

(2) アイスクリーム類

1 検体の採取及び試料の調製法

検体は、製品が成分規格に適合するかしないかを判断することのできる数量を滅菌採取器具を用いて無菌的に滅菌採取びんに採り、なるべくその温度を保って保持し、又は運搬し、採取後四時間以内に試験に供しなくてはならない。

試料は、検体を四〇度以下でなるべく短時間で全部融解させ、その一〇gを共栓びんに採ったものに、細菌数（生菌数）の測定に関しては滅菌生理食塩水九〇m lを加えて一〇倍希釈したものを一平板に三〇個から三〇〇個までの集落が得られるように滅菌生理食塩水で段階希釈したもの、大腸菌群の測定に関しては滅菌生理食塩水九〇m lを加えて一〇倍希釈したものとする。

<意見>

- ・「採取後四時間以内」の記述があるが、冷凍で流通・保管する製品のため、どのタイミングを以って検体を「採取」したと考えるのが曖昧。また「なるべくその温度を保って保持し、又は運搬し」とあるが、「その温度」が採取時の室温なのか、凍結している検体の温度なのかが曖昧。
- ・なぜ採取後4時間以内に試験に供しなくてはならないのか記載頂きたい。
- ・微生物用の試料の採取の際に10g採取し、検体の希釈（m l単位の水）とあるが、水の場合m lもgも同じであると考えられるが、単位の統一をしたほうが良いと感じられる。

2 細菌数（生菌数）の測定法

各試料について滅菌ペトリー皿二枚以上を用意し、滅菌ピペットを用いて対応する滅菌ペトリー皿に当該試料一m l ずつを正確に採り、これらにあらかじめ加温して溶かし四三度から四五度までの温度に保持した標準寒天培養基約一五m l を加え、静かに回転し、前後左右に傾斜して混合し、冷却凝固させる。この操作は試料をペトリー皿に採ってから二〇分間以内に完了させなければならない。培養基が凝固したならば、倒置して三二度から三五度までの温度で四八時間（前後三時間の余裕を認める。）培養する。この場合、検体の希釈に用いた滅菌生理食塩水一m l に試料を加えた培養基と同一量の培養基を混合し、静かに回転し、以下試料の場合と同様に操作して培養したものを対照とし、ペトリー皿、生理食塩水及び培養基が無菌であつたこと並びに操作が完全であつたことを確かめなければならない。

ペトリー皿は直径九cmから一〇cmまで、深さは一・五cmとする。

細菌数の算定は、次の要領による。

一平板の集落数三〇個から三〇〇個までのもの（一平板の集落数が三〇個から三〇〇個までのものがないときは拡散集落の部分が平板の二分の一以下で他の集落がよく分散して算定に支障のないもの）の集落数を集落計算器を用いて常に一定した光線の下で計測し、希釈倍率が同一な試料ごとに各平板の集落数を平均した値に当該試料に係る希釈倍率を乗じて得た数値を加算し、有効であつた平板の希釈倍率別による種類の数で除して得た値を細菌数とする。

ただし、次の場合はこれを試験室内事故とする。

- a 集落の発生のなかつた場合
- b 拡散集落の部分が平板の二分の一をこえた場合
- c 汚染されたことが明らかなもの
- d その他不相当と思われるもの

o 培地

標準寒天培養基

ペプトン五g、酵母エキス二・五g、ブドウ糖一g及び寒天一五gを精製水一、〇〇〇m l に合して加熱して溶かし、高圧滅菌する（滅菌後のPHは七・〇から七・二までとする。）。

<意見>

- ・フローズンヨーグルトの様な、乳酸菌を含む製品の場合の「乳酸菌、酵母以外の細菌数」の算出の仕方がない。
- ・32～35℃だと低温菌が増殖しない可能性がある。実際に菌による腐敗変敗が発生する可能性が高い品目は、常温流通品（粉物や加糖練乳）よりもチルド流通品（液状乳全般）であるため、低温菌も視野に入れて、培養温度に幅をもたせた記載にして欲しい（「30～35℃」など）。
- ・加温溶解して43～45℃の温度に保持という条件では培地温度が低いため、検査数（培地を分注するペトリー皿の枚数）が多い場合、検査の後半では培地温度が低下し固まり始めてしまう。細かく記載せず、幅をもたせた記載にして欲しい（「50℃以下」など）。

