

# 〔報文〕 文化財公開施設等における ATP 拭き取り検査の活用について

間 潤 創・木川 りか・佐野 千絵

## 1. はじめに

アデノシン三リン酸 (ATP) は生細胞において用いられるエネルギーの保存と利用に関与しているヌクレオチドで、すべての真核生物がこれを利用している。従って ATP の検出は生物が存在することの指標となる。また ATP は細胞の死滅とともに速やかに ATP アーゼによって加水分解されるため、細胞の生死判定が可能である。

ATP は D-ルシフェリンと酸素の存在下で、ルシフェラーゼを反応させることにより、アデノシン一リン酸 (AMP)・ピロリン酸・オキシルシフェリン・二酸化炭素に分解され、この際に発光を生じる。この反応で生じる光の量は ATP 量と比例することから、発光量を測定することにより ATP を定量することができる。

この ATP 発光を利用した微生物測定法は、食品衛生分野で多数報告され<sup>1,2)</sup>、我が国においても広く利用されている<sup>3,4)</sup>。また食品衛生検査法として2004年に厚生労働省監修の食品衛生検査指針に収載されている<sup>5)</sup>。特に衛生管理を目的として、ポータブルルミノメータと試薬がセットされた専用の綿棒による ATP 拭き取り検査を行う事業所が増えている。生菌に含まれる ATP (生体内 ATP) と生物由来の汚れ・残渣 (遊離 ATP) の合計である総 ATP 量を用いた汚染度評価や、殺菌消毒剤による薬剤処置後の殺菌効果判定に利用されている。従来の培地接種法では煩雑な作業を伴い、最短でも数日かかっていたが、ATP 拭き取り検査であれば数分で行うことが可能である。

文化財分野では、文化財表面や収蔵環境の微生物汚染度の評価や殺菌処置の効果判定に培地接種法が用いられてきた。ATP 拭き取り検査のメリットは測定の簡易さと迅速性にあり、これらは文化財公開施設等での微生物測定においても有用であると考えられる。しかし食品衛生分野と文化財分野では微生物測定を行う目的や環境・状況が大きく異なる。文化財保存の現場において ATP 拭き取り検査による微生物汚染度評価や殺菌処置の効果判定が可能であるかの検討が必要である。

i) 一般的な文化財公開施設(環境保全による微生物制御)における微生物汚染度評価と、  
ii) 現地保存される古墳等のような特殊な環境(薬剤による微生物制御)における殺菌処置の効果判定について、ATP 拭き取り検査の活用について実験を行ったのでその結果について報告する。

## 2. 文化財公開施設等における微生物測定について

一般的な文化財公開施設でカビ様の物質が確認されることがあるが、目視ではこれらが微生物であるか、無機物等の汚れであるかの判別が難しいことがある。微生物であった場合には、その生死についての判定がその後の処置に対して重要となる。これらは滅菌綿棒等でサンプリングし、培地へ接種・培養することで微生物であるかや、その生死の判定が行われてきた。しかし、好乾性真菌の場合には培養に数週間かかることもあり、現場での緊急的な対応へ結びつけることが難しい。また培地の選択によってはうまく培養できないこともある。

また保存環境の微生物汚染度評価として、収蔵庫等の壁面において培地接種法による定性的(場合によっては半定量的)な付着真菌測定が行われる。培養に時間がかかることは微生物判定と同様であるが、明らかな異物のサンプリングと異なり微生物量が少ないこと、滅菌綿棒から培地への接種効率がよくないことから、よほど顕著な微生物汚染でなければ検出が困難であることなどうまくいかないことも多い。

そこで文化財公開施設において実際に測定を行い、ATP 拭き取り検査による微生物判定と微生物汚染度評価の可能性について検討を行った。

他方、現地保存されている古墳等では微生物被害が発生しやすい環境になっており、薬剤処置による微生物制御が行われる事もある。これらの殺菌処置の効果判定には食品衛生分野と同様、培地接種法が用いられてきた。食品衛生分野ではこの殺菌効果判定に ATP 拭き取り検査が取り入れられ始めているが、食品衛生分野での薬剤による微生物制御では、殺菌処置後には必ず洗浄処置が行われ、微生物の残滓や汚れとともに殺菌消毒剤そのものも完全に除去される。この点について、現地保存される古墳等の石材や土壌を対象とした殺菌処置の場合、基質への染み込みや過剰水分の供給への懸念から、水洗浄による殺菌消毒剤の完全な除去は困難な場合が多い。ATP 拭き取り検査キットの解説には洗剤、漂白剤、殺菌剤、消毒剤などが拭き取り表面に残っていると測定値に影響すると表記されているが、具体的にどういった薬剤・濃度において、どういった影響があるのかは明確にされていない。ATP 拭き取り検査を古墳等での殺菌効果判定に活用していくためには、古墳等で使用されている個々の殺菌消毒剤の種類や濃度について ATP 拭き取り検査に与える影響を把握する必要がある。

