

タンパクふき取り法による自主衛生検査—食品製造現場での活用と有効性—

食品総合研究所
食品安全研究領域
食品衛生ユニット
川崎 晋

はじめに

食品の製造には様々な工程がある。原料の受け入れから始まって、洗浄、加工、殺菌、包装、そして出荷に至るまで、その工程は製造する食品について様々であるが、食品の製造ラインを常に清潔に保たなければならないのは、どの工程においても共通に当てはまることである。近年、食中毒の事例が数多く報告される中、食品製造業界においても如何に食中毒を未然防止するかという考え方が浸透しつつあり、自主的にさらなる衛生管理を行いたいという要望が高まっている。これまで「経験的に大丈夫」で済まされていた食品製造工程が、科学的に危険な作業工程を洗い出しその作業内容をマニュアル化するというように、具体的な対策までをも考えて実行されるようになってきた。中でも、食品製造ラインの洗浄度をモニタリングしたいという要望は企業からも強い。しかし、衛生環境を改善するためだけに検査管理項目を増やすことは大変であり、さらには労力だけでなく専門知識と技術を要求されるところが問題として残る。さらに、食品製造現場においては、誰にでも取り扱うことの出来る簡単で、特別な技術を必要としない製造ライン洗浄確認手法が求められる。特に重要なのは作業を始める直前に製造ラインが汚染されているか否かの判断であり、その場での判定結果により、洗浄をやり直すか決定しなければならない。その判定結果は主観的ではなく客観的な判定手法でかつ再現性のある科学的根拠に基づいた結果であることが望ましい。このようなニーズからタンパク拭き取り検査法による汚染判定法が開発されてきた。日常食品製造ラインなどで洗浄工程をモニタリングするために微生物検査が行われている中で、このような検査法がどのように活用できるか、その可能性を述べる。

タンパクふき取り検査法による迅速検査

タンパクふき取り検査法は、その名の通り、製造ラインに付着する汚染物質であるタンパク質の有無を迅速に捉えることで総合的な汚染度や洗浄度を迅速に評価する手法である。この方法は、結果がその場で判定できるために、製造ラインを使用する直前の汚染有無を確認できる手法となりうる。

現在、様々なタンパク拭き取り検査キットが販売されており、その検出原理はpH 誤差現象(タンパク質が存在するとアルカリ側に反応するpH 指示薬を用いてタンパク質を検出する)やビューレット反応によるものなどが挙げられるが、ここではpH 誤差現象による検出法について(図 1)示した。すなわち検査面を綿棒でふき取った後に、検出試薬と反応させることにより、目視で微量のタンパク質の有無を判定できる。このように、判定は 10 秒程度で得られ、短時間に高感度かつ誰でもタンパク質検出が可能となる。このように製造ラインのタンパク質の有無を調べることで汚染状況を即座に知ることができ、このような製造現場の汚染が存在するところは微生物学的な汚染リスクも高いため、作業衛生環境を向上できるツールとして活用できると考えられる。また、経験的な現場作業監督者による目視確認ではなく、科学的検出法による客観的な検査法であり、だれにでも活用できる。しかも現在市販されている多くのタンパク拭き取り検査キットは使い易く十分な感度がある。

タンパクふき取り検査法の製造現場での検証

このようなタンパク質ふき取り検査は、製造現場で即座に洗浄度の合否が判定できる、製造現場が活用しやすい迅速検査手法の一つであるにもかかわらず、その普及はあまりなされていないのが現状である。その理由として、「タンパクふき取りによる検査手法は確かに微量のタンパク質を検出できるが、微生物そのものを検出するものではない」ためである。確かに、タンパク質総量で考えると微生物1細胞のタンパク質総量はごくわずかであり、一般のタンパク質検出キットの検出感度である 30~60 マイクログラム程度ではとうてい検出できない。このように「タンパク質の汚染量と微生物汚染量との厳密な相関はない」と一般に捉えられている。しかし、微生物汚染の最もありえる汚染源は食材からの持ち込みであり、食品残渣に代表されるようなタンパク質汚染と微生物汚染との定量的関係までは行かなくとも定性的な関連は十分ありうると考えられる。ところが、タンパク質汚染と微生物汚染との相関について科学的