- ・ ISO 法等の国際標準に統一してはどうか。あと培養温度は「中心温度±許容幅」で記載した方が良い。またコロニー計数法を国際法に合わせるかを研究班で議論してほしい。
- ・ 発酵乳又は乳酸菌飲料を原料として使用したものにあつては、乳酸菌又は酵母以外の細菌数が規格であるが、検査法が示されていないので、そのような場合は適用外とすることを希望
- ・ 乳省令での検出菌数の測定で30～300の集落数の計測ルールと、ISO法、BAM法での計測ルール（計算式がある）が違ふ。ISO法、BAM法は計算が必要で有り複雑で、結果も変わってくる。（あえて変えるべきかは疑問がある）。
- ・ 海外では標準寒天培地(Standard Plate Count agar)よりPCA (standard method agar) + 脱脂粉乳（0.1%添加）(30℃72時間)を一般生菌数としているところもある。
- ・ クリームは直接1mlを混釈すると濁つて集落の確認がしづらい。10倍程度の希釈が適当だが菌数は少ない為、検出されない場合が増える。
- ・ 脱脂粉乳、クリームパウダー、ホエイパウダー、たんぱく質濃縮ホエイパウダー、バターミルクパウダーの様な粉体検査の場合、フィルム培地での一般生菌数と寒天培地での一般生菌数では検出感度が異なる場合がある。
- ・ コロニーと試料残渣の区別がつきにくい場合がある。
- ・ 培養基という表記方法に馴染みがない。

3 大腸菌群の測定法

滅菌ペトリー皿二枚を用意し、それぞれに滅菌ピペットを用いて試料1m lを正確に採る。これにあらかじめ加温して溶かし四三度から四五度までの温度を保持させたデソキシコーレイト寒天培養基を一〇m lから一五m lまでの量加え、静かに回転し、前後左右に傾斜して混合し、冷却凝固させる。培養基が凝固した後に、その表面に更に同培養基を三m lから四m lまでの量加えて冷却凝固させる。この操作は試料をペトリー皿に採ってから二〇分間以内に完了させなければならない。

培養基が凝固したならば、倒置して三二度から三五度までの温度で二〇時間（前後二時間の余裕を認める。）培養して集落の有無を観察する。暗赤色の集落を認めたものは推定試験陽性とし、該当しないものは推定試験陰性とする。

推定試験が陽性の場合、当該集落の代表的なものをE・M・B・培養基に塗抹し、三二度から三五度までの温度で二四時間（前後二時間の余裕を認める。）培養した後、大腸菌群の定型的集落（定型的集落がない場合は、定型的集落に類似した集落二個以上）を釣菌して、乳糖ブイオン醗酵管及び寒天斜面にそれぞれ（定型的集落に類似した集落を釣菌した場合は各集落から釣菌したものの別にそれぞれ）移植する。

乳糖ブイオン醗酵管は三二度から三五度までの温度で四八時間（前後三時間の余裕を認める。）、寒天斜面は三二度から三五度までの温度で二四時間培養し、乳糖ブイオン醗酵管においてガス発生を確認した場合に、これと相対する寒天斜面培養について鏡検し、グラム陰性無芽胞桿菌を認めた場合を大腸菌群陽性とする。

ペトリー皿は直径九cmから一〇cmまで、深さ一・五cmとする。

○培地

A デソキシコーレイト寒天培養基

ペプトン一〇g、寒天一五gから二五gまでの量、乳糖一〇g、食塩五g、クエン酸鉄アンモン二g及びリン酸一カリウム二gを水一、〇〇〇m lに合して加熱して溶かし、これをろ過したろ液をPH七・三から七・五までに修正し、これにデソキシコール酸ソーダーg及びニュートラル・レット〇・〇三三gを加えて更にPH七・三から七・五までに修正する。