そこで殺菌消毒剤そのものが ATP 発光測定へ与える影響、及び殺菌処置した試料の ATP 拭き取り検査結果と実際の生菌数の相関についての実験を行った。

以上の実験により、文化財公開施設等における ATP 拭き取り検査の活用の可能性について検討を行った。

### 3. 実験

#### 3-1. 文化財公開施設における ATP 拭き取り検査

文化財公開施設のガラス上で確認されたカビ状の白色物質(φ 1 mm 程度)について微生物かどうかの判定を行った。白色物質の微生物判定は、拭き取り用清浄度検査キット(ルシパック II/キッコーマン株式会社)によりサンプリングし、その場でポータブルルミノメータ(ルミテスター C-110/キッコーマン株式会社)によって ATP 発光量(RLU: Relative Light Unit)の測定を行った。また従来法である滅菌綿棒を用いた培地接種法による培養も平行して行った。培地接種法には PDA(高湿性真菌用)、MA(高湿性真菌用)、DG-18(好乾性真菌用)及び MA40(好稠性真菌用)を用い、室温で1ヶ月間培養を行った。

また空調された収蔵庫内の微生物汚染度評価として ATP 拭き取り検査を行った。収蔵庫内の微生物汚染度評価についての ATP 拭き取り検査は、各測定箇所につき約 100cm<sup>2</sup>(10cm × 10cm)を拭き取り用清浄度検査キットによりサンプリングし、その場でポータブルルミノメータによって ATP 発光量(RLU)の測定を行った。

以上の実験により ATP 拭き取り検査による微生物判定と微生物汚染度評価の可能性について検討を行った。

### 3-2. ATP 拭き取り検査への殺菌消毒剤の影響

#### 3-2-1. 殺菌消毒剤の ATP 発光量への影響

殺菌消毒剤が ATP 発光測定へ与える影響について実験を行った。ATP 標準試薬（ルシフェール ATP 標準試薬 / キッコーマン株式会社）を各種殺菌消毒剤で希釈し（ $10^{-12}$ ～ $10^{-7}$  M）、発光試薬（ルシフェール HS / キッコーマン株式会社）とルミノメータを用いて発光量（RLU）の測定を行った。本実験で選択した殺菌消毒剤（①～⑤）の一覧を表 1 に示す。現地保存される古墳等において殺菌消毒剤として使用されたことのある薬剤、濃度を文献や報告書等を参照し選択した<sup>6,7)</sup>。

各種殺菌消毒剤によって希釈した ATP 標準試薬（M）の発光量（RLU）と、標準試薬希釈液（ルシフェール ATP 標準試薬溶解希釈液 / キッコーマン株式会社）によって希釈した検量線を比較した。

表 1 薬剤一覧

薬剤及び濃度	備考
①99.5%エタノール	和光純薬工業 試薬特級 エタノール (99.5) min.99.5vol%
②10%ホルマリン	和光純薬工業 試薬特級 ホルムアルデヒド液 (ホルマリン) ホルムアルデヒド37%・メタノール8%含有水溶液 上記原液10倍希釈 (3%ホルムアルデヒド)
③1%塩化ベンザルコニウム	日本薬局方 塩化ベンザルコニウム液 オスバン10%消毒剤 塩化ベンザルコニウム 10w / v %含有水溶液 上記原液10倍希釈
④1%ケーソン CG	大和化学工業 アモルデン FS-14D (Kathon™ CG 相当)。 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン1.0～ 1.3%・2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン 0.3～0.42% 含有水溶液 上記原液100倍希釈
⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウム	関東化学 鹿1級 次亜塩素酸ナトリウム溶液 min.5.0% 上記原液10倍希釈
⑥殺菌灯	Panasonic 殺菌灯 GL-20 253.7nm 紫外放射出力 7.5W 照射距離 10cm

#### 3-2-2. 殺菌処置試料の ATP 拭き取り検査と生菌数測定

殺菌処置後に殺菌消毒剤を完全に除去しない状態での ATP 拭き取り検査結果（RLU）と実際の生菌数（CFU: Colony Forming Unit）の関係について実験を行った。また殺菌消毒剤を使用しない⑥殺菌灯についても実験を行った。

孢子懸濁液：菌種により細胞あたりの ATP 量（mol/cell）は異なる。ATP 量（mol/cell）・ATP 発光量（RLU）・孢子数（CFU）の関係を単純化するために単一孢子懸濁液を用いた。孢子懸濁液には室内での落下真菌測定で捕集された真菌のうち、PDA 培地上でのコロニー発達が比較的小さく遅い（計数に適している）*Aspergillus versicolor* を用いた。本実験で用いた発光試薬及びルミノメータによる測定では *Aspergillus versicolor* の細胞あたりの ATP 量は約  $1.1 \times 10^{-16}$ （mol/cell）であった。また実験に用いた孢子懸濁液に含まれる生体外の遊離

