



## 引进ATP检测法进行简易、快速的产品检查事例

### ~采用微生物检测试剂盒“Lucifer AT”检测无菌灌装乳制品~

守山乳業(株) 藪島 義隆 氏

6月25日龟甲万百欧凯米发株式会社于东京中央区月岛社会教育会馆举行第84期Lumitester研讨会。在会议上,守山乳業(株)的藪島義隆先生进行特别演讲。(守山乳業(株)总公司:神奈川県平塚市宮9-32, 董事长:大塚直人)。本文为其演讲的概括内容。(编辑部)

#### 守山乳業(株)的企业概况

创办于1918年(大正18年)的乳制品生产商守山乳業(株),在今年迎来了创业的第95周年。守山乳業(株)曾推出日本首款咖啡牛奶,通过不断改善产品,开始出售于铁道弘济会(JR车站内的商店“kiosk”前身)中。后来又陆续生产了许多无菌灌装产品。

现在,守山乳業(株)拥有平塚(神奈川県)和葛卷(岩手县)两家工厂。平塚工厂负责生产无菌灌装产品,主营产品包括液体雪糕(液状冰淇淋)、奶精球、可可饮料等清凉饮料以及杯装饮料(包括乳饮)。最近,面向医院生产的流质食品(液态食品和甜品)产量有所增加。葛卷工厂负责生产无菌灌装的甜品(杏仁豆腐,奶冻等)、咖啡用奶油、Bag in box(B.I.B、10L容器)的鲜奶油、奶昔、黄油、胶糖蜜以及罐头(生奶油)等产品。

照片1是本公司自营品牌(杯装产品)的一部分产品。除了自营品牌的产品,我们也会接受一些大品牌的生产委托。

#### 在无菌产品的检查中有效利用ATP量的检测

下面为大家介绍本公司将ATP检测法有效运用于产品检查的事例。

在食品制造现场中,由于清洁不彻底造成的食物残留,是微生物引起食品事故的原因之一。很多食品企业使用的“ATP荧光检测法”是以食品污染(食物残留)中所含的ATP(三磷酸腺苷)以及其生成的分解物AMP(一磷酸腺苷)为指标,检测食品生产环境清洁度的一种方法(例如确认清洗后的设备和用具的清洁度,以及洗手后手指的清洁度等)。

如图1所示,“食物残留”包括“食物本身”和“附着于食物的微生物(细菌)”两种。因此,“检测食物残留所含ATP和AMP量”就是结合检测“食物本身所含ATP和AMP量”以及“附着于食物的微生物所含ATP和AMP的量”。

刚才也提到过,本公司主要生产无菌灌装产品。所以,本公司通过检测产品中ATP量来确认产品是否受到微生物污染。本文将为大家介绍本公司“检测乳制品”的事例,这种检测方法还可应用于其他行业。



照片1 守山乳業(株)的产品一览(杯装产品)