B E・M・B・培養基

(1) 乳及び乳製品の9 乳及び乳製品の大腸菌群の測定法のb 測定法の培地のC E・M・B・培養基に掲げるものとする。

C 乳糖ブイオン醗酵管

(1) 乳及び乳製品の9 乳及び乳製品の大腸菌群の測定法のb 測定法の培地のD 乳糖ブイオン醗酵管に掲げるものとする。

<意見>

・現在、多くの乳業メーカーでは少しでも早く検査結果を出したい実情がある。しかし、BGLB法では判定まで48時間かかるため、乳業メーカーとしてはデソ法（20時間）での試験が好ま

しい。そのため、品目ごとに限定せず、すべての品目で BGLB 法またはデソ法で試験するという記載にして欲しい。

- ・デソ培地を採用している国はほぼ無いと思うので、当初は多少混乱するかもしれないが、国際標準に合わせて LST 培地、VRB 培地に変更するほうが良いと考える。

- ・BCP 培地による測定法でよいと思いますが、43～45℃の温度帯で保持した場合、BCP が固化する場合がある。

- ・デソキシコーレイト寒天培地で「暗赤色の集落」と規定されているが、色での判断は解りにくい。「集落が見られたら EMB 培地で確認する」とした方が判断しやすい。

- ・現在の乳糖ブイヨンの多くは B T B が添加されており、酸産生も確認できる。普通ブイヨンに乳糖を添加する等自家調製をする事はほとんど無いといえる。

- ・酵素基質による迅速な検査方法が市販であり、これらを取り入れたい。

- ・大腸菌群ではなく腸内細菌科菌群の検査の方が海外では主流。

- ・現在、DESO 培地を使用しているが、海外では VRB 培地などを使用している。

DESO 培地で検査を行っているのは日本だけということもあり、今後 TPP を見据え輸出を行う機会の増加も考えられる。そのためにも、諸外国に対してこの理由が明示され、認証などを得るなどの必要があると感じられる。また、公定法ではあるが根拠を示したほうが良いと感じられる。

4 乳脂肪分の定量法

試料四 g を小型ビーカーに採り、水三 m l を加えてよく混ぜ合わせレーリツヒ管に移す。

ビーカーは、水三 m l でよく洗い、その洗液はレーリツヒ管に加え、振り混ぜる。次にアンモニア水（二五％から三〇％で無色透明なもの）二 m l を加え、静かに混合し、次にレーリツヒ管を六〇度の水浴中につけ、時々振り混ぜながら二〇分間加温する。以下（1） 乳及び乳製品の 3 乳及び乳製品の乳脂肪分の定量法の b 濃縮乳、無糖練乳、加糖練乳、全粉乳、クリームパウダー、加糖粉乳及びクリームの乳脂肪分の定量法の項に定める全粉乳、クリームパウダー、加糖粉乳及びクリームの方法と同様の方法により行うものとする。

<意見>

- ・マジョニア管も一般的であり、使用器具に加えて欲しい。
- ・「...60℃の水浴中につけ、時々振り混ぜながら 20 分間加温する」を省略可とし、（1）3b と同様として欲しい。
- ・果実、卵黄、乳化剤等を高濃度に含有する乳をベースにしたものは、脂肪の抽出を完全にすることが困難で、それによりレーゼゴットリーブ法では脂肪の測定値が低くなるため、I D F S T A N D A R D ではレーゼゴットリーブ法は適さないとされている。現行の方法は、I D F 法や衛新第 1 3 号（H 1 1 . 4 . 2 6）と異なる点があるため、方法を統一してほしい。
- ・「以下（1）乳及び乳製品の 3 乳製品の乳脂肪分の定量法の b 濃縮乳、無糖練乳、加糖練乳、全粉乳、クリームパウダー、加糖粉乳及びクリームの乳脂肪分の定量法の項に定める全粉乳、クリームパウダー、加糖練乳及びクリームの方法と同様の方法により行うものとする」という記述があるが、説明が長すぎてどの部分に繋がっているのかわかりにくい。当該部分を読むと「濃縮乳、無糖練乳、加糖練乳、全粉乳」と「クリームパウダー、加糖粉乳及びクリーム」では抽出回数に違いがあり、アイスリームの場合は「クリームパウダー、加糖粉乳及びクリーム」と同じ回数抽出するものと解釈できるが、一読しただけでは“乳製品の乳脂肪分の定量法の b”に沿ってさえいれば良いような印象を受けてしまう。
- ・なぜ 6 0℃の水浴中に 2 0 分間加温するのか記載頂きたい。
- ・マジョニア管の使用も認めて欲しい。
- ・拠点によっては、ペンシルバニア法での測定を行っているが、硫酸との混合の際に焦げが発生しやすく、目盛りの読み取りの際に読みにくくなってしまうことがある。また、レーゼゴットリーブ法との値のずれも発生しやすい。チョコレートなどを含んでいる製品の場合、値がぶれやすい。