ATP量は、総ATP量（生体内ATPと遊離ATPの合計）に対して10%未満であった。

ATPふき取り検査：吸引ろ過することにより孢子懸濁液（100 $\mu$ L）を接種したメンブレンフィルタ（ $\phi$ 47mm, 孔径0.45 $\mu$ m）に対して、表1①～⑤の各種殺菌消毒剤（3mL）及び⑥殺菌灯（254nm, 照射距離10cm）により殺菌処置を行った。殺菌処置後、余剰の殺菌消毒剤は吸引ろ過による除去のみとし、水洗浄による完全な除去を行わない状態とした。殺菌処置時間（接触時間：0～60sec, ⑥については0～10min）ごとにメンブレンフィルタ上のATP拭き取り検査を行いATP発光量（RLU）の測定した。

生菌数の計数：孢子懸濁液に表1と同様の濃度となるように①～⑤の殺菌消毒剤を混積し、接触時間ごと（0～60sec）に $10^{-3}$ ～ $10^{-6}$ 倍に希釈した水溶液100 $\mu$ LをPDA培地へ接種し生菌数の計数を行った。⑥殺菌灯については、ガラスシャーレに分注した孢子懸濁液に⑥殺菌灯を照射し、照射時間ごと（0～10min）に $10^{-3}$ ～ $10^{-6}$ 倍に希釈した水溶液100 $\mu$ LをPDA培地へ接種し生菌数の計数を行い、1mLあたりの生菌数（CFU/mL）を算出した。

## 4. 結果と考察

### 4-1. 文化財公開施設におけるATP拭き取り検査について

#### 4-1-1. 微生物判定

微生物判定について、約 $\phi$ 1mmの白色物質（3点）のATP拭き取り検査結果を表2に示す。本実験のブランクは0～20RLUであったことから、この白色物質からのATP発光量は検出限界以下であった。また培地接種法によってPDA・MA・DG-18・MA40の各培地で1ヶ月間培養したが、いずれの培地からも微生物の発生は見られなかった。以上の結果から、この白色物質は微生物ではないか、あるいは微生物ならば死滅した状態であると考えられる。

表2 白色物質のATP拭き取り検査結果

白色物質（1）	5 RLU
白色物質（2）	10 RLU
白色物質（3）	4 RLU

#### 4-1-2. 微生物汚染度

収蔵庫内のATP拭き取り検査について、図1にサンプリング場所を示し、表3にATP拭き取り検査結果を示す。

#1スチールラック上と#2木製棚上のサンプルにおいてATP発光が検出され、また材質が異なっても同程度の値となった。空調空気は吹出口（#3）から室内（#1, #2）に供給され吸込口（#4）から排気される。#3空調吹出口のサンプルにおいてATP発光量が最も少なく、#4空調吸込口のサンプルにおいて最も多くなっている。

食品衛生工程等と異なり食品残渣などのATP源は考えられず、また基質（スチール・木材）の違いによってATP発光量に差異がみられないことか

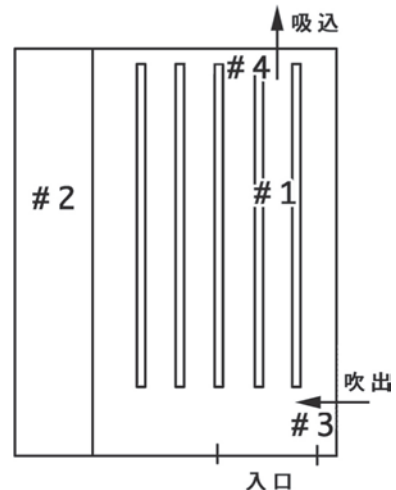


図1 収蔵庫内のATP拭き取り検査場所

ら、検出された ATP は表面に堆積した塵芥に由来するものと考えられる。ATP が塵芥に由来するものであるならば、空調空気の給気側で ATP 発光量が少なく、排気側で多くなることは理屈にかなうものと考えられる。比較的清浄な保存環境において、 $10^2$  RLU オーダーの測定が可能であり、塵芥量の相対的な比較が可能であると考えられる。このことから文化財公開施設等における微生物汚染度評価への ATP 拭き取り検査の活用は可能であると考えられる。

