心の高まりや食品の安全性確保の国際的な動きとして、食品事故リスク防除等を目的に、2021年6月よりすべての食品事業者に対し食品衛生法のもと、HACCP(hazard analysis and critical control point: 危害要因分析重要管理点)に沿った衛生管理の制度化が開始された。

HACCPとは、危害要因を解析しそれを重要管理点として食品事故を防止する方法である。この方法は、Codex(コーデックス委員会)およびFAO/WHO合同食品規格プログラムにおいてガイドラインが設定され、他国においては既に導入している国も多く国際的に認められている。

その危害要因としては、化学的危険(残留農薬、アレルギー混入等)、物理的危険(異物混入等)、生物学的危険(微生物等)に分けられる。特に消費者の健康に重篤な危険を及ぼす生物学的危険は細菌性食中毒であり、製品としての機能を著しく低下させる食品腐敗も防止する必要がある。

地球上に微生物は300万種が存在すると言われている。食品産業では危険となる微生物はその一部の微生物が対象となる。食品のカテゴリー(例えば、飲料、加工

食品、調味料、惣菜など)ごとに内容物の特徴(食塩量、pH、食品添加物など)、製造方法(加熱殺菌温度、無菌充填など)、容器形態(密封容器、勘合容器)、更に保管流通温度(常温、チルド、冷凍)ごとに危険となる菌種も変わる。

HACCPにおける微生物危険の防除では、その危険に対応した微生物制御が必須であり、そのためには例えば日々の検査において製造工程や原料、製品から検出した菌種の同定は必要な情報となる。そのような情報を積み重ね、品質保証や製品開発に活用することが事故未然防止として重要となってきている。

2 微生物同定とは

微生物は地球上で最も古い生物である。それらが進化してきた道筋を「系統」といい、その系統での類縁関係の近さ遠さを表したものを「分類」という。つまり「分類」とは特定のグループごとに生物を整理したものを指す。微生物の同定とは、対象となる微生物が分類された生物の中のどのグループに含まれるかを決定することである。

細胞核を持たない生物(原核生物)である細菌は、真正細菌(Bacteria: いわゆる細菌)と古細菌(Archaea)の2界(Kingdom)に大別され、門(Phylum)、綱(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、種(Species)、更に株(Strain)の順で細分される。

学名とは、生物につけられた世界共通の名称で、種の学名(種名)は属名と種小名で構成される。例えば、*Lactobacillus brevis*(ラクトバチルス ブレビス)や*Clostridium botulinum*(クロストリジウム ボツリヌム: 一般にボツリヌスと呼ばれる)がそれにあたる。

2・1 なぜ微生物同定が必要か

微生物の種名を特定するため、数々の手法を用いて同定を行う。特に食品から検出した微生物については、種名を明らかにすることで、人への危険の有無が判断で

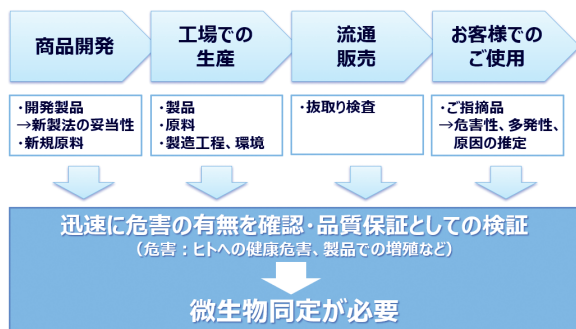


図1 フードサプライチェーンにおける微生物検査の必要性

き、また微生物が原因となった食品の品質劣化（いわゆる腐敗）については、フードチェーンにおける原因究明につなげることが可能となる（図1）。

更に、その特定された種名の性状や特徴を調べることで、微生物が混入や増殖した原因（汚染経路の特定、加工条件、加熱殺菌条件など）を特定すること、原因となった微生物の性状（発育温度、発育 pH、耐熱性など）も調査することで、真の原因追及と対策により再発防止につなげることができる。

