



## 洗浄度チェック用「プロチェック E-W」を用いた たんぱく質ふき取り法による食品製造環境の 衛生管理に関して

(株)日研生物医学研究所 加藤 孝広・菅沼 由樹子

### はじめに

「食の安全」を確保する——衛生的かつ安全な食品を製造することが、製造者に求められている。製造者としては、良質な原材料を衛生管理された施設設備で製造し、衛生意識の高い製造担当者を作業に従事させることが重要である。

これらの要因を客観的に検証する方法として、健康保菌者対策の検便検査や健康診断が実施されている。また二次的な微生物汚染を防ぐため、製造環境における施設や設備の衛生管理に、ふき取り検査やスタンプ検査での細菌検査による判定方法が行われている。

しかしながら、細菌の検出を目的とした検査は数日を要する。一方で商品の流通は、物流が発達した現在においては、消費者の手元に届くまでの時間が短縮された。これらの状況に対応するため、迅速な検査結果と微生物汚染が確認された際の早急な対応処置が重要となる。

こうした背景を踏まえ、さまざまな迅速検査方法が提案されているが、その多くは判定に必要な専用機器に高額な初期投資が必要であったり、試薬や検査キットが高価なため日常的な検査法としては採用されていないのが実情である。これらを解決するために、細菌培養を行わず、ふき取り法

で微生物増殖の温床となる残留たんぱく質を迅速かつ安価で洗浄度の確認に使用できる検査キット「プロチェック E-W」を製品化（2007年4月発売予定）した。

### 「プロチェック E-W」とは

本製品は、高価な専用機器や試薬を必要としない。また、細菌検査の技術修得をせずに、誰にでも製造現場のモニタリングが迅速に行えることを目的に開発されており、製造施設・設備等の洗浄度を、ふき取り対象物の表面に残存するたんぱく質を色素判定によって間接的に確認するものである。

### 色素反応のメカニズム

たんぱく質のアミノ基と試薬中の色素が結合したときに、色素本来の変色点（pH 3～4）が酸性側（pH 2～3）に移行するたんぱく質誤差法を利用している。色素自体の pH はたんぱく質結合前後でほとんど変化しないが、変色点が酸性側に移行するため、pH 3 付近であってもこの pH で示す色素本来の呈色（黄色）を示さず、本来は高めの pH で示される呈色（青緑色～青色）に変化する。なお「プロチェック E-W」に用いられている試薬に含まれる成分は、表 1 の通りである。

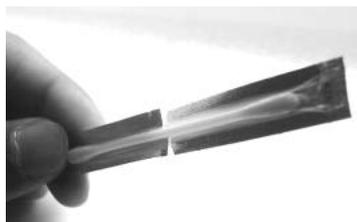
「プロチェック E-W」の本体は、反応試薬を含ませた綿棒が1本ずつ個別包装されたものであり、軽量でかさばらないため、保管や携行に便利である。

表1 「プロチェック E-W」の組成表

	含有量 wt%
無水エタノール	30~37
グリセリン	35~45
精製水	7~10
クエン酸一水和物	1.5~2
色素	0.05以下

### 「プロチェック E-W」 使用法と判定法

- ①製品の内包装の中央付近から切り裂き、包装の片方だけを取り除く(包装袋は捨てないように)。



- ②露出した綿球で検査対象部をふき取り、直ちに綿球部の色調を判定する。



- ③綿球の色調が「黄色」のままで変化しない場合は陰性と判定する(ふき取り箇所にとんぱく質がない)。
- ④綿球が「青緑色」に変化した場合は陽性と判定する(とんぱく質が存在していることを示しているため、再洗浄などの措置が必要である)。

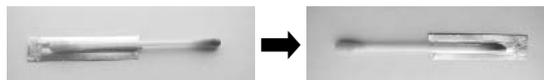
ふき取り後

黄色は陰性

青緑色は陽性



- ⑤先ほど外した包装袋を戻し、反対側の包装を外して綿球を露出させて別の対象部をふき取る(1本で2カ所の検査が可能)。



- ⑥データの管理には、前日(前回)に検査した時の綿棒を保存する。また、反応した綿球部をデジタルカメラ等で記録する。経時的なデータ管理も可能である。

### 「プロチェック E-W」の性能

#### ① 検出感度

牛血清アルブミンを指標とした場合、リン酸緩衝生理食塩水で段階的に希釈調製し、100cm<sup>2</sup>プラスチックプレートに塗布乾燥、「プロチェック E-W」で全面をふき取った試験では、ふき取り面積中に0.02mgのアルブミンが存在すれば陽性反応(青色~青緑色)を示し、微量の残留たんぱく質の検出が可能であった(図1)。