表3 収蔵庫内の ATP 拭き取り検査結果

# 1	スチールラック	262 RLU
# 2	木製棚	231 RLU
# 3	空調吹込口	169 RLU
# 4	空調吸込口	407 RLU

#### 4-1-3. 文化財公開施設における ATP 拭き取り検査について

文化財公開施設における微生物判定について、今回の測定では ATP 拭き取り検査及び培地接種法の両測定ともに微生物の検出が見られなかった。これに対して別の現場（高湿度環境）ではステンレス上に発生した *Penicillium* sp.  $\phi$ 15mm 程度のコロニーを同様の手法で測定した際の ATP 発光量は  $10^4$  RLU 程度であった。従って生きた真菌であれば  $\phi$ 1 mm 程度であっても十分 ATP 発光を検出できるものと推定される。今後 ATP 拭き取り検査と培地接種法を平行して行う事例を増やしていくことで、菌種やコロニー径など、どういった条件であれば ATP 拭き取り検査のメリットである迅速性・簡易性を生かしていけるか検討していく必要があると考えられる。

文化財公開施設における微生物汚染度評価について、今回の測定では同一室内における限られた環境で行ったものである。ATP 拭き取り検査では菌種の同定はできず、また微生物によって細胞当りの ATP 含量が異なるうえ（一般的に  $10^{-18}$  mol/cell（細菌）～ $10^{-15}$  mol/cell（酵母・真菌）とされている<sup>8, 9)</sup>）、サンプリング表面には多種の微生物が存在している可能性が考えられる。従って原則的には異なる環境同士での発光量 (RLU) をもって微生物の絶対数を比較することはできない。ただ今回のケースは乾燥した保存環境であったが、高湿度保存環境における別の現場での測定において、目視では微生物が確認できないが、結露を生じていた石材での ATP 拭き取り検査では約  $10^5$  RLU/cm<sup>2</sup> 程度となり、本実験結果 ( $10^1$  RLU/cm<sup>2</sup>) と比較して  $10^4$  倍程度の差異として検出された。微生物の絶対数による比較は困難であるが、場合によっては異なる環境との微生物汚染度の比較も可能であると考えられ、今後さらに事例を増やしていくことで、多様な文化財公開施設において、どの程度の範囲で比較が可能であるのかを検討していく必要があると考えられる。

#### 4-2. ATP 拭き取り検査への殺菌消毒剤の影響について

##### 4-2-1. 殺菌消毒剤の ATP 発光量への影響

各種殺菌消毒剤を希釈溶媒とした時の、ATP 濃度 (M) と発光量 (RLU) の関係について図 2 に示す。また各グラフに ATP 標準試薬と標準試薬希釈液 (HEPES 緩衝液) による検量線を記載した。

①99.5%エタノールは発光試薬 (D-ルシフェリン・ルシフェラーゼ + 酢酸マグネシウム) を添加することでエタノール沈殿により白色沈殿物が生じた。 $10^{-8}$  M 以上の ATP 濃度におい

