

マイクロ流体制御による細菌数の迅速計測

1. はじめに

食品の安全性確保や品質管理についての社会的な関心が高まるにつれ、食品中の細菌検査の重要性が増してきている。従来、食品などの細菌検査では、寒天培地で細菌を培養して、生存している細菌数を算定する培養法が用いられている。しかし、培養法では細菌が見える状態にするために24~48時間の培養時間を要し、簡便に短時間での計測が困難であることから、迅速な計測技術の開発が期待されている。

そこで本稿では、培養法を用いずにマイクロ流体制御を活用した迅速かつ定量的に細菌数を計測する技術⁽¹⁾とその装置、および計測事例⁽²⁾について紹介する。

2. マイクロ流体制御技術の活用

培養法を用いずに迅速かつ定量的に細菌数を測定するために、図1に示すように蛍光染色した細菌をマイクロキャピラリ（幅40 μ m×深さ20 μ m×長さ2mm）の中で1個ずつ流れに乗せて、励起ビームを横切るときの蛍光発光の回数から菌数を直接計数する「蛍光フローサイトメトリー法」を測定原理として採用した。

上記の蛍光フローサイトメトリー法を使用して食品中の細菌数を計測する際の課題は、いかに生菌（生きている細菌）と夾雑物とを判別するかである。夾雑物は、食品由来物質に加え、死菌（死んでいる細菌）や染色のために使用する蛍光色素の粒子（以下、蛍光色素粒子）がある。これらの夾雑物は自家蛍光や蛍光色素による染色や吸着により蛍光を発するため、擬陽性（生菌として誤計測すること）の要因となる。

そこで、上記の擬陽性の課題を解決する新たな計測技術を開発した。一種類の全菌用蛍光色素と一種類の死菌用蛍光色素を用いる通常の「二重染色法」に代わり、二種類の全菌用蛍光色素と一種類の死菌用蛍光色素を用いる「三重染色法」を開発した。この方法では、生菌は全菌用蛍光色素の二種類の蛍光を発し、死菌は全菌用蛍光色素と死菌用蛍光色素の三種類の蛍光を発する。各蛍光色素の粒子は一種類の蛍光を発

するので、蛍光の組み合わせで生菌を判別できるようになるのが特徴である。

さらに、これらの操作の自動化を実現する手のひらサイズのカセットを開発した。図2はカセットの概観で、内部に計測1回分の試薬や検体や廃液を内包する使い切りタイプである。また、カセット内のマイクロ流路内では、蛍光フローサイトメトリー法の検体前処理における微量分注や食品屑の除去、細菌の蛍光染色などを自動で行う高度なマイクロ流体制御を行っている。

3. 細菌数迅速計測装置

図3は、図2に示した蛍光色素の三重染色プロセスを自動化したカセットを搭載したコンパクトな卓上装置の「カセットラボ ONE」である。本卓上装置の特徴は、以下の3点である⁽³⁾。

- (1) easy Operation :
カセット式の簡単操作
- (2) Non-culture :
培養法を用いずに細菌数を計測
- (3) Extremely fast :
90分で迅速計測

図3の卓上装置を用いて、実食材（トマト、ごぼう、もやし、レタス、ほうれん草、紫キャベツ等）を市場から購入して、細菌数を計測した結果を図4に示す。横軸が上記食材中の細菌数を寒天培地による従来法で計測した結果であり、縦軸が本装置で計測した場合である。両者の計測結果を比較すると、非常によく相関が取れていることがわかり、90分で迅速計測する本装置による計測結果は、寒天培地による従来法の結果を再現できていることがわかる。

4. おわりに

本稿では、マイクロ流体制御を活用した計測技術と装置、およびその計測事例について紹介してきた。一般的な食品中では簡便かつ迅速な細菌計測が実現できている。しかし、添加物が多いものや脂肪等が極端に多い食品中での計測にはまだ課題があるが、本技術が食品工場における微生物検査の迅速化の一助になれば幸いである。

（原稿受付 2013年6月24日）
〔富樫盛典（株）日立製作所〕

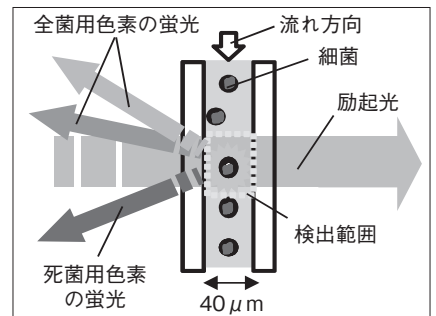


図1 マイクロ蛍光フローサイトメトリー

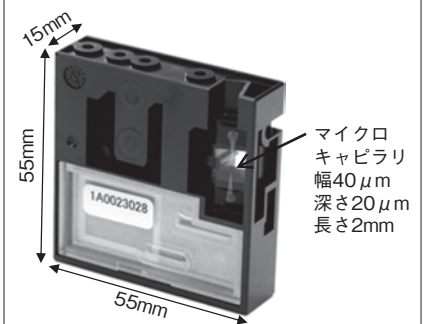


図2 蛍光色素の三重染色プロセスを自動化したカセット

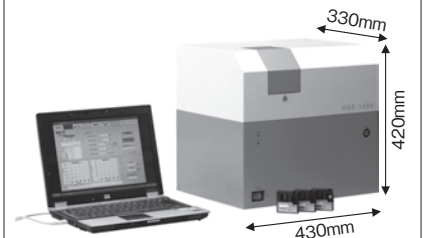


図3 卓上の細菌数迅速計測装置

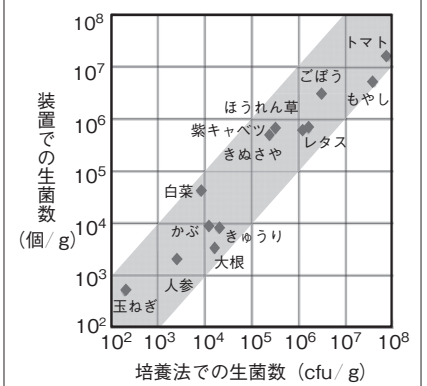


図4 食材中の細菌数計測結果 (cfu: コロニー形成単位)

●文 献

- (1) 竹中 啓・ほか, カセット式マイクロフローサイトメトリー法を用いた生菌数迅速計測装置の開発, 日本機械学会論文集, 77-774, C (2011), 401-410.
- (2) 佐々木康彦, マイクロ流体制御による細菌数の迅速計測, 日本機械学会誌, 116-1132 (2013), 144-145.
- (3) 「カセットラボ ONE」ホームページ http://www.hitachi-power-solutions.com/products/product02/p02_69.html