つまり微生物同定は、「食品安全の確保」における重要な調査の一つとなる。

2.2 様々な微生物同定方法

ひとくちに微生物同定といってもその方法には、(a) 形態観察、(b) 生化学性状、(c) 遺伝子解析、(d) タンパク質解析と様々な方法がある。

これらは、属名、種名など、どのレベルまで調査するかによって方法を選択する。一般に細分化に応じて、大型の装置が必要となり、試験が煩雑になる。

(a) 形態観察

試料から対象菌を培地上に発育させて分離する「分離培養」を行い、菌の培地上での特徴（コロニーの形状や色、大きさ等）、顕微鏡観察での各細胞の形態や運動性について観察を行う。

- ・球状菌（連鎖球菌、ブドウ球菌）。
- ・桿状菌（短桿菌、長桿菌）。
- ・らせん状菌（らせん状、コンマ状）。

更に染色性を行い顕微鏡観察にて観察することで、グラム陽性・陰性の判別を行うことができる。簡易的なグラム判別としての劉の方法もある。

ただし、この方法では、属などの判別はできない。

(b) 生化学性状

上記の分離した菌を用いて、カタラーゼ試験、運動性、糖類の分解（資化）、ガスの発生、生育可能な温度、生育可能な pH、特異抗体を用いた血清学的性状（血清型）等を行う。これらの多くは、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology に記載されて

いる。

このような試験には、膨大な種類の培地の作成が必要になり、また培養を行いながら実施するため3日程度を要し、更に一部の試験は高度の技術と専門性が要求される。こうした問題を解決することを目的に、数社より同定キットが開発され、細菌を中心とした微生物の検査に広く利用されている。結果の精度は、種が近い場合は生化学性状も似るため、この方法のみでは菌種同定ができない場合もある。

(c) シーケンサーによる遺伝子解析

属名種名の判別においては、核酸（DNA/RNA）を用いた分子生物学的な方法が微生物同定の主流になっている。これは、キャピラリーシーケンサーを用いたサンガー法により、核酸の塩基配列の並びを比較する方法（塩基配列解析法）である。

塩基配列解析では一般的には rRNA 遺伝子（rDNA）が広く利用され、細菌では 16S 等、真菌では LSU-D1/D2 領域や ITS 領域等が用いられている。塩基配列解析法では、対象となる微生物の特定領域の塩基配列を決定し、国際塩基配列データベース連携 INSDC（international nucleotide sequence database collaboration）と連携している DDBJ（DNA data bank of Japan）などの遺伝子配列のデータベースとの一致率を比較することにより同定を行っている。

この方法は、客観性や再現性、同定精度の面で優れているため、微生物同定における強力なツールとなっている。しかし、同定までに8時間程度を要するため、更なる迅速化が望まれている。

近年は、次世代シーケンサー（NGS：next generation sequencing）を使用した微生物の全塩基配列（全ゲノム）を解析し、事故解明する動きが始まっている。NGS では、ゲノム全体の比較ができるため、特定の部分塩基配列の比較だけでは難しかった菌株比較や菌種同定、進化系統、感染経路の推定などができるようになり実用されている。ただし、遺伝子のデータ量が大きく解析の際に「微生物」と「情報処理」の両方の専門知識となるバイオインフォマティクスが必要なこと、試薬が高価であることから、更なる技術革新が求められている。

(d) MALDI-MS によるタンパク質解析

微生物の菌体中に存在しているリボソームタンパク質をマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析計（MALDI-MS：matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry）により解析するプロテオーム解析である。ゲノム解析とは異なる方法であるが、既存の 16SrRNA 塩基配列解析等と高い相関が得られる特徴がある。

相関が高い理由は、DNA は生命現象の中で重要

な働きをするタンパク質の設計図であるが、直接 DNA からタンパク質を合成することはできない。DNA 上の情報は、いったんメッセンジャー RNA (mRNA) に転写され、翻訳という過程を経てアミノ酸がたくさん連なったタンパク質を合成する。この翻訳で重要な働きをするのがリボソームとトランスファー RNA (tRNA) である。リボソームは mRNA をくわえ込み、アミノを運ぶ tRNA は、その中で mRNA のコドンを認識し、リボソームの酵素作用によって隣り合ったアミノ酸がペプチド結合によりペプチドとなり、さらにタンパク質となる。リボソームは、数本の RNA 分子と 50 種類ほどのタンパク質からなる巨大な RNA・タンパク質の複合体である。全体として大小二つの粒子に分かれ、それぞれ 50S サブユニット、30S サブユニットと呼ばれている。先に記述した遺伝子解析の 16S は、この 30S サブユニットに相当することからも、遺伝子解析との相関性が高いことが分かる (図 2)。