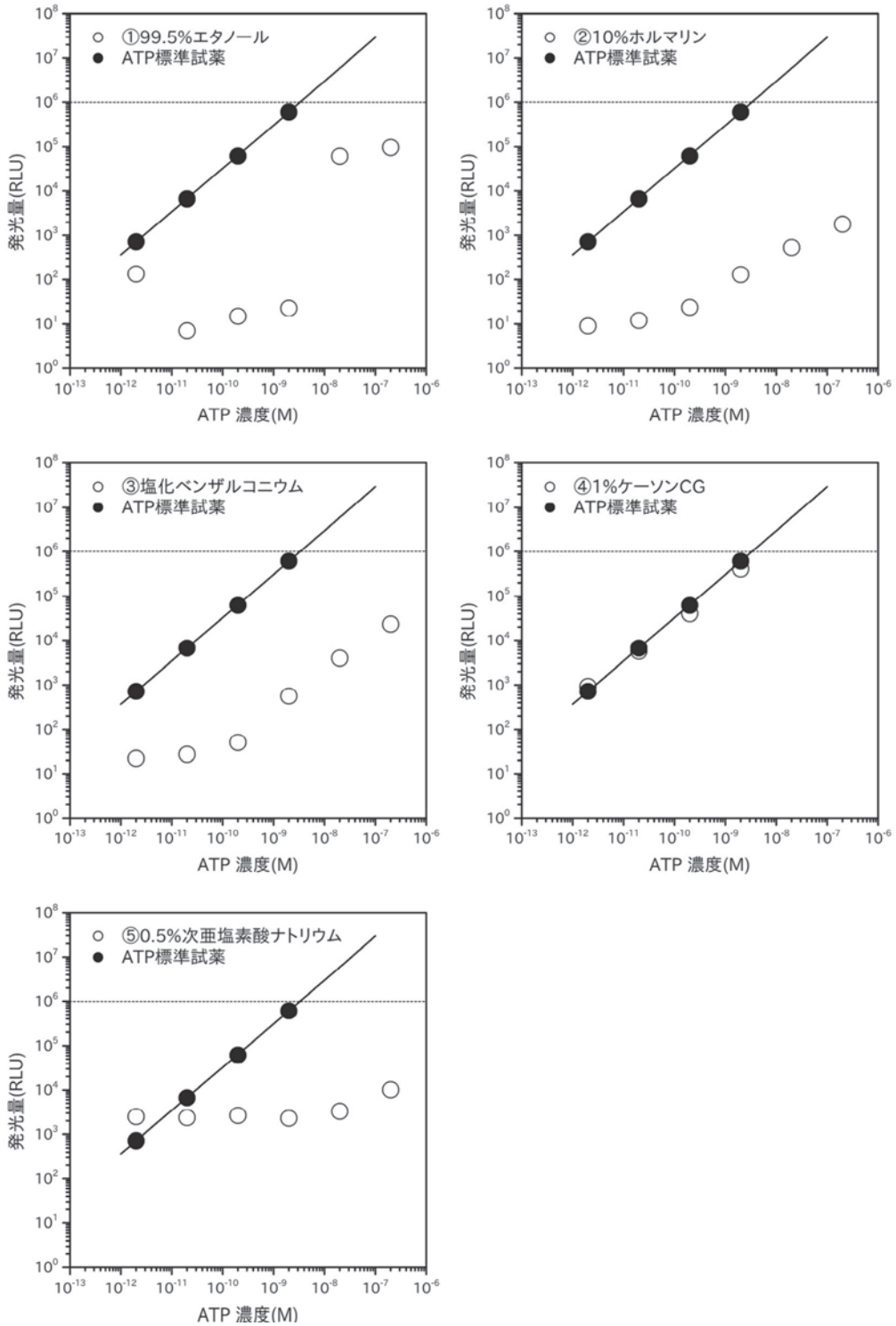


図2 各種殺菌消毒剤を希釈溶媒とした時のATP濃度(M)とATP発光量(RLU)の関係  
発光量 $10^6$ (RLU)の破線はルミノメータによる測定最大値を示す。

て $10^5$ RLU以上のATP発光が検出されたが、ATP発光が沈殿物により散乱・遮光されることで検出器に正確に届いていないことが観察された。この沈殿物の分散状態によって測定値に大きなばらつきが生じた。②10%ホルマリン、③1%塩化ベンザルコニウムを希釈溶媒とした場合には、検量線と比較してATP濃度に対する正確な発光量をえることができなかった。しかし $10^{-9}$ M以上のATP濃度域において、 $10^3\sim 10^4$ 程度低い発光量ではあるが、ATP標準試薬による検量線に近い傾きを示し、ATP濃度の $10^2$ 倍の変化に対して $10^1\sim 10^2$ 倍程度の発光量の変化が見られた。④1%ケーソンCGは発光量に大きな影響を与えなかった。⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムについては、 $10^{-12}\sim 10^{-9}$ MのATP濃度範囲では発光量は一定となり、 $10^{-9}\sim 10^{-7}$ MのATP濃度範囲においても5倍程度の発光量変化しか得られなかった。

①99.5%エタノール、②10%ホルマリン、③1%塩化ベンザルコニウム、⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムが大量に存在する場合にはATP発光測定に影響を与えることがわかった。ただし高ATP濃度域で発光量が増加する傾向も見られたため、目視で確認できる程の真菌コロニーに対する殺菌消毒処置のように、殺菌消毒剤量に対してATP量(微生物量)が十分に多い状況であれば、水洗等により完全に殺菌消毒剤が除去されていなくても、ATP発光量の相対的な変化を比較できる可能性もある。

#### 4-2-2. 殺菌処置試料のATP拭き取り検査と生菌数測定

同じ接触時間における、各殺菌消毒剤を完全に除去しない状態でのATP拭き取り検査結果(RLU)と生菌数(CFU/mL)の測定結果を図3に示す。

孢子懸濁液を接種しないATP拭き取り検査値(ブランク=生菌数0CFU)は $0\sim 20$ RLU( $0\sim 2\times 10^1$ RLU)程度であった。接触時間0秒(生存率=100%)のATP発光量の測定は、殺菌消毒剤の代わりに滅菌水を用いて行った。

①99.5%エタノール、②10%ホルマリン⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムの各殺菌消毒剤について、生菌数の減少に対してATP発光量の対応が見られなかった。これに対して③1%塩化ベンザルコニウム、④1%ケーソンCG、⑥殺菌灯での処置では、生菌数の減少に伴いATP発光量も減少した。