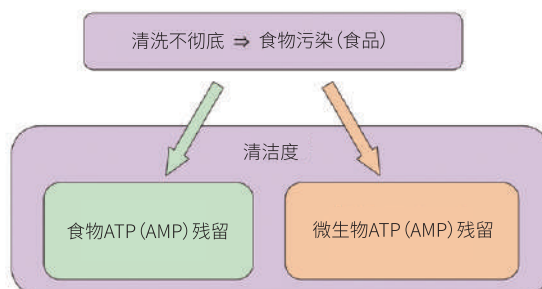


图1 “食物残留的ATP”包括“食物本身来源的ATP”和“附着于食物的微生物来源的ATP”两种

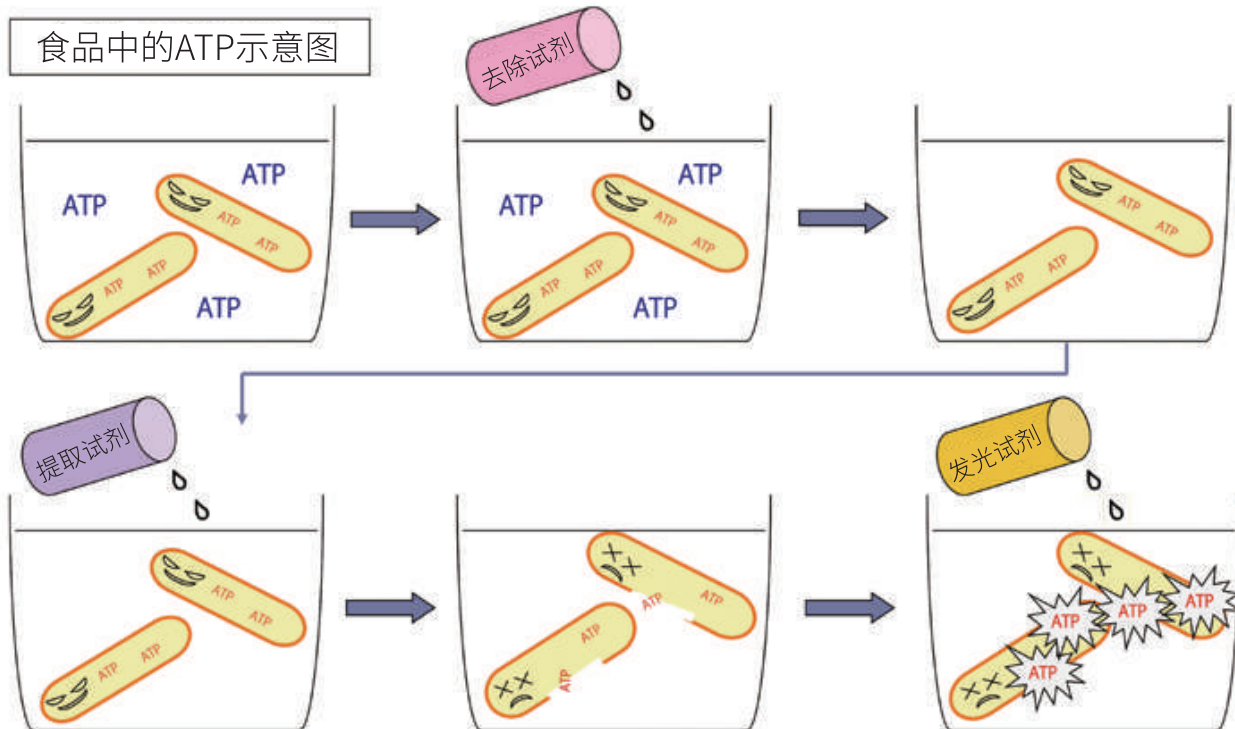


图2 使用ATP检测试剂盒“Lucifer AT”的检测步骤（示意图）

### ATP检测（发光量检测） 与培养的细菌数量检测的关联

首先跟大家解释一下ATP检测法的原理。龟甲万百欧凯米发株式会社正在售卖一款叫做“Lucifer AT”（AT=Aseptic Test）的检测试剂盒（照片2）。该试剂盒由本公司和龟甲万百欧凯米发株式会社（曾用名：龟甲万（株））共同研发，试剂中含有“去除食物（食品）来源ATP的成分”和“提取微生物（细菌）来源ATP的成分”。

使用“Lucifer AT”的检测步骤见图2。一般来说，食品中存在着“食物本身含有的ATP”和“微生物所含的ATP”两种（见图2左上方）。经过“去除食物来源的ATP成分”的处理后，食物来源的ATP就会消失（图2右上方）。然后，“提取微生物来源的ATP成分”（如图2下方所示）发挥作用，破坏微生物的细胞壁，提取微生物中的ATP，再释放到细胞壁外（图2正下方）。最后，经过发光试剂的处理，来测定微生物来源的ATP量（图2右下方）。如果没有微生物的话，ATP量（发光量）的数值会偏低。本公司在确认“无菌灌装产品是否残留微生物”的时候会运用到这个原理。



照片2 应用ATP检测的微生物检测试剂盒“Lucifer AT”