5 乳固形分の定量法

4に定める方法により求めた乳脂肪量と(3) 発酵乳及び乳酸菌飲料の1 無脂乳固形分の定量法に定める方法と同様の方法により求めた無脂乳固形分との和を乳固形分とする。

<意見>

- ・無脂乳固形分を算出すると、水酸化ナトリウムや硫酸等の危険な試薬を使用することに加えて、測定時間が長時間である。よって、アイスクリーム類などの固形分の高い品目に関しては、食品衛生検査指針にて測定方法とされている常圧・乾燥助剤（混砂法）を用いた乳固形分算出方法の方が好ましい。
- ・乳由来以外の固形分が含まれる製品が多い中、現行の無脂乳固形分の試験法（たんぱく質含量×2.82）で求めた値は、実際の値とは異なっていると思われます。
- ・チョコレートなどを含んでいる製品の場合、脂肪分を求め、タンパク分からSNFを求め合算するという方法では、真値より外れてしまう可能性が高い。

(3) 発酵乳及び乳酸菌飲料

1 無脂乳固形分の定量法

検体（凍結状のものにあつては、四〇度以下の温度でなるべく短時間に全部融解させたもの）約五〇gを精密に量り、フェノールフタレイン溶液数滴を加え、これをかき混ぜながら一〇%水酸化ナトリウム溶液を徐徐に加えて微アルカリ性とし、メスフラスコに採り、水を加えて一〇〇m lとし、その五m lを正確に一五〇m lのケルダール分解フラスコに採る。これに硫酸カリ九g及び硫酸銅一gの混合粉末〇・二gを加え、更にフラスコの内壁を伝わらせて硫酸一〇m lを加える。次に、このフラスコを石綿網上で徐徐に加熱し、亜硫酸ガスの白煙が生じたとき少し火力を強め、泡末の大部分が消失した後強熱し、中の液が透明な淡青色を呈し、かつ、フラスコの内壁に炭化物を認めなくなつたとき加熱を止め、放冷後注意しながら水三〇m lを加え、再び冷却した後フラスコを蒸溜装置に連結する。この場合、二〇〇m lの吸収フラスコ中には〇・〇五m o l / l 硫酸三〇m l及びメチルレッド溶液数滴を入れ、冷却器の下端が液中につかるようにする。次に、ケルダール蒸溜装置の漏斗から三〇%水酸化ナトリウム溶液四〇m lを入れ、水一〇m lで洗い込み、ピンチコックを閉じ、直ちに蒸溜をはじめる。溜出液が八〇m lから一〇〇m lまでの量に達したとき冷却器の下端を液面から離し、更に溜出液数m lを採る。蒸溜終了後、冷却器の液に浸つた部分を少量の水で洗い、その洗液を吸収フラスコ中の液に合し、これを〇・一m o l / l 水酸化ナトリウム溶液で滴定する。無脂乳固形分は、次式によつて計算する。[$\{0.0014 \times (A-B)\} \div$ 試料の採取量 (g)] $\times 6.38 \times 2.82 \times 100$ (%)

A 〇・一N硫酸三〇m lを中和するのに要する〇・一N水酸化ナトリウム溶液の所要量 (m l)

B 滴定に要した〇・一N水酸化ナトリウム溶液の所要量 (m l)

