



アレルギー管理に対する ATP + ADP + AMP ふき取り検査 (A3 法) の活用

キッコーマンバイオケミファ(株) 企画開発部 企画開発グループ 志賀 一樹

はじめに

近年、食品製造において、アレルギーの管理は、原材料情報による適切な表示の作成はもちろんのこと、アレルギー混入を防ぐための工程管理も重要である。

例えば、平成 26 年 10 月 14 日には、厚生労働省から出された指針「食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針（ガイドライン）」において「原料として使用していないアレルギー物質が製造工程において混入しないよう措置を講ずること」と明記された。また、国際的に広く利用されている HACCP においても、アレルギーは化学的危険原因物質の一つとして扱われ、危害分析の対象となっている。さらに、ISO 22000、FSSC 22000 などの食品安全マネジメントシステムに関しても、ISO/TS 22002-1:2009 の 10「交差汚染の予防手段」の 10.3 に「アレルギーの管理」が要求されている。このように食品製造におけるアレルギーの管理は製品検査だけでなく、工程管理においても重要となってきている。

製造工程でのアレルギーの管理では、工場にアレルギーを持ち込まない、持ち込む場合は隔離された専用ラインで製造することが理想である。しかし、一般的に同一ラインでさまざまな製品を製造することから上記の対応だけでは限界がある。そのため、アレルギーの混入防止のためには、製造工程の洗浄管理が重要となる。

本稿では、アレルギー混入防止のための製造工程の洗浄管理において、ATP + ADP + AMP ふき取り検査 (A3 法) をどのように有効に活用するかという視点で紹介する。

アレルギー管理におけるふき取り検査

食品中に含まれるアレルギーの検査方法として、消費者庁からスクリーニング検査 (ELISA 法)、確認検査 (ウエスタンブロット法、PCR 法) が指定されている。これらの検査により、行政機関はアレルギー表示

の整合性を確認している。一方で、これらの検査は操作手順が多く、測定時間も長いため、洗浄の確認のような迅速性が求められる検査には向いていない。また、専門的な技術や装置が必要であるため、日常的に実施することが難しい場合も多い。このため、アレルギーの工程管理には各種ふき取り検査が利用される。

多くの食品企業で利用されている各種ふき取り検査の特徴を表 1 にまとめた。製造工程のふき取り検査では、迅速性と簡便さが重要である。なぜなら、迅速に結果が出ない場合、再洗浄など対策をすぐに取れない。また、使用方法が簡便でなく担当者が現場レベルで実施できなくては、工程管理として利用するのが難しいからである。この点、ELISA 法はふき取り検査でも実施可能であるが、工程管理に利用する手法としては、デメリットが大きい。

迅速かつ簡便でアレルギーを特定できるという点においては、イムノクロマト法は有効な検査である。しかし、コストが高く、数値化できないなどの課題もある。また、対象となるアレルギーによっては、イムノクロマト法が開発されておらず、そもそも使用できないといった場合もある。

アレルギーを特定するわけではないが、食品の残留を確認する検査として、ATP ふき取り検査とタンパク検出法が利用されている。ATP ふき取り検査は、ホタルが光る原理（酵素ルシフェラーゼが ATP に反応して発光）を応用し、汚れの指標となる ATP 量を発光量の強さとして数値化する検査方法である。ATP は、すべての植物、動物および微生物に存在する物質であり、もちろん食品にも含まれる。そのため、ATP を測定することで食品の残留を確認できる。食品残さの量によって、ATP、アレルギーそれぞれの量も相関するため、アレルギーの特定はできないが、間接的にアレルギーの存在量を測定できる (図 1)。

しかし、ATP は代謝や加熱、酸・アルカリなどによって、ADP を経て、AMP へと分解される。食材の種

	A3 法	ELISA 法	イムノクロマト法	タンパク検出法
迅速性	◎	×	○	○
簡便さ	◎	×	○	◎
数値化	○	○	×	△
アレルギーの特定	×	○	○	×
コスト	○	×	×	◎