本公司以前也进行过细菌培养的检测。使用“Lucifer AT”的ATP检测能否取代之前的细菌检测，我们采用图3的方法进行（ATP检测与细菌检测的）关联性验证。首先，将细菌接种到产品（无菌灌装产品）中。接着进行预先孵育（预先培养，本公司的验证实验在37°C·72小时的条件下进行）。对样本进行梯度稀释，比较“利用稀释倒平板法培养时的细菌数”和“利用ATP法检测时的ATP量”。结果如图4所示。

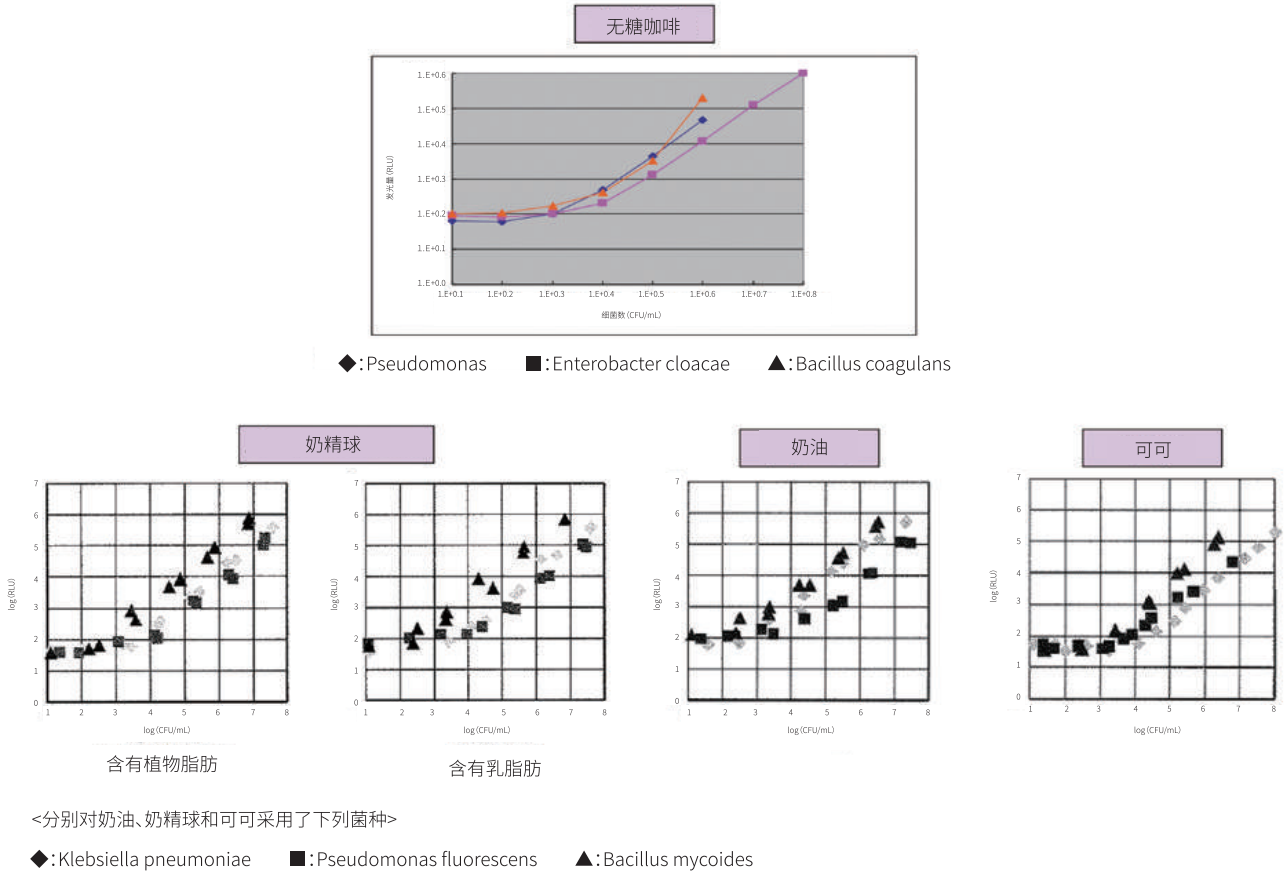


图4 ATP检测（发光量）与细菌数量的关联性

图4列出了在无糖咖啡中培养Pseudomonas fluorescens、Enterobacter cloacae、Bacillus coagulans的结果，以及在奶精球、奶油、可可中培养P.fluorescens、Klebsiella pneumoniae、B. mycoides的结果（注：本文只举出了采用P. fluorescens、K. pneumoniae、E. cloacae、B. coagulans、B.mycoides这五种菌种进行验证的事例，当然也有对其他菌种进行关联性验证实验）。大致上可以认为几乎所有产品中“ATP检测值（发光量）与微生物数之间都具有关联性”。