したがって、微生物ごとに遺伝子が異なるように微生物ごとにリボソームタンパク質が異なるため、MALDI-MS での質量スペクトルも異なり、 m/z の違いで菌種の同定が可能になる (図 3)。

微生物同定に MALDI-MS が利用された理由は以下の通りである。

- ・イオン化において多価イオンを生成しにくく、質量スペクトルがシンプルで解析しやすい。
- ・解析可能なタンパク質の範囲は、 m/z 2000~20000 であり、この質量範囲でリボソームタンパク質が測定しやすい。
- ・リボソームタンパク質は、菌体内での発現量が多く測定対象として向いている。
- ・リボソームタンパク質は、塩基性の成分が多く質量分析におけるイオン化効率が高い。

2・3 MALDI-MS による微生物同定方法

微生物同定は、分離菌株から得られた MALDI-MS のスペクトルパターンをソフトウェアに登録されたライブラリーとフィンガープリントさせることにより、属や種、更に株の識別を行う。

2・3・1 菌体試料の前処理

測定には、何れの方法にも単離培養したコロニーや液体培地にて培養した液が必要となり、以下のような方法で前処理・結晶化を行い測定する。

(a) セルスメア法

コロニーを質量分析用プレートに直接塗布し乾燥させた後、マトリックス試薬 (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA)) 1 μ L 添加し乾燥・結晶化させたものを測定 (図 4)。

(b) ギ酸法

コロニーを質量分析用プレートに直接塗布し 70% ギ酸 1 μ L を添加し乾燥、CHCA 1 μ L を添加し乾燥・結晶化させたものを測定。

(c) ギ酸-エタノール抽出法

1.5 mL マイクロチューブにいた滅菌蒸留水 300 μ L に少量のコロニーを懸濁しエタノール 900 μ L を加えて攪拌、15000 \times g で 2 分間遠心分離し、沈渣に 70% ギ酸 40 μ L とアセトニトリル 40 μ L を加えて攪拌、15000 \times g で 2 分間遠心分離、上清 1 μ L を質量分析用プレートに添加し乾燥させた後、CHCA 1 μ L を添加して乾燥・結晶化させたものを測定。

