

バイオトラック (BioTrak™) リアルタイム浮遊菌カウンター 動作原理

アプリケーションノート CC-101

翻訳：ニッタ株式会社 クリーンエンジニアリング事業部 技術部 モニタリング課

1. はじめに

バイオトラックリアルタイム浮遊菌カウンター（以降 **BioTrak** と表記）は、気中の全浮遊粒子数と、その内の浮遊生菌粒子数を測定する計測器である。さらに、**BioTrak** には粒子捕集用フィルターが搭載され、光学的に検出された粒子の事後の菌種分析が可能である。**BioTrak** には、TSI 社の粒子計測理論、計測器開発、校正に関する経験をもとにした実証済みの技術が採用されている。

BioTrak は、微生物の迅速検査法（RMM）として知られる計測器に分類される。この方法は、製造スペースの環境の微生物汚染を監視する際に、大きな利益をもたらす可能性があるものとして過去数年間で高い注目を集めている。

また、リアルタイムで浮遊菌の存在を検出できることは、**BioTrak** の主要な差別化要因の一つである。従来のアクティブエアースAMPLINGと公定法である培養による計数法では、培養と分析に2日から4日かかっていたが、**BioTrak** により次のようなことが可能になる。

- 製造環境の浮遊菌数の傾向を高い精度で示す
- 浮遊菌汚染の即時の報告は次のようなことを可能にする
 - 汚染に曝された可能性のある製品を隔離する
 - 環境汚染の警告、警報を発する
 - 根本原因調査を迅速に始めることができる
- PAT に基づくプロセス制御への入力
- リアルタイムの製品リリースの可能性
- クリーンルームにおける適切な行動についての人的教育に対するリアルタイムのフィードバック

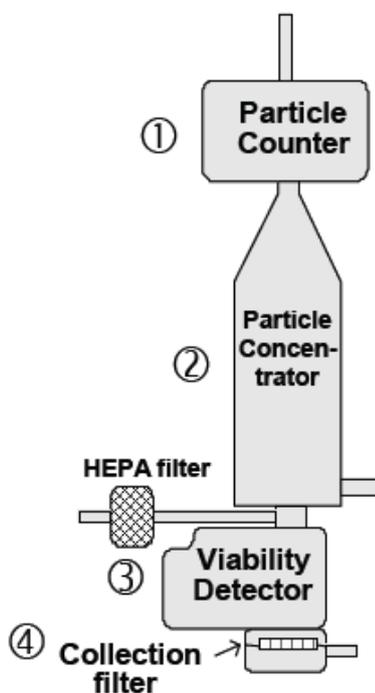
新しい計測技術の受け入れは、計測機器だけでなく、それを供給するサプライヤの両方が顧客から信頼されることで達成される。これは、計測器がどのように動作するかを完全に理解することと、オープンなコミュニケーションによってのみ達成される。測定法の適

切な知識を持つことで、ユーザーは BioTrak を製造環境に適切に導入することができ、この独特な計測器による利便性を向上することができる。

2. 動作原理

BioTrak は、TSI の従来の粒子計測技術と新しい浮遊菌検出技術を一つのポータブルな計測器にしたものである。また、BioTrak は、光学的に全粒子数と浮遊生菌数を計測し、光学的に分析された粒子を事後の菌種分析のため捕集できるように、いくつかの技術を採用している。主要な構成部を以下の図に示す。この装置の要所であり、本書の焦点は浮遊菌検出部である。

- ①標準的な 1 CFM 気中粒子計数器
- ②粒子濃縮器
- ③レーザー励起蛍光法（LIF）を用いた生菌粒子検出装置
- ④粒子の菌種分析のための捕集フィルター



3. ISO 21501-4 適合の光散乱式気中粒子計数器

BioTrak の検出部の最初の段階は、粒子を粒径によって分類し計数する気中粒子計数器 (APC) で、TSI の標準製品の AeroTrak™ 粒子計数器と同じ技術、性能、校正プロセスが採用されている。気中粒子計数器は粒子がレーザーを遮る際に生じる散乱光の強度を計測することにより、粒子を検出し、その粒径を測定する。散乱光は PIN ダイオードとして知られる光電素子に集められ、光学エネルギーが電気エネルギーに変換される。検出部に届く散乱光の強度は Mie 散乱理論により説明されている。