如今，市面上出售着各种简易、快速的检测试剂盒。引进此类试剂盒的时候，需要制定符合自身公司情况的标准。但是，在制定标准前还需要利用多个样本来收集、分析数据，并进行反复的验证。本公司也在得到图4的实验结果前，利用了多个样本进行验证。经过这样的反复实验，本公司现在已经确立了“守山乳业（株）的检测法”。虽然验证过程需要耗费时间和劳动力，但现在也因为引进了快速、简便的检测方法而获得了不少好处（下面将会介绍引进ATP检测的好处）。

## 引进ATP检测法的优点

那么，作为细菌检测替代法的ATP检测具有哪些优点呢？

### 优点1：缩短检测所需时间

首先，如图5所示，可以缩短检测的时间（图中的日和培养温度只是本公司检测法的例子之一）。本公司销售的产品都会经过无菌处理。即使产品中残留着细菌，也只是一些结构被破坏的细菌。所以，需要进行预先孵育使细菌复活。这是无论在细菌检测还是ATP检测中都必须进行的一项操作，如图5所示，我们从生产日开始静置3日。乳制品中含有丰富的营养成分，只要在适宜的温度（37℃）下静置3日，细菌就会复活并开始繁殖。

细菌检测的情况下要在第4天开始稀释倒平板法检测，然后在第5天就可以用于培养。所以，判定产品合格与否要在第6天进行。另一方面，ATP检测在预先孵育结束后马上就可以进行检测，大约1个小时后就能得到判定结

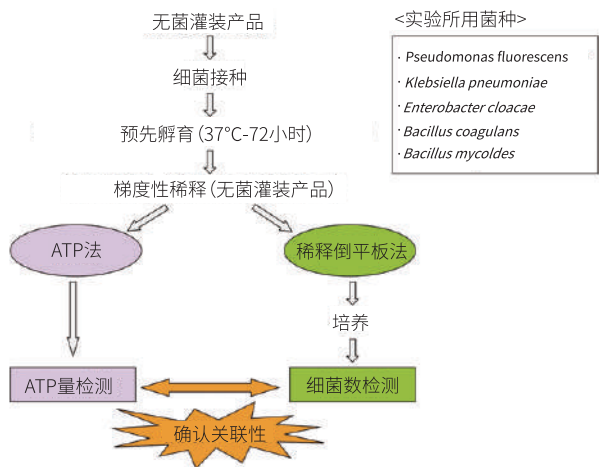


图3 “ATP检测法（测定发光量）”与“细菌检测法的细菌数检测”的关联性验证

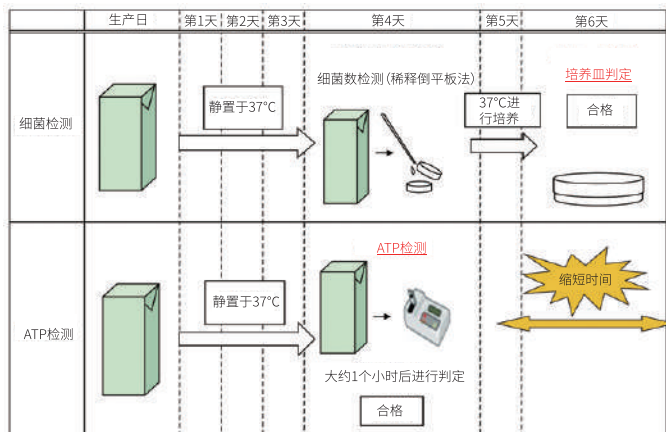


图5 ATP检测与细菌检测所需时间的对比（守山乳业(株)的事例之一）

果。也就是说，得出合格与否的判定结果的检测时间可缩短2天。而且，ATP检测无需进行细菌检测那样的无菌操作，免除了放置在无菌室产生的费用。另外，ATP检测的操作比细菌检测简单，任何人都能进行。