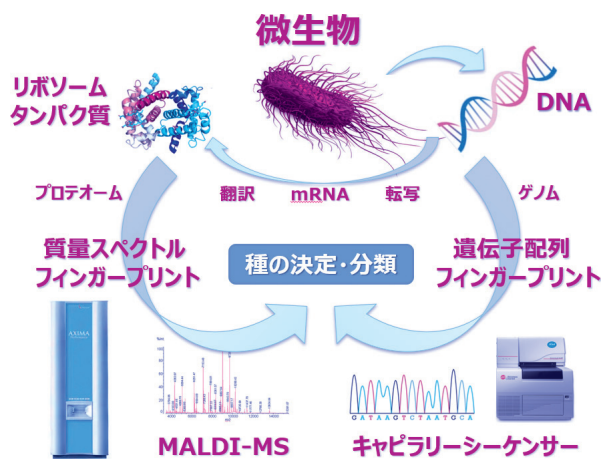


図 2 MALDI-MS とキャピラリーシーケンサーによる微生物同定

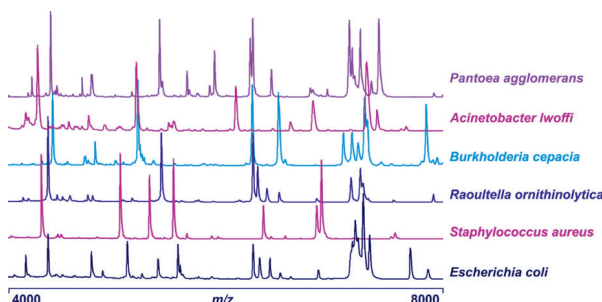


図 3 微生物毎に異なる MALDI-MS スペクトル

出典：バイオメテック・ジャパン(株)より提供

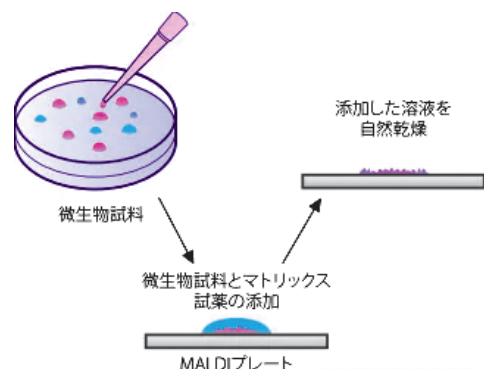


図 4 MALDI 用プレートの微生物処理

出展：株島津製作所より提供

2・3・2 フィンガープリント法による MALDI-MS での測定・解析

これら、前処理したプレートを MALDI-MS の装置に導入し、微生物同定専用の PC ソフトにてシステムチックに測定・解析・判定を行う。

測定において、菌体のリボソームタンパク質のイオン化では、エネルギーの高いレーザーを直接当てると分解してしまうため、マトリックスを混合することでレーザー光線がマトリックスにより吸収され、タンパク質のイオン化が可能になる。イオン化したタンパク質は真空中で飛ばされ、同じ電荷であれば、小さい分子は大きい分子よりも早く検出器に到達する。この飛行時間の差から質量を換算し、質量と相対強度をグラフ化したものがスペクトルで、このスペクトルのパターンにより菌種を同定する。この一連の動作を 1 サンプルあたり 5 分程度と極めて短いといった特徴がある。

例えば、大腸菌 (*Escherichia coli*) であれば、菌をそのままマトリックスと混ぜたものを測定し、横軸に質量、縦軸に強度としてグラフ化する (図 5)。これを *E. coli* のデータとしてスペクトルデータベース (DB) に登録し、検体 (未知の微生物) から得られたスペクトルパターンが一致した場合は *E. coli* として同定される。

このスペクトル DB は、微生物同定システムとして PC 内に格納しており、分析機器メーカー間の差もあるが 15000 株以上との照合が可能となる。

2・3・3 バイオマーカー法による MALDI-MS での測定・解析

フィンガープリント法では識別困難な微生物については、各微生物に特異的なタンパク質を検出する方法としてバイオマーカー法を用いることで同定が可能となる。

寺本らは、精製したリボソームタンパク質に注目した MALDI-MS 解析法を開発した¹⁾。これは、ゲノム解読された近縁微生物の情報を参考にリボソームタンパク質を同定し比較解析する方法である。本方法はメーカーの違いに依存しない点、培養条件に比較的左右されないという点で他の方法より優れているが、迅速性が失われるといった点もある。

また、田村らによって開発された S10-GERMS 法 (S10-spc-alpha operon gene encoded ribosomal protein mass spectrum) は、塩基配列より算出されたりボソームタンパク質の理論質量をバイオマーカーとして同定する²⁾。本方法は、遺伝子配列を基準とした理論的根拠に基づく同定方法であるため、MALDI-MS での実証が不可欠である。この知見が多く集まりデータベース化されることが望まれる。

2・4 質量分析計による微生物同定の歴史

質量分析計での微生物同定の歴史は古く、1950 年代にさかのぼる。Anhalt らが 1975 年に発表した質量分析計を用いた微生物同定法は、凍結乾燥させた微生物を質量分析計に直接導入し測定する方法であった³⁾。また微生物由来の脂肪酸組成に注目した報告も多くなされた⁴⁾。