に相関を調べた論文は見当たらない。それゆえ、このような迅速検査手法の普及を考えるためには、実際の食品製造現場で検証し相関を確認する必要性があった。

まずはタンパクふき取り検査に必要な検出系を作成した。今回は前述したpH 誤差現象によるものをモデルケースとして作成し、単純に検査面を綿棒でふき取り、その綿棒を検出試薬に浸けるという形で検出を行うこととした。検出感度をアルブミン濃度で確認したところ、検出感度は約 40~80 マイクログラムであった(図2)。これを用いて検証実験を行うことにした。

ふき取り検査面は、洗浄が困難な箇所や製造機器と食品が接触する部位、食品製造に用いる道具などを選択した。例えば、冷蔵庫の取っ手、スライサーの刃、包丁・まな板などが挙げられる。さらに、ふき取り作業は、製造ラインの洗浄が行われている状態として「製造作業前後」と、製造ラインの洗浄が行えない状態として「製造作業中」の 2 種類の時間帯について検査を実施した。最終的に合計 152 箇所について、ふき取り検査を行った。タンパク質ふき取り検査法が微生物汚染度と関連性があるか調べるために、一般的に行われる微生物検査を実施した。微生物検査項目は一般生菌数・大腸菌群数・大腸菌・黄色ブドウ球菌について行った。さらに、従来の経験的な検査法との比較をおこないやすくするために作業現場監督者の目視による洗浄度の判定結果も合わせて行った。現場監督者により異常があると判断された場合は、そのように判断した内容を記録した。

得られた結果の概要を表 1 に示した。全 152 検体のうち、タンパクふき取り検査法で 73 検体が陽性と得られた。その 73 検体の内(9+44+15)=68 検体は微生物学的検査結果や現場監督者による目視判定結果と関連性を持っていた。中でも 44 検体はタンパク検査陽性かつ微生物学的検査陽性にもかかわらず作業現場監督者による目視判定結果では陰性であるケースであった。44.7%(68/152)が現場監督者による目視判定結果では不十分という結果であり、僅かな汚染を目視では見逃すことを示していた。特に、68 検体のうち 4 検体は洗浄作業後での検査結果であり、洗浄作業後でのタンパク陽性結果はこのケース以外に認められなかった。これは洗浄作業が行われた後で、見た目には問題無いと考えられる場所でも微量な汚染を検出できたという、有効的に活用できたケースを示している。タンパクふき取り検査陽性 73 検体のうち 5 検体に関しては、微生物学的汚染や現場監督者による目視判定結果による原因との関連を見つけられなかったが、この 5 検体についてはタンパクふき取り検査の擬陽性

と考えるよりも、むしろ微量な付着タンパクを検出できたというケースとして理解した方が良いでしょう。すなわち、このふき取り部位は微生物の付着は確認できない(10CFU/100cm²以下)が、いずれ微生物がこの部分に付着するであろうし、さらに時間経過と共に増殖する危険性を持つ箇所と言える。逆に、タンパクふき取り検査結果が陰性と得られたのは78検体あり、その殆どである75検体は微生物汚染・現場監督者による目視判定結果と同じく陰性の結果と得られた。残りの3検体は、微生物学的検査結果が陽性であったが、タンパクふき取り検査結果は陰性と得られた。この3検体においての一般生菌数はいずれも30 CFU/100cm²以下という値であり、微生物検査での検出限界に近い値であった。従って、タンパク汚染を指標として食品製造ラインでの汚染を検出することにより衛生管理を行うことは微生物汚染の推察に十分活用できると考えられる。