また、APC の技術は成熟したものであり、多くの文献で説明されている。近年では、ISO 21501-4 で、異なる製造メーカーの APC であっても、一定の基準で比較することができるよう、どのように分類され、校正されるべきかを規定している。BioTrak の粒子検出部は 1 CFM (28.3 LPM) の大流量で、0.5~10 μm の範囲の 6 つの粒径閾値を持ち、ISO 21501-4 の規定する全ての要求に適合している。

4. 粒子濃縮器

浮遊菌検出部の微弱な蛍光信号を測定するため、粒子濃縮器が必要とされる。前段階の粒子検出部で得られた 28.3 LPM での流速で、粒子蛍光を測定することはできない。そこで、粒子濃縮器は測定対象である 2~10 μm の微生物のサイズ範囲の粒子を保持しつつ、不必要なフローを取り除く。

TSI は特許*の高効率慣性粒子濃縮器を使用している。動作原理と特性は、別のアプリケーションノートに詳しく述べられている。

5. 浮遊菌検出部

浮遊菌検出部はレーザー励起蛍光 (LIF) に基づく特許技術を使用しており、LIF を用いた浮遊菌検出の基本は微生物構成成分の自家蛍光である。蛍光する物質は細胞生存性と関係する特定の細胞代謝物質で、紫外線光に励起された時に蛍光する。最も一般的な細胞生存性と関係している代謝物質はトリプトファン、NADH、フラビン (リボフラビン) の 3 種類の物質で、これらの代謝物質は固有の励起発光曲線を持つ。浮遊菌検出部に搭載しているレーザーは 405 nm 半導体レーザーで、サイズが小さく、低消費電力、入手しやすいなどの点から最も一般的な励起光源である。図 1 はリボフラビンの波長ごとの励起光と蛍光帯域を示す。

*バイオトラックは次の特許の 1 つかそれ以上の技術を用いている : 6,167,107; 5,701,012; 5,895,922; 6,831,279; 7,261,007.

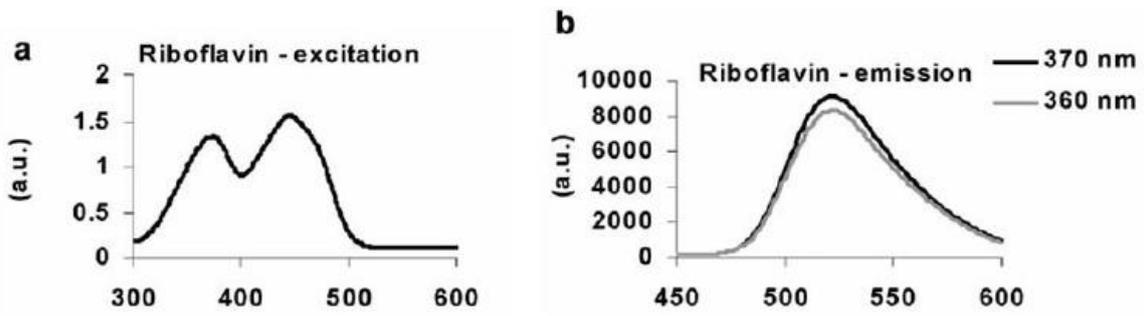


図 1. Riboflavin excitation and emission curve
(Plytycs et al *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2006)

図 1 a を見ると、励起帯域はかなり広く、これは 300~500 nm の波長が代謝物質の蛍光を起こすことを示している。図 1 b の蛍光曲線は蛍光の波長と強度帯域の関係を示す。重要なことは、蛍光帯域の形は励起波長に依存せず、蛍光の強度は励起波長に依存するということである。分子は励起帯域のいずれの波長でも励起され、励起波長を超える波長で蛍光する。また、各生物代謝物質は固有の LIF 励起と蛍光曲線を持つ。浮遊菌による蛍光スペクトルはさまざまな代謝物質の混合物で、微生物の種類を特定するに十分なものではないので、LIF によって菌種を同定することはできない。