その後、田中らのソフトレーザー脱離イオン化法の開発により、タンパク質を壊さずにイオン化することが可能となり生化学の分野は飛躍的に進展した⁵⁾。

1990 年代には、微生物種や株ごとに細胞のタンパク質構成が特異的であることに着目し、MALDI-MS を用いた微生物の識別・同定法が開発された。

Cain らによって 1994 年には CHCA 等をマトリックスとして用いたタンパク質プロファイリングが微生物の同定に有用であることが示された⁶⁾。

その後、特別な前処理なしにコロニーから直接質量分析用のプレートに塗布し測定できる方法が開発され実用化が大きく前進した⁷⁾⁸⁾。2009 年には臨床の細菌検査室で運用されはじめ、現在では臨床検査室に必須の機器となっている。

また時を同じくして、食品由来の微生物を研究する大学や企業を中心に、この技術の検討がなされてきた。

佐藤らは、2011 年に食品製造において重要な危害菌 (腐敗菌) となる *Lactobacillus fructivorans* について、MALDI-MS を用いた同定とタイピングが可能であると示している。主要な *Lactobacillus* 属を測定し、*L. fructivorans* の識別ができること、培養日数でのスペクトルと同定率の差

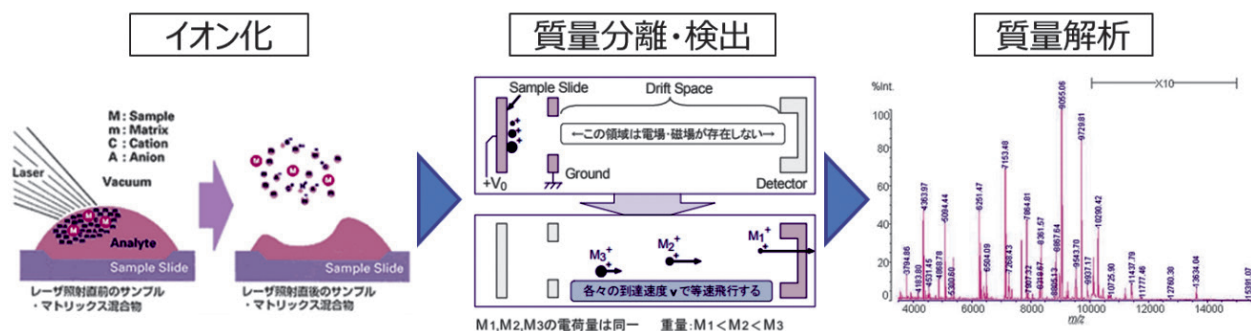


図 5 MALDI-MS での大腸菌の測定
 出展：株島津製作所より提供

の確認，系統樹解析法により異なる *L. fructivorans* 株の差の判別も可能としている⁹⁾。

3 食品安全への応用

食中毒とは，人に健康被害を及ぼす可能性のある細菌やウイルスが付いている食品，あるいは有害な物質が混入または含まれている食品を食べることによっておこる健康障害をさす。

食中毒の分類は以下の通りとなる。

(1) 細菌性食中毒

感染型：細菌が付いた食品を食べることにより発病する。病原性大腸菌，カンピロバクター，サルモネラ，セレウスなど。

毒素型：食品に付いた細菌が増殖する過程で毒素を作り，この毒素が付いた食品を食べることにより発病する。黄色ブドウ球菌，セレウス，ボツリヌスなど。

(2) ウイルス性食中毒

ノロウイルス（小型球形ウイルス）など。

(3) 自然毒食中毒

動物性：フグ毒，貝毒など。

植物性：カビ毒，有毒山野草，毒キノコ，ジャガイモの芽など。

(4) 化学性食中毒

農薬，殺鼠剤，重金属（ヒ素，鉛など），ヒスタミンなど。

(5) 寄生虫

クリプトスポリジウム，アニサキスなど。

微生物が関与する食中毒は，微生物が体内に入り腸管内等で増殖し毒素産生などにより発症する場合や，食品中で微生物が増殖し毒素を産生し発症する場合がある。

上記の食中毒の原因となった微生物の同定や毒素の検出においても MALDI-MS が使用されている。

本稿では，セレウス，黄色ブドウ球菌，ボツリヌス，カビ毒について解説する。

3・1 細菌性食中毒となる原因微生物の同定と原因毒素の検出

3・1・2 セレウスの微生物同定とセレウス毒素の検出

セレウス (*Bacillus cereus*) は，土壌細菌のひとつで，土壌・水・ほこり等の自然環境や農畜水産物等に広く分布しており，耐熱性のある芽胞を形成する。