このように、タンパクふき取り検査結果は概ね微生物学的検査結果や現場監督者による目視判定結果に示される汚染を包括して検出できており、タンパクという指標により汚れを認識し、自主衛生検査に活用できる可能性が示唆された。最終的に94.7%((9+44+15+76)/152)が、タンパクふき取り検査結果と何かしらの汚染原因と一致し、その有効性を確認できた。

終わりに

このように、実際の製造現場との協力により、タンパク質ふき取り検査法は微生物学的リスクを包括的に捉えられる有効な検出手段となりうることが検証できた。タンパクふき取り検査法は、特別な技術を必要とせず、客観的な汚染判定が可能なことから、比較的活用しやすいツールと言える。特に、洗浄不良箇所をタンパクふき取り検査法により、その場において検出結果をフィードバックし対処を施すことができるのは、大きな優位点である。

食品の製造過程の汚染度をモニタリングするためにタンパクふき取り検査法以外にも様々な迅速検査法が開発されている。当所も様々な迅速検査技術の開発に携わっている。しかしながら、食品衛生環境の向上を考えるために、検査法をどのように活用すべきかを提言することはなかなかできない。タンパク質ふき取り検査法は単純な手法であるけれども、使い方次第で有効な情報を与え、効果的な衛生環境の改善に役立てることができるものとする。

参考文献

- 1) 日本食品微生物学会雑誌 23:230-236, 2006.
- 2) 食品と開発 33:39-42, 1999.
- 3) 月刊 HACCP141:32-40, 2007.

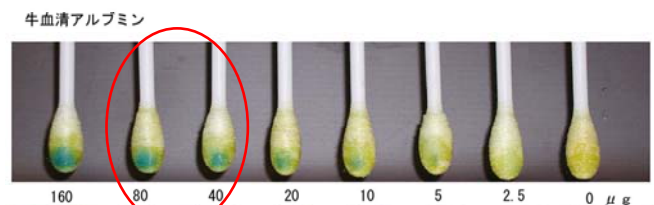
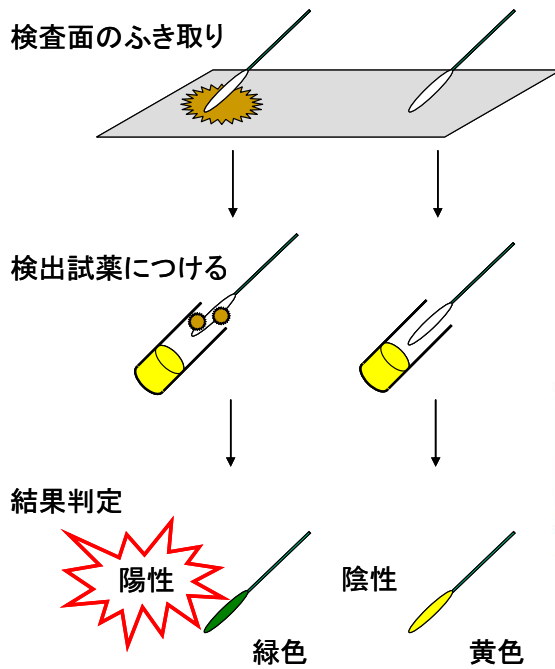


図2. タンパク検出系の感度の確認。
40~80 μgのタンパク量が拭きとれれば誰でも目視により検出できる。

図1. pH誤差法によるタンパク拭き取り検査法の操作工程。

表1. 実動食品製造ラインでの蛋白質ふき取り検査結果と微生物汚染等との関係。

タンパク検査	微生物汚染	現場監督者の 経験的判断	試験数		
			製造作業前後	製造作業中	合計
+	+	+	0	9	9
+	+	-	4	40	44
+	-	+	0	15	15
+	-	-	0	5	5
-	+	-	1	2	3
-	-	-	57	19	76
			62	90	152

蛋白質検査が
何らかの汚染
原因と一致

目視判断で汚
染を見逃した数
(見た目での判
断では不十分)

← 非検出として一致

+: 陽性, -: 陰性