そこで③1%塩化ベンザルコニウム、④1%ケーソンCG、⑥殺菌灯について、生存率(%) = [殺菌消毒処置試料生菌数(CFU/mL) / 未殺菌消毒処置試料生菌数(CFU/mL)]  $\times 100$ 、発光率(%) = [殺菌消毒処置試料発光量(RLU) / 未殺菌消毒処置試料発光量(RLU)]  $\times 100$ として両者に相関があるかについて検討を行った(図4)。③1%塩化ベンザルコニウムは生存率の低下に伴い発光率も低下しているが、生存率約0%に対して発光率約10~30%となり明確な相関は示さなかった。④1%ケーソンCGでは生存率約55%に対してATP発光率が約43%、生存率約20%に対してATP発光率が約25%まで減少し直線的な相関が見られた。⑥殺菌灯では直線的な相関は見られないが、生存率約10%に対してATP発光率が約9%、生存率0%でATP発光率約2%まで減少しており、低生存率においては両者が近い値を示した。

①99.5%エタノール、②10%ホルマリン、③1%塩化ベンザルコニウム、⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムは作用機構である細胞膜の急激な変性・溶解に伴い、細胞内のATPが溶出することで、目的とする生菌のATPだけでなく、死滅した細胞のATPも同時に検出されたと考えられる。実験過程上、余剰殺菌消毒剤の除去に伴ってこの死滅細胞からのATPはある程度廃液として除去されている可能性があるが、積極的な水洗浄を行わない限り、メンブレンフィルタ表面に相当量の遊離ATPが残存すると考えられる。従って細胞膜に作用する機構をもつこれらの殺菌消毒剤では、殺菌処置によって実際には生菌数が減少していても、ATP拭き取り