本菌による食中毒は「嘔吐型」と「下痢型」に大別され，どちらか一方の性質を持つ。

嘔吐型食中毒は，セレウスに汚染された食品中で産生された毒素（セレウリド）の摂取によって起こる。

下痢型食中毒は，食品とともに摂取した本菌が小腸で増殖し，産生される毒素によって発症する¹⁰⁾¹¹⁾。

セレウスの菌種同定は，一般に行われている 16rRNA 塩基配列解析では，セレウスの類縁菌（セレウスグループ 8 種：*Bacillus anthracis*, *Bacillus pseudomycoloides*, *Bacillus mycoloides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Bacillus cytotoxicus*, *Bacillus toyonensis*, *B. cereus*) の分別が困難である。食品分野でのリスク管理の面から *B. cereus* の判別が必要である。そのセレウスグループの判別として，類縁菌特有のバイオマーカーを設定し，MALDI-MS にて高精度に判別することも運用されている¹²⁾。

一方，嘔吐型の原因となるセレウリドは熱に強く，126℃ 90 分でも失活しない。日本では嘔吐型の食中毒が多く，チャーハン，ピラフなどの焼飯類が原因食品となるが，欧米で発生は下痢型の食中毒が多い。

セレウリドは，液体クロマトクロマトグラフィー-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) で高感度に測定することが知られているが，前処理が煩雑であること，セレウリドの特性として疎水性であることから試験中に器具への吸着などの課題があった。そこで，MALDI-MS にて簡易的に定性的な分析も報告されている¹³⁾。更に，高橋らによりこれらの菌種と毒素の同時に検出する試みもされている¹⁴⁾。

3・1・2 黄色ブドウ球菌毒素の検出

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は，顕微鏡で見ると，ブドウの房のように集まっていることから命名された。本菌は，食中毒の原因となるだけでなく，おでき，にきびや，水虫等に存在する化膿性疾患の代表的な起因菌である。そのため，健康な人でものどや鼻の中などに高率で検出され，動物の皮膚，腸管，ホコリの中など身近にも存在している。

食品中で増殖するときに毒素（エンテロトキシン）をつくり，この毒素を食品と一緒に食べることにより，嘔吐や下痢を伴う急性胃腸炎症状を発症する。

菌自体は熱に弱い，この毒素は 100℃ 20 分の加熱でも分解されないため，食品から菌は検出されないが，毒素のみ検出されることがある。ヒトへの発症毒素量は数 100 ng～数 μg と推定されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

従来このエンテロトキシンの検出は，酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA 法) で検査することが多かったが，常に測定キットを準備する必要があること，多くの毒素型を測定することができないといった課題があった。現在では，MALDI-MS にて簡易にエンテロトキシンの有無を判別でき，また *m/z* の違いにより毒素型の識別が可能となった¹⁷⁾。

3・1・3 ボツリヌス毒素の検出

ボツリヌス食中毒は，ボツリヌス (*Clostridium botulinum*) が産生するボツリヌス神経毒素 (BoNT: botulinum neurotoxin) によって起こる全身の神経麻痺を生じる神経中毒疾患である。

本菌は，耐熱性の芽胞を形成する偏性嫌気性グラム陽

性桿菌で、土壌や湖沼などに広く分布している。芽胞が含まれた食品が、真空パック詰食品などの「酸素の少ない状態」になると、食品内で芽胞が発芽し BoNT が作られる。

日本では、1984年の真空パック詰にしたカラシレンコンが原因となった食中毒事故が知られている。同様の事故としては、ハヤシライスの具、あずきばっとう（ぜんざいにうどんが入った郷土食）があり、自家製の発酵食品（いずし）の事例もある。乳児ボツリヌス症は、生後1年未満の乳児が芽胞を経口的に摂取した場合、乳児の消化管内で菌が増殖し BoNT が産生されにより発症する。