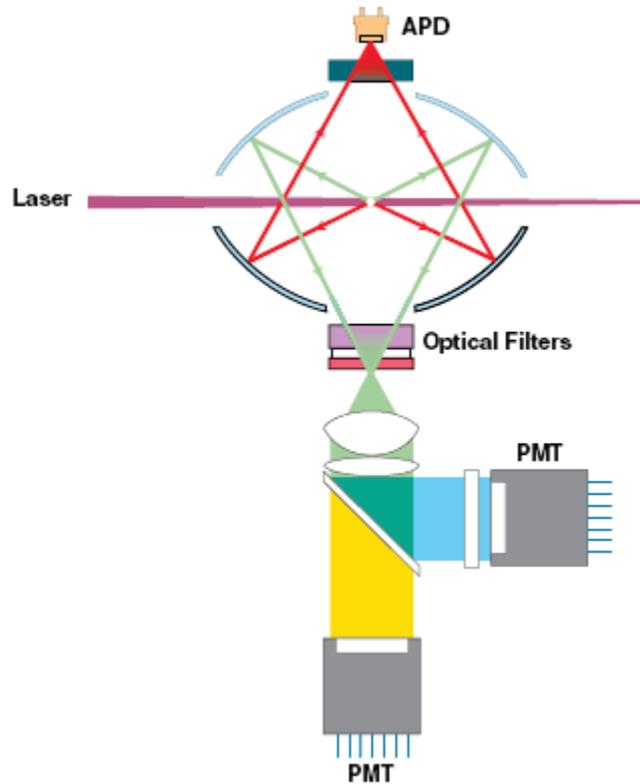


図 2. BIOTRAK Single Particle LIF Optics

BioTrak の浮遊菌検出部はアメリカの軍と国土防衛生物学的脅威検出製品のために、20年以上にわたって開発された技術による、第3世代の光学エンジンを用いている。図2は光学エンジンとその主要部品を示す。粒子の流れは紙面に向かっている。各粒子には収束された405nmの半導体レーザーが照射され、粒子からの散乱光はアバランシェフォトダイオード(APD)に集光される。蛍光は収束され、ダイクロイックフィルターにより2つの波長帯域に分離され、2つの光電子増倍管(PMT)に集光される。独立した3つの光学信号は電気信号に変換・デジタル化され、最適化された検出アルゴリズムで処理される。アルゴリズムは粒子が浮遊菌であるかどうかを3つのパラメーターにより決定する。APD信号はMie理論に則して粒径の指標として扱われる。浮遊菌検出アルゴリズムにおいて3つのパラメーターを使用することで、一般の環境微粒子から浮遊菌を精度良く識別することができる。複数の浮遊菌パラメーターによる識別効果の詳細は別のアプリケーションノートに述べられている。

6. 粒子収集フィルター

前述のように、BioTrakは浮遊菌を検出したときに微生物の種類を特定できない。しかし、浮遊菌検出部で光学的に分析された全ての粒子を37mmの捕集フィルターに捕集することができ、これにより事後のオフラインでの菌種分析を行なうことができる。TSIは、8時間までの気流暴露における細胞の生存を維持できることから、ゼラチンフィルターの使用を推奨している。図3はBioTrakのフィルターホルダーとホルダーへの捕集フィルターの挿入の状態を示す。



図 3. BIOTRAK Collection Filter Holder and Insertion Process

7. 結論

BioTrak はいくつかの個別の技術を結合したものであり、クリーンルームの全粒子および浮遊菌のモニタリングに比類ない機能を提供する計測器である。BioTrak の技術基盤は 50 年以上のエアロゾル製品と技術開発、幅広いクリーンルームアプリケーションの経験、そして 20 年以上の浮遊菌検出技術と製品開発をもとにしている。特筆すべきことは、これらの技術は現存する技術の粋を集めた気中粒子計数器のサンプリングおよびレポート作成機能を踏襲し、直感的に使用できる計測器として構成されたことである。

BioTrak についての詳細な資料についてはニッタ㈱までお問い合わせください。

ニッタ株式会社

クリーンエンジニアリング事業部 技術部 モニタリング課

<http://www.nitta.co.jp>

奈良工場 〒639-1085 奈良県大和郡山市池沢町 172

TEL 0743-56-9400 FAX 0743-56-4403

本社 〒556-0022 大阪市浪速区桜川 4-4-26

TEL 06-6563-1235 FAX 06-6563-1265

東京支店 〒104-0061 東京都中央区銀座 8-2-1

TEL 03-6744-2740 FAX 03-6744-2741