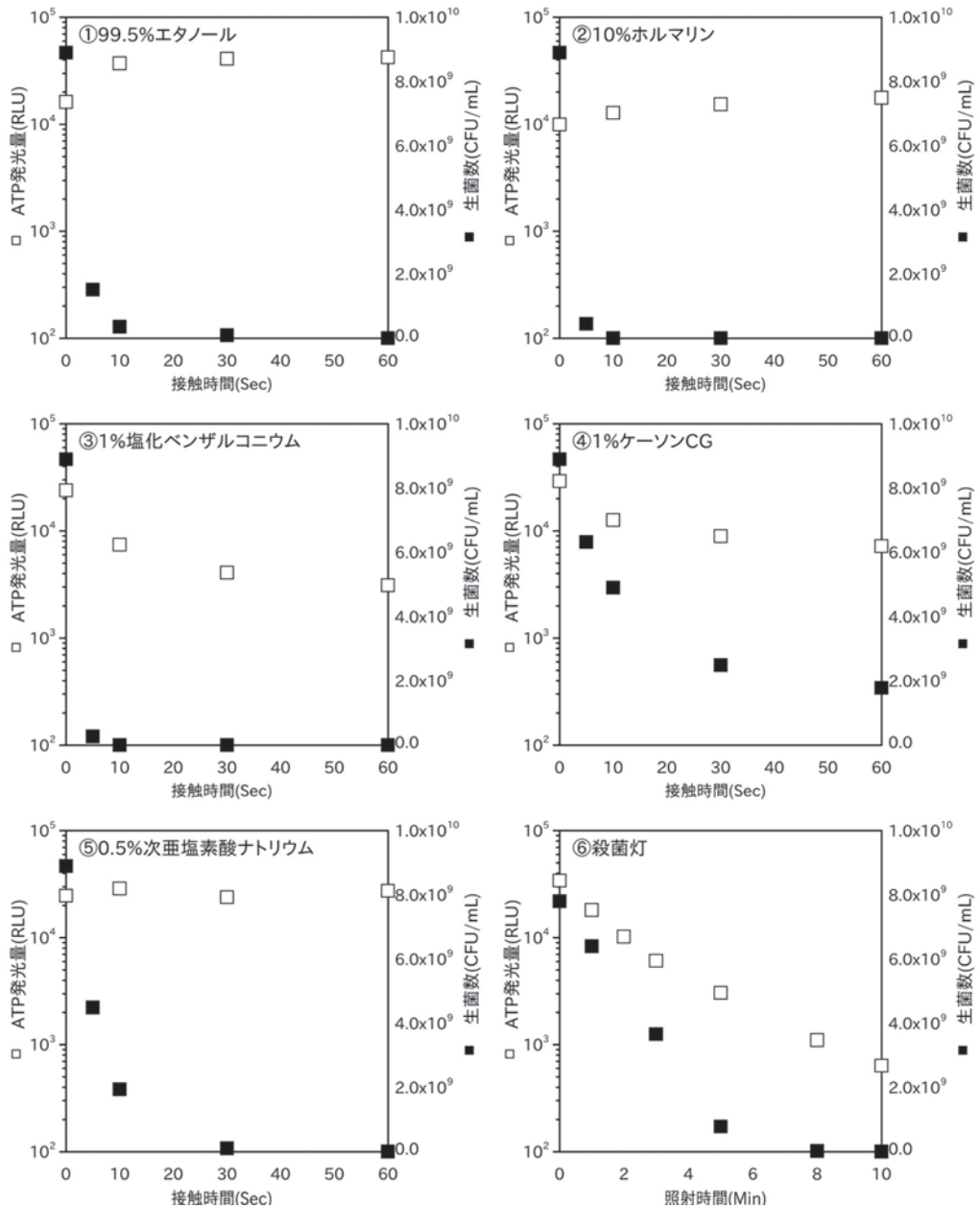


図3 ATP拭き取り検査によるATP発光量(RLU)と生菌数(CFU/mL)

検査結果には反映されないことになる。原理的には遊離ATP除去剤を用いた生菌ATP測定を行うことで殺菌効果判定は可能ではあるが、この測定法ではATP拭き取り検査のメリットである迅速性・簡易性を活かすことはできない。

これに対して④1%ケーソンCGは細胞膜の溶解や変性ではなく、代謝回路(クレブス回路)の酵素阻害により殺菌効果を示すことから、細胞死に伴うATPの加水分解により発光量が減少したものと考えられる。またATP標準試薬の標準試薬希釈液に⑥殺菌灯を照射する実験を



行ったが、紫外線による ATP の分解は認められなかったことから、⑥殺菌灯による ATP 発光量の減少も、細胞死に伴う ATP の加水分解によるものと考えられる。以上の結果から④1%ケーン CG、⑥殺菌灯による殺菌効果の判定は可能であると考えられる。

#### 4-2-3. 古墳等における ATP 拭き取り検査を用いた殺菌効果判定

ATP 標準試薬を用いた殺菌消毒剤の ATP 発光測定への影響について、④1%ケーン CG は影響を与えなかったが、①99.5%エタノールは沈殿を生じることにより測定値にばらつきが大きく現れ、また②10%ホルマリン、③1%塩化ベンザルコニウム、⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムは本来の ATP 発光量よりも少なく検出された。ただし ATP 濃度によっては薬剤による影響を少なく見積もることができると推察されたことから、殺菌消毒剤量に対して ATP 量（微生物量）が十分に高い状況であれば、ATP 発光量の変化を把握することが可能な場合もあると考えられる。新たな薬剤による殺菌効果判定に対して、薬剤の種類による ATP 発光量への影響の有無だけでなく、どの程度の ATP 濃度域であれば ATP 発光量の相対的な比較が可能であるか事前に理解しておくことで、ATP 発光測定を活用できる機会が増えるものと考えられる。

ATP ふき取り検査結果と実際の生菌数の関係について、薬剤や残滓を完全に除去できない状況では、細胞膜に直接作用する機構をもつ①99.5%エタノール、②10%ホルマリン、③1%塩化ベンザルコニウム、⑤0.5%次亜塩素酸ナトリウムでの処置の殺菌効果判定に ATP ふき取り検査は適用できないことが確認された。これに対して酵素阻害による作用機構を持つ④ケーン CG や254nm 紫外線による⑥殺菌灯については殺菌効果判定が可能であった。本実験では過去に古墳等で用いられた殺菌消毒剤を使用した。新たに薬剤を選択して使用する際に薬剤の作用機構や ATP との反応性などについて事前に把握することで、ATP 拭き取り検査が適用できる場合もあると考えられる。

## 5. まとめ

文化財公開施設等における微生物測定への ATP 拭き取り検査の活用について検討を行った。

i) 一般的な文化財公開施設において ATP ふき取り検査による微生物判定と微生物汚染度評価を行った。これらについて ATP ふき取り検査を適用することは可能であった。特に微生物汚染度評価については、収蔵環境の塵芥量分布の把握が可能であった。今後も事例を増やしていく必要があるが、文化財公開施設における ATP ふき取り検査の活用は可能であると考えられる。

ii) 殺菌消毒処置後、薬剤や残滓を完全に除去できない条件における ATP 拭き取り検査による殺菌効果判定について、99.5%エタノール、10%ホルマリン、1%塩化ベンザルコニウム、0.5%次亜塩素酸ナトリウムは ATP 発光測定への影響や、作用機構による死滅細胞からの遊離 ATP の検出により適用できないことが確認された。これに対して酵素阻害剤である1%ケ