BoNT の検出では、通常、マウスバイオアッセイが用いられるが、Perryらにより MALDI-MS を用いたタイプ別検出方法を確立され、マウスバイオアッセイなしに BoNT のタイプ分けが可能となった¹⁸⁾。また、門間らは、エンドペプチダーゼ質量分析法（Endopep-MS 法）による BoNT の検出について、日本で発生した事例株での検証を行った¹⁹⁾。本法は、マウスバイオアッセイに比べ迅速な対応ができ、更に検査精度と感度が優れている。測定原理は、BoNT がエンドペプチターゼ（非末端のペプチド結合を加水分解するタンパク質分解酵素）活性を有することを利用し、タンパク質を低分子化させ MALDI-MS で検出する方法である。

このように、エンドペプチターゼ活性を有するタンパク質は、簡便に検出ができるため、技術展開が期待される。

3・2 自然毒素の検出

カビ毒の検出は一般に、試料精製後に LC-MS/MS 等で測定する。この方法は極微量まで高精度に測定できる反面、時間がかかり操作が煩雑であるため、より簡便化されたスクリーニング法が求められている。Hlebaらは、MALDI-MS による簡便で迅速な測定法を開発した²⁰⁾。

また、上原らは、アフラトキシンを産生するカビ *Aspergillus flavus* 培養液の上清のからアフラトキシンを検出が可能になったとことを報告している²¹⁾。

4 おわりに

本稿では、MALDI-MS の食品微生物の安全性検証への展開について解説した。MALDI-MS は、簡便・迅速・安価・高精度に微生物同定が可能となる方法であり、食品の試験室ではなくてはならない存在となっている。

しかし、その同定精度はスペクトル DB に依存しているため、より多くの菌種、菌株での拡充が必要である。筆者の経験からであるが、分譲株と食品から検出された野生株では、若干のスペクトルの違いがあるため、その両方を入れ同定することが肝要と考える。

スペクトル DB の拡充は、機器メーカーにおいても常に新たな微生物の情報を追加し、またそれぞれの検査室・研究室毎においても追加し、同定精度の向上を行っている。

日本では、それをサポートする動きとして、独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター（NITE/NBRC）で保有している菌株のスペクトル DB を一般に公開している。更に、産学官連携の「MALDI-MS 微生物同定コンソーシアム」が立ち上がり、本技術の標準化の検討やスペクトル DB の共有化が行われている。また、技術者の意見交換や技術の展開の場として「MALDI-MS 食品微生物研究会」も立ち上がり、企業や大学、地方衛生研究所など多くの技術者が参画し議論がなされている。特に食品安全の研究者、品質保証担当者において注目されている技術となっている。

今後、本技術の更なる普及と認知、スペクトル DB の充実、機器のユーザビリティの向上、そして本技術の利用者が増加することで、HACCP における微生物に関するエビデンスや知見が増し、食中毒や微生物腐敗などの安全性が脅かされる事件や事故が減少し、誰もも食品の安全について安心できることを願っている。

また、この MALDI-MS による食品分野の展開については、牛豚鶏などの肉種判別、魚種判別、チーズの乳種判別、毛の動物種判別、食用植物油の重合物判別などにも応用されている。