### 优点2：节省检测时间和成本

由于可以缩短出货前检测的时间，因此可以压缩库存，节省仓库费用。而且，ATP检测（与细菌检测相比）能大幅缩短准备和收拾所需的时间，减少相应的人员开支。

下面以本公司的“奶精球”为例，为大家说明采用ATP检测大约能节省多少检测费用。奶精球的灌装机共有70个喷嘴，1次能灌装70个奶精球。检测哪个时间点生产的产品，要根据公司情况的不同来制定。例如，“检测最开始灌装的产品”，“检测

中间灌装的产品”，“检测最后灌装的产品”，“每隔一小时进行一次抽样检测”，“集中检测最开始灌装的产品”等。本公司的情况是，为了确认“前一天的CIP清洗(clean in place, 定点清洗)是否还有食物残留”以及“杀菌进行得是否彻底”，我们一定会检测最开始灌装的样品。稀释倒平板法要进行70次检测。为了算出细菌检测的人员开支，我们来大概算一下检测所需的工作时间。假设分注操作需要50分钟，官能检验需要10分钟，清洗需要30分钟，培养皿判定需要20分钟，培养基制作需要25分钟，操作合计135分钟(2.25小时)。假设人工费一个小时约为2000日元，完成检测就需要花费4500日元(2000日元×2.25小时)。另外，在检测费用中，假设每个样本50日元(包括培养基、蛋白胍水、杀菌培养皿、无菌培养皿等)，总共需要花费3500日元(50日元×70个样本)。换言之，每次检测需要花费8000日元(4500日元+3500日元)。

另一方面，在进行ATP检测时，我们会将喷嘴喷射35次的量集中装到一个烧杯中作为一个样本(也就是将喷嘴喷射70次分为两个样本)。像刚才那样，为了计算ATP检测的人员开支，我们先来算一下检测需要的工作时间。假设分段需要6分钟(将喷嘴喷射70次的量排列到托盘中)，官能检验需要10分钟，准备(将一部分移到喷嘴喷射35次的烧杯中)需要8分钟，检测需要8分钟，清洗需要3分钟，准备移液枪头需要10分钟，合计45分钟(0.75小时)。再假设人工费一个小时约为2000日元，所需开支就能缩减至1500日元(2000日元×0.75小时)。另外，在检测费用中，假设每个样本约480日元(包括Lumi Tube、枪头、试剂等)，总开支就能减少到960日元(480日元×2个样本)。换言之，每次检测所用成本就能缩减至2460日元(1500日元+960日元)。而且，不进行培养就无需使用恒温器，所以这方面的支出也能节省。

以上，本公司认为“与细菌检测相比，引进ATP检测能节省检测费用”。

### 优点3：能及早发现问题产品

“缩短出货前的检测时间”是难以用成本体现的优点。也就是说，ATP检测法比稀释倒平板法能更早的发现产品的异常。如图5所示，使用稀释倒平板法从检测开始到发现异常至少需要两天时间。为此，假设从检测结果中发现了产品的异常，认为异常的原因是产品生产线受到了微生物污染，即(从检测开始到发现异常的)2天内生产的产品都有可能出现质量问题，根据情况，或许还需要考虑这两天生产的产品是否都必





照片3 ATP荧光检测仪“LumitesterPD-20”

须销毁。然而，如果是检测当天就能知道判定结果的ATP检测，就可以避免“这2天的损失和担保问题”。另外，如果能在生产的前期发现异常，就能追究其原因并迅速作出应对。

无菌灌装产品在“pH值无变动”和“官能检验中没有问题”的状态下，也会引起细菌繁殖。所以，这些样本（由于在目测和官能检测中与正常产品没有区别）在进行稀释倒平板法检测时不会发现异常。但是，如果是ATP检测的话，由于在检测当天就能得到数值，马上可以判断出产品是否有异常。