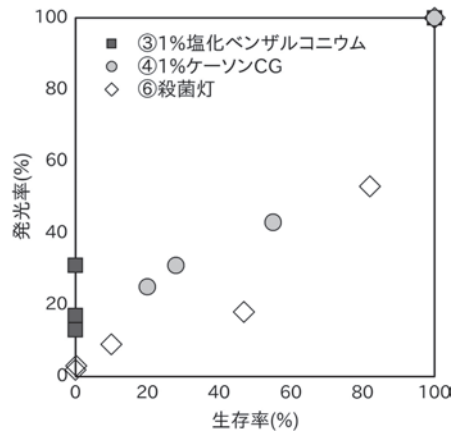


図4 生存率 (%) と発光率 (%) の相関

ソン CG や紫外線による処置に対しては殺菌効果判定が可能であった。ATP 拭き取り検査による殺菌効果判定が可能な殺菌消毒剤と、そうでない殺菌消毒剤があることから、事前に使用する薬剤についての ATP 発光測定への影響の程度や、作用機構等について予備的な実験を行うことができれば、古墳等における殺菌効果判定に ATP 拭き取り検査を活用することも可能であると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Poulis J. A., Pijper M., Mossel D. A. A., Dekkers P. Ph. A.: Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the rapid ATP - bioluminescence technique combined with the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method, *International Journal of Food Microbiology*, 20, 109-116 (1993)
- 2) Gracias K. S., McKillip, J. L.: A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food, *Canadian Journal of Microbiology*, 50, 883-890 (2004)
- 3) 本間茂: 清浄度管理指標としての ATP の利用, *食品と開発*, 31, 22-25 (1996)
- 4) 本間茂: ATP 法による清浄度の迅速検査技術 - 認知から活用段階に入った ATP ふき取り検査 -, *食品と開発*, 37, 16-18 (2002)
- 5) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針 微生物編 2004 (2004)
- 6) 間瀬創, 佐野千絵: 現地保存される古墳・遺構等における土壌及び石材に対する殺菌消毒剤の効果について, *保存科学*, 48, 183-198 (2009)
- 7) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳の前室および石室における菌類調査報告, *保存科学*, 44, 165-172 (2005)
- 8) 山崎省二編: 『環境微生物の測定と評価』, オーム社 (2001)
- 9) 伊藤武: 『ATP・迅速検査研究会監修: 新しい衛生管理法 ATP ふき取り検査』, 鶏卵肉情報センター (2009)

キーワード: 生物発光(bioluminescence); ATP/ アデノシン三リン酸(Adenosine TriPhosphate); 保存環境 (conservation environment); 殺菌剤 (sterilization agent)

# Application of ATP Swab Test in Conservation Facilities for Cultural Properties

Hajime MABUCHI, Rika KIGAWA and Chie SANŌ

Microorganism contamination measurement using ATP (Adenosine triphosphate) bioluminescence is reported much in the field of food hygiene. Especially ATP swab test using a portable luminometer and an exclusive swab with extract agent and luciferase is widely utilized for sanitary control. ATP swab test takes only a few minutes to check biocontaminations, while traditional agar incubation method takes several days. The advantages of ATP swab test are its simplicity and promptness in operation, and these are thought to be useful in microorganism measurement at museums and conservation facilities for cultural properties.

However, there is a very large difference in the environment and the situation in which microorganism measurement takes place between food hygiene and conservation of cultural properties. In the case of biocontamination check in storages in museums, the environment is quite dry and has only a little ATP sources compared with that at food factories or restaurant kitchens. On the other hand, in the case of sterilization of stones and soils in conservation facilities of tumuli or historic sites, sterilization agents penetrate into the substrate, and an ATP swab test is conducted under a situation in which sterilization agents are insufficiently removed. For the practical use of ATP swab test in conservation facilities, we conducted two investigations. One is to try biocontamination check at a museum, and the other is to verify proper measurement under a situation in which sterilization agents exist.

As a result of biocontamination check at the museum, it was possible to detect enough luminescence from wiped swabs and to estimate the distribution of biocontamination in the storage. We certified that ATP swab test can be utilized well in museums.

As a result of experiments about the interference effect of sterilization agents to the measurement of ATP luminescence, it was found that some of the agents disturbed luminescence measurement when ATP concentration was low. We conducted another experiment about ATP swab test in the situation in which sterilization agents existed on *Aspergillus versicolor*. In the case of agents which directly attack the cell wall in the sterilization mechanism (ex. ethanol, formalin, benzalkonium chloride, sodium hypochlorite), the amount of ATP luminescence (RLU: Relative Light Unit) and survived spores (CFU: Colony Forming Unit) were not correlated because of the elution of intracellular ATP. On the other hand, in the case of an agent which obstructs enzyme action in the sterilization mechanism (Kathon CGTM) and irradiation of ultraviolet ray, the amount of ATP luminescence correlated with survived spores. Thus at tumuli or historic sites, since ATP swab test can be utilized for the verification of sterilization when using only specific agents, it is necessary to assess its application beforehand.