更なるイノベーションや技術革新、研究が発展することを期待している。

文 献

- 1) 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 孫 麗偉, 鳥村政基, 田尾博明: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **55**, 987 (2006).
- 2) H. Sato, M. Torimura, M. Kitahara, M. Ohkuma, Y. Hotta, H. Tamura: *Syst Appl Microbiol.*, **35**, 447 (2012).
- 3) Anhalt, J. P., Fenselau: *Anal. Chem.*, **47**, 219 (1975).
- 4) S. DeLuca, EW. Sarver, PD. Harrington, K. Voorhees: *Anal Chem.*, **62**, 1465 (1990).
- 5) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
- 6) T. C. Cain, D. M. Lubman, W. J. Weber Jr.: *Rapid Commun Mass Spectrom.*, **8**, 1026 (1994).
- 7) R. D. Holland, J. G. Wilkes, F. Rafii, J. B. Sutherland, C. C. Persons, K. J. Voorhees, J. O. Lay Jr.: *Rapid Commun Mass Spectrom.*, **10**, 1227 (1996).
- 8) M. A. Claydon, S. N. Davey, V. Edwards-Jones, D. B. Gordon: *Nat Biotechnol.*, **14**, 1584 (1996).
- 9) 佐藤美紀, 宮下 隆, 高橋 肇, 木村 凡: 第102回日本食品衛生学会学術講演会要旨集, (2011).
- 10) 上田成子: 食中毒予防必携第2版, 113 (2007).
- 11) 河合高生, 浅尾 務: 食品由来感染症と食品微生物, 439 (2009).
- 12) Y. Hotta, J. Sato, H. Sato, A. Hosoda, H. Tamura: *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 5222 (2011).
- 13) P. J. Ducrest, S. Pfammatter, D. Stephan, G. Vogel, P. Thibault, B. Schnyder: *Scientific Reports*, **9**, 5814 (2019).

- 14) N. Takahashi, S. Nagai, A. Fujita, Y. Ido, K. Kato, A. Saito, Y. Moriya, Y. Tomimatsu, N. Kaneta, Y. Tsujimoto, H. Tamura: *Food Microbiol.*, **2020**, 103542.
- 15) 品川邦汎: 食中毒予防必携第2版, 63 (2007).
- 16) 重茂克彦: 食品衛生研究, **59**, 17 (2009).
- 17) J. Tonacini, D. Stephan, G. Vogel, M.-A. Avondet, F. Kalman, J. Crovadore, F. Lefort, B. Schnyder: *Toxins*, **11**, 101 (2019).
- 18) M. J. Perry, D. A. Centurioni, S. W. Davis, G. E. Hannett, K. A. Musser, C. T. Egan: *Toxins (Basel)*, **9**, 94 (2017).
- 19) 門間千枝, 上原さとみ, 浅山睦子, 岡田若葉, 横山敬子, 鈴木 淳, 貞升健志, 幸田知子, 向本雅郁, S. R. Kalb: 第42回日本食品微生物学会学術総会要旨集, (2021).
- 20) L. Hleba, M. Cisarová, M. A. Shariati, D. Tančinová: *J Microbiol Biotech Food Sci.*, **7**, 181 (2017).
- 21) 上原さとみ, 高橋由美, 吉原祥子, 千葉隆司, 鈴木 淳, 貞升健志: 第45回日本防菌防黴学会年次大会要旨集, 1P-Cp18, (2018).



宮下 隆 (Takashi MIYASHITA)
 キューピー株式会社品質保証本部食品安全科学センター (〒182-0002 東京都調布市仙川町 2-5-7). 《現在の研究テーマ》食品安全における有害物質および有害微生物の迅速で網羅的な検出法の開発. 《主な著書》食品衛生検査指針 理化学編追補 2019 第10章異物, 公益社団法人日本食品衛生協会. 《趣味》甘味とカツ丼の食べ歩き.
 E-mail: takashi_miyashita@kewpie.co.jp

『ぶんせき』再録集 vol. 1 出版のお知らせ

ぶんせき誌の過去記事の有効利用の一環として、『ぶんせき』再録集 vol. 1 が出版されました。2011年から2020年まで、10年間分の〈ミニファイル〉の記事が詰まっています。

下記10章からなり、それぞれ12から14の話題が集められています。

1. 実験器具に用いられる素材の特徴, 2. 分析がかかわる資格, 3. 顕微鏡と画像データ処理, 4. 最新のweb文献検索データベース, 5. ポータブル型分析装置, 6. 分析化学と材料物性, 7. 分析化学者のための多変量解析入門, 8. 土壌分析, 9. サンプリング, 10. 前処理に必要な器具や装置の正しい使用法。

本書はアマゾンオンデマンド出版サービスを利用して出版した書籍ですので、書店には並びません。アマゾンサイトからのネット注文のみとなりますので、ご注意ください。詳しくは「ぶんせき」誌ホームページをご確認ください。