表 1 各ふき取り検査方法の特徴

食品残渣 多い

食品残渣 少ない

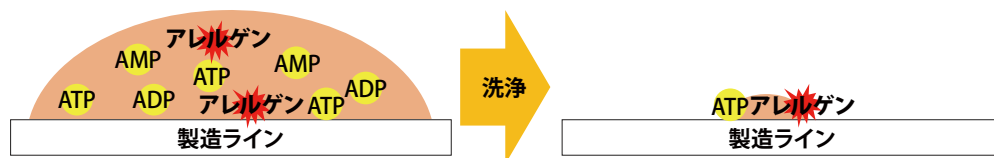
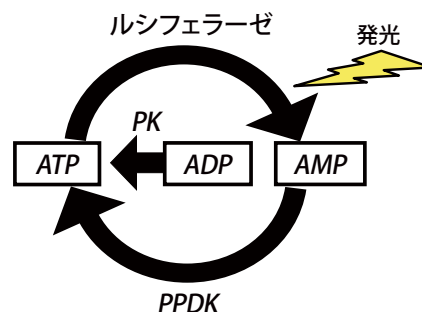


図1 食品残さ中の ATP、ADP、AMP とアレルゲンの関係。残留する食品残さが少なければ、ATP、ADP、AMP、アレルゲンともに少なくなる。



写真 測定機器ルミテスター PD-30 (左) とルシパック A3 Surface / Water



PK: ADPをATPに変換する酵素
PPDK: AMPをATPにリサイクルする酵素

図2 ATP サイクリング法および A3 法の原理

類や状態、あるいは環境によっては、ATP は ADP や AMP へと分解している場合も多い。したがって、ATP の測定だけでは、検出感度が不十分であるという懸念があった。そこで、当社では、AMP を ATP に変換する酵素 PPK (pyruvate orthophosphate dikinase) と、ADP を ATP に変換する酵素 PK (pyruvate kinase) を組み合わせ (図2)、ATP + ADP + AMP(A3) を同時に測定できる方法を世界で初めて実現し、2017年4月に「ルシパック A3 Surface/Water」を発売した(写真)。A3法は、いつでもどこでも誰でも、約10秒で結果が得られることから、多くの食品企業で利用されている。

A3 法検査によるアレルゲン食材の検出

最初に、A3法でアレルゲンを含む食材をどの程度検出できるか説明する。

各食材を10倍量の水でホモジナイズして調製した液 (= 1/10 希釈サンプル) を、さらに水で10倍ずつ段階希釈し、これをルシパック A3 surface 付属の綿棒に0.1 mL 添加して測定を行った。1/10 希釈サンプルを測定した場合、綿棒には1 mg の食材が含まれることとなる。

表2に表示の義務がある特定原材料7品目のデータを示す。A3法の測定値は、1 mg 相当の食材を測定した結果である。また、10倍ずつ段階希釈したサンプルのデータを3点以上取得し、検量線を作成し、その検量線から測定値が100 RLU 相当となる食材量を算出した。A3法において、100 RLU という測定値は、管理基準として一つの目安となる

数値である。100 RLU 当たりの食材量が少なければアレルゲンを含む食材をより高感度に検出できるといえる。

ATP、ADP、AMP の含有量は食材によって異なるため、1 mg 当たりの測定値は食材によって異なる。例えば落花生の場合、1 mg 相当の希釈サンプルを測定すると、測定値は235,073 RLU であり、希釈系列から計算した100 RLU 当たりの食材量は、0.42 μg であった。この値は、食材全体の量であり、アレルゲンの量ではないことに注意してほしい。

この他、特定原材料に準ずる20品目については表3にまとめた。実際の食品製造ラインでは、単一の食材を使用することは少なく、複数の食材を使用して製品を製造することとなる。そのため、複数の食材由来の ATP、ADP、AMP が製造ラインに残留するため、100 RLU の測定結果ならば、表2および表3で示した食材量よりも低い残留量であることが予想される。ただし、ATP、ADP、AMP の含有量は、食材の個体差や状態などさまざまな要因で変化するため、本測定結果はあくまで参考値である。

タンパクふき取り法との比較

複数のアレルゲンの残留を簡便かつ安価に検出できる方法として、タンパク質による呈色反応を利用したタンパクふき取り法なども利用されている。ここでは、A3法と市販のタンパクふき取り検査による牛乳、落花生、エビのアレルゲン検出について比較した。

上記と同様に、牛乳、落花生、エビを10倍量の水でホモ

食材	食材 1mg 当たりの測定値 (RLU)	100RLU 当たりの食材量 (μg)
卵	1,674	59.6
牛乳	425	247.9
小麦	524	191.1
落花生	235,073	0.42
えび*	274,581	0.04
そば	11,127	9.0
かに	17,173	5.8