### 运用ATP检测进行产品检查的课题

虽然ATP检测的优点很多，但实际上也存在一定的缺点。

例如，在含有抹茶粉的产品或红茶（没有兑水或者茶叶成分较多的奶茶）中，抹茶和红茶所含的成分会影响测定，有时会造成测定值的大幅上涨。通过稀释倒平板法判断为无菌的样本，在ATP检测中数值却有很大的偏差，我们认为这样的产品的测定是十分困难的。但是，除了红茶和抹茶，ATP检测运用在其他样本中是没有问题的，因此，现在在检测红茶和抹茶时仍然使用稀释倒平板法。

由于ATP检测操作简单，很容易会让人产生想要“增加样本数量”的想法。但是由于试剂的单价较高，如果增加检

测样本，就会产生连动“可视的检测成本”增高的印象。当然，我们不能一概认为这是ATP检测的缺点。我认为检测就相当于买保险。保额越大获得的保障就越充分。食品检测也与此相同，样本数越多就越能保证其安全性，但相应的成本也会随之提高。用怎样的频率实施检测，大概是每家公司都会烦恼的地方。

但是，本公司并没有“检测会花费大量成本”的想法，而是抱着“比起在发生问题后花费大量的成本来处理，还不如尽可能地利用检测来保证工序管理”的想法来进行检测。

### 最后：利用自主检测将食品事故防范于未然

本公司售卖的产品都是“无菌产品”。与细菌数的多少无关，我们寻求的是“有无细菌”的判断。因此，我们引进了使用ATP检测试剂“Lucifer AT”的产品检测。该检测法可以去除食品来源的ATP，单独提取微生物来源的ATP然后进行检测。假设产品中残存微生物的情况下，由于产品含有丰富的营养成分，容易滋生细菌，通过预先孵育增加细菌数，最后ATP检测的数值会大幅上涨。

顺便一提，若是遇到具有顶部空间的饮料产品，受摇晃震荡影响可能会缩短预先孵育的时间，因此产品中的溶解酶易被微生物利用。

本公司利用使用“Lucifer AT”的ATP检测法取代细菌检测作为判断产品能否出货的方法，效果十分明显。但是在接受委托生产时，就不能按照我们公司单方面的意见决定产品的检测方法。委托方也有自己的意见，也不是所有的委托方都能理解通过ATP检测进行产品检查这一检测方法。

现在，ATP荧光检测技术被很多食品企业和公共卫生机构应用和接受。本公司也使用ATP荧光检测仪“Lumitester-PD-20”（照片3）来检测生产线清洗后的清洁度。ATP荧光检测只需10秒，就能判断清洁效果是否合格。当检测值超过基准值时，操作人员当场就能向大家展示数值并进行说明，然后进行后续的改善工作，所以我认为这是一种非常有效的检测方法。

然而，本文介绍的“将ATP检测应用于产品检查”这一检测方法尚未普及。最终保证产品安全性的责任仍在于“制造商本身”。这就意味着，我们必须思考如何及早发现问题和事故，以及如何将问题和事故的发生防范于未然。利用“Lucifer AT”进行产品检测和利用Lumitester进行荧光检测就是有效对策之一。

日后，我希望其他的食品企业也能参考本公司数据（图4），又或者收集同样的验证实验的数据，以便更好地完善产品检查。

Lumitester PD-30

ENTER

MODE

kikkoman

龟甲万百欧凯米发株式会社  
(Kikkoman Biochemifa Company)

守山乳业(株)主页 <http://www.fijimilk.co.jp>

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002-3003室  
北京 Tel: 010 64136388 上海 Tel: 021 62884751  
广州 Tel: 020 87326381 香港 Tel: 852 27999019  
询价: [wkgz.info@fujifilm.com](mailto:wkgz.info@fujifilm.com)  
官网: [labchem.fujifilm-wako.com.cn](http://labchem.fujifilm-wako.com.cn)

官方微信

目录价查询



- 1) 本资料是由Kikkoman中国代理商富士胶片和光制作
- 2) 本资料所刊载的内容和数据,皆来自生产商Kikkoman