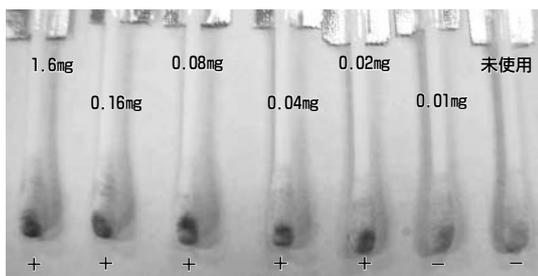


図1 牛血清アルブミンを指標とした検出感度

#### ② 牛乳を用いた試験

実際の食品における感度試験を市販牛乳を用いて実施した。方法は牛乳をリン酸緩衝生理食塩水で10段階に連続希釈(10<sup>-1</sup>~10<sup>-5</sup>)して希釈系列液を調製した。各希釈系列液1mlを100cm<sup>2</sup>のプラスチックプレートに塗布乾燥させて作製した試

料プレートの全面をふき取った。

その結果、 $10^{-1}$ ～ $10^{-3}$ まで陽性を示し、 $10^{-4}$ 以下では陰性であった（図2）。

このときのたんぱく質量を牛乳パックに記載されているたんぱく質量より換算すると、0.033mg以上で陽性となり、0.003mg以下で陰性となることを示す（表2）。この結果は、先に記述した牛血清アルブミンでの検出感度とほぼ一致した。

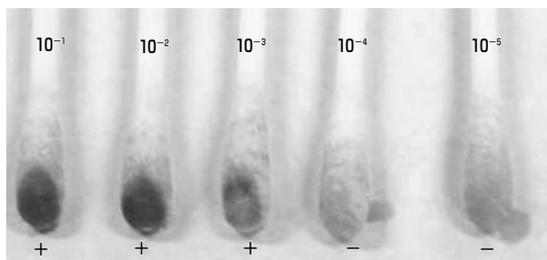


図2 牛乳を用いた検出感度

表2 牛乳における陽性反応とたんぱく質量

希釈濃度	たんぱく質量 (mg/ml)	呈色反応
$10^1$	3.25	+
$10^2$	0.325	+
$10^3$	0.033	+
$10^4$	0.003	-
$10^5$	0.0003	-

(原液たんぱく質量32.5mg/ml)

### 「プロチェック E-W」と他の迅速法との比較

「プロチェック E-W」と他の迅速法の操作手順とランニングコストは表3の通りである。

操作手順と操作時間では、すべて綿棒等でふき取り、機械あるいは目視の判定となり、簡単かつ短時間で実施される。また判定時間を比較すると、ATP ふき取り法は機種により異なるが、結果判定までに平均1～2分を要する。たんぱく質ふき取り法は、ふき取ったその場で判定が可能である。

ランニングコストの比較では、ATP ふき取り法や他社製品は、ふき取り1カ所あたりのコストが120～300円程度かかるが、プロチェック E-W（予定価格30円）では1本で2カ所ふき取りが可能のため、1カ所のコストは15円であり、ATP

表3 他の迅速法との検査操作と経費の比較

検査方法	手順・判定	コスト
ATP ふき取り法	専用スワブでふき取り→専用機器で判定（判定まで1～2分）	300円前後
たんぱく質ふき取り法（他社製品）	ふき取り後、試薬と反応させる（複数の反応試薬と反応させるものもある）目視判定	120～270円
たんぱく質ふき取り法（プロチェック E-W）	ふき取りのみ その場で目視判定	15円

ふき取り法や他社のたんぱく質ふき取り法と比較して大幅な経費節減が可能である。

### 「プロチェック E-W」の商品説明

#### ①2007年4月に発売予定の新商品

ふき取り法による衛生管理用試験キットをシリーズ化して順次発売予定。

#### ②価格は1本30円（1カ所あたり15円）

#### ③販売単位は600本（予定）

1本ずつ熱シール個別包装して200本をシート状にしたものをバリア性チャック式包材にて包装しており、保管や携行時に管理がしやすく紛失しにくい。

#### ④有効期限は6カ月間

室温にて遮光保管が必要。開封後はチャックを完全に閉めて密封し、乾燥を防いで保管すること。万一、綿球部が乾燥（淡橙色～赤色に変色）した場合は、アルコールを綿球部に吹き付けて、綿球部の色が黄色に戻れば使用可能。

#### ⑤反応した綿棒の保存

綿球に袋を被せた遮光状態で、反応後24時間は安定。

### おわりに

今回ご紹介した「プロチェック E-W」は、迅速性と低コストを実現させ、誰でも簡単に使用できることから、製造現場の管理者や、従事者の方々にもご使用いただけるものである。このことにより、製造に従事されている方々の衛生管理意識の向上にもお役立ていただきたい。