※ 食材量 0.1 mg での測定値

表 2 特定原材料 7 品目の A3 法データ

食材	食材 1mg 当たりの測定値 (RLU)	100 RLU 当たりの食材量 (μg)
いくら	9,228	10.8
さば	493,078	0.20
さけ	588,697	0.17
いか	138,864	0.07
あわび	233,280	0.04
大豆* ¹	134,412	0.74
くるみ* ¹	5,519	17.9
カシューナッツ	1,274,530	0.78
ごま	232,716	0.43
やまいも	116,612	0.86
鶏肉	8,122	12.9
豚肉	7,816	13.3
牛肉	5,083	19.7
キウイフルーツ	30,806	3.26
バナナ	35,223	2.86
オレンジ	2,105	47.3
もも	7,478	13.3
りんご	29,297	3.41
まつたけ	125,122	0.81
ゼラチン* ²	141	454.8

※ 1 食材量 0.1 mg での測定値 ※ 2 食材量 0.5 mg での測定値

表 3 特定原材料に準ずる 20 品目の A3 法データ

ジナイズして調製した液を、10 倍ずつ段階希釈し、これを A3 法、タンパクふき取り法それぞれの綿棒に 0.1 mL 添加して測定を行った。タンパクふき取り法は 3 社の製品を使用した。

タンパクふき取り法による測定では、明確に陽性結果を得られたのは牛乳で食材量 1mg、えび、落花生で 0.1mg であった。一方 A3 法では、牛乳では 1mg において 400 RLU、えび、落花生では 0.001mg において、えびで 2,000 RLU 以上、落花生で 200 RLU 以上の測定値を示した (表 4～6)。

このように、これらの食材では、タンパクふき取り検査よりも A3 法の方が同等もしくは高感度にアレルゲンを含む食材を検出できる。

製造ラインでの A3 法の活用

実際に製造ラインで A3 法をどのように活用できるのか埼玉キッコーマン㈱の協力の下、フィールドデータを取得した。

食材量 (mg)	A3 法測定値	タンパクふき取り法		
		A 社	B 社	C 社
1	439	+	±	-
0.1	52	-	-	-
0.01	14	-	-	-

表 4 牛乳を対象とした A3 法とタンパクふき取り法の比較

食材量 (mg)	A3 法測定値	タンパクふき取り法		
		A 社	B 社	C 社
1	スケールオーバー	++	+	+++
0.1	289,803	-	-	+
0.01	32,149	-	-	-
0.001	2,806	-	-	-
0.0001	347	-	-	-

表 5 えびを対象とした A3 法とタンパクふき取り法の比較

食材量 (mg)	A3 法測定値	タンパクふき取り法		
		A 社	B 社	C 社
1	235,073	++	+	+++
0.1	25,641	-	-	±
0.01	2,476	-	-	-
0.001	294	-	-	-

表 6 落花生を対象とした A3 法とタンパクふき取り法の比較

埼玉キッコーマンは、主力商品として「うちのごはん」シリーズ (和風そうざいの素) などトレルトパウチ製品を製造している。従業員数は約 100 人、生産能力は 1 日当たり約 10 万食である。

原料に乳、小麦、大豆を使用している「うちのごはん」シリーズの「ジャーマンポテト」は、主な工程として、加熱調合→パウチ充填→トレルト殺菌→ピロー包装の 4 工程から成る (図 3)。

本稿では、加熱調合工程における調合タンクおよび、充填機の洗浄前後の乳の残留アレルゲンについて、ELISA 法を利用して A3 法の評価データを紹介する。

(1) サンプル箇所

検査する箇所として、「調合タンク投入口」「調合タンク内壁」「調合タンク攪拌羽」など調合タンク周辺、調合タンクに投入するとき使用する「ヘラ」と「メッシュ」、充填機の「ホッパー」「ノズル」「受け皿」を設定した。検査は各箇所、洗浄前、温水洗浄後、最終洗浄後の 3 回行った。

(2) A3 法および乳アレルゲン量の測定

ルシパック A3 Surface を使用し、検査を行った。乳アレルゲン量の測定は、まず測定箇所を Pro-media ST-25 PBS (㈱エルメックス製) 付属の綿棒でふき取り、5 mL の PBS に抽出した。その PBS 溶液中の乳アレルゲン量を、FASTKIT エライザ ver. III (牛乳) (日本ハム㈱製) を使用して測定した。

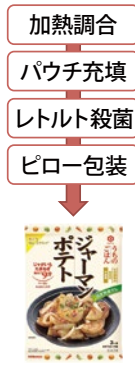


図3 埼玉キッコーマンの外観、および「うちのごはん」シリーズの主な製造工程

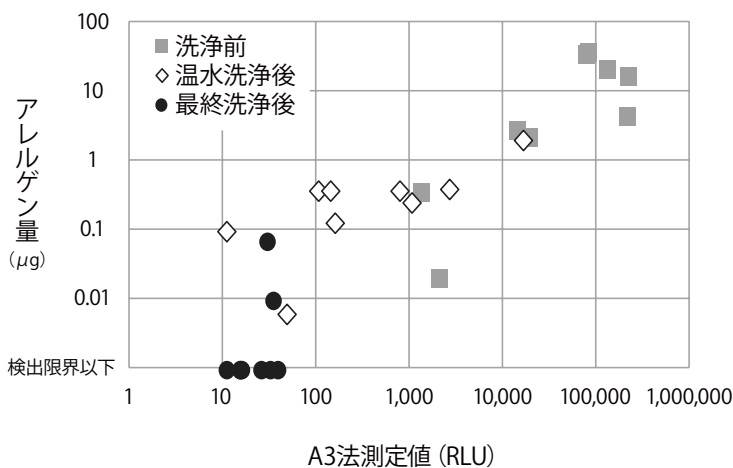


図4 A3法の測定値とELISA法で測定した乳アレルギー量の関係

(3) 結果

図4にA3法の測定値とELISA法で測定した乳アレルギー量の関係を示す。

洗浄前から温水洗浄を経て最終洗浄（アルカリ洗浄＋再温水洗浄）に至る過程で、乳アレルギーとA3法の測定値は減少し、最終洗浄終了後に乳アレルギーは0.1 μg以下となった。

また、このとき、A3法の測定値もすべて100 RLU以下であった。基準値を100 RLUで管理すれば最終洗浄後の残存アレルギーは、0.1 μgレベルであり、製造工程のアレルギー管理としては十分なレベルであると考えられる。このように、A3法で製造ラインの洗浄確認を行うことは、アレルギー管理として有効である。

A3法を洗浄管理に導入する場合、どの箇所を検査対象にするか、基準値をどのレベルに設定するかという2つの課題がある。

検査箇所の設定については、まずアレルギー混入が想定されるすべての箇所を検査対象にすることが望ましい。特に段階的に洗浄している場合は、その過程を一度モニタリングすると、洗浄が難しく、簡単な洗浄では測定値が低下しない箇所を把握できる。そのような箇所は重点的に管理すべきである。

本稿のデータでは、調合タンク内壁では、温水洗浄後でも測定値は100 RLU以下であったが、充填機のノズルの温水洗浄後の測定値は10,000 RLUを超えていた。充填機ノズルはその後、分解して洗浄するため、最終洗浄後は35 RLUとなり、洗浄が十分であることが確認できた。

一方、基準値の設定については、100 RLU以下であれば、洗浄としては十分なレベルであると考えられるが、実際には、本稿のように一度ELISAなど、他の検査方法で、バリデーションを行ってから基準値を設定することが望ましい。

まとめ

本稿では、アレルギー管理において、どのようにA3法が活用できるのかという観点から、A3法で検出できる食材量、実製造ラインでの洗浄前後のデータを紹介した。

A3法はアレルギーそのものを測定しているわけではないが、食品残さを高感度に検出し、洗浄度を数値化することが迅速かつ簡便にできる。このことから、アレルギー混入を防止するための洗浄を日常的に確認するツールとして、非常に効果的である。

その場で数値化できることは、洗浄不足に対して、再洗浄などの早急な対策を打てるメリットの他に、現場スタッフの意識づけにも有効である。実際、多くの製造現場では、スタッフの衛生意識向上のためにも利用されている。

アレルギーの管理体制を構築し、より安全かつ効率的な食品製造工程を確立することは、多くの食品製造業にとって重要な課題である。本稿とA3法が、そのような課題の解決の一助になれば幸いである。