○標示薬

メチルレッド溶液 メチルレッド一gをエタノール五〇m lに溶かし、これに水を加えて一〇〇m lとし、必要があればろ過する。

<意見>

・家畜改良事業団による平成7年度「牛群検定成績」から、たんぱく質量と無脂乳固形分比を算出して2.74の実態を把握している（これに基づき、公取協監修の「飲用乳の検査法」における換算係数2.74を採用している、なお、近年の「牛群検定成績」では、その比は2.70程度で推移している）。2.82が現状に合っているか確認の上、必要に応じて数値の見直しを実施して欲しい。

・同様に、窒素係数6.38についても確認して欲しい。

・食品衛生法での無脂乳固形分規格値が、はっ酵乳8%以上、乳酸菌飲料（乳製品）は3%以上、乳酸菌飲料は3%未満に合致しているかどうかの判定検査は、それぞれのタンパク質含量を公定法（ケルダール法）にて定量し、その数値に2.82を乗じたものと規定されています。しかしながら、昨今販売されている商品には、ゼラチンなどの動物由来、大豆等の植物由来のたんぱくや乳たんぱく（乳製品ではない）を付与した商品が多く開発されています。公定法（ケルダ

ール法) は、製品に含まれるこのような異種たんぱくも同時に定量してしまうため、製品の種類別の、はっ酵乳規格、乳酸菌飲料(乳製品)、乳酸菌飲料について正規の無脂乳固形分値は定量できるわけではありません。はっ酵乳、乳酸菌飲料の無脂乳固形分は、ケルダールで測定したたんぱく値から、異種たんぱく由来の値を引いて算出する等の方法に改めることはできないでしょうか。

・たんぱく質換算係数の2.82も見直して頂けないでしょうか。乳飲料の公取協検査では、2.74を使用していますので、そちらに合わせて頂けないでしょうか。

・ケルダール法による窒素量から算出しているが、燃焼法にも対応頂きたい。

・係数2.82は妥当なのか検討してほしい。昔のデータに基づいて設定された係数なので、実態とあってないと思われる。

・たんぱく質定量法でなく、固形分から求める方法も認めて欲しい。

・ケルダール法 ⇒ 各メーカー機器(ケルテックなど)の分解方法も入れた方がよいのでは。

・燃焼法は、食品衛生検査指針に記載され、平成27年3月30日付で改正された「栄養成分の分析方法等」にも追加され、一般化されつつある。追加を検討してほしい。

・現行ではタンパクを測定し、係数をかけて無脂乳固形分としているが、他原料(ゼラチンなど)が含まれている場合それらもカウントされてしまう。

・(5)1bと同様に直接採取→分解にできないか。

・発酵乳・乳酸菌飲料及びアイスクリームとプロセスチーズ及び濃縮ホエイでたんぱく質測定を分ける必要があるのか。

2 検体の採取及び試料の調製法

検体は、製品が成分規格に適合するかしないかを判断することのできる数量を滅菌採取器を用いて無菌的に滅菌採取びんに採り、四度以下の温度で保持し、又は運搬し採取後四時間以内に試験に供する。試料は、糊状の検体にあつては、滅菌ピペット様ガラス管でよくかき混ぜた後に一〇gを、液状の検体にあつては、よく振つた後一〇mlを、凍結状の検体にあつては、四〇度以下の温度でなるべく短時間に全部融解させた後に一〇gを共せんびんに採り、滅菌生理食塩水を加えて一〇〇mlとし、一〇倍希釈液を作る。これを更に一平板に三〇個から三〇〇個までの集落が得られるように滅菌生理食塩水で階段希釈する。

<意見>

なし

3 乳酸菌数の測定法

試料については滅菌ペトリー皿二枚以上を用意し、滅菌ピペットを用いて対応する滅菌ペトリー皿に当該試料一m l ずつを正確に採り、これにあらかじめ加温して溶かし四三度から四五度までの温度に保持したB・C・P・加プレートカウント寒天培地約一五m l を加え、静かに回転し、前後左右に傾斜して混合し、冷却凝固させる。この操作は試料をペトリー皿に採ってから二〇分間以内に完了させなければならない。培養基が凝固したならば、倒置して三五度から三七度まで（製造時の発酵温度が二五度前後の製品にあつては二四度から二六度まで）の温度で七二時間（前後三時間の余裕を認める。）培養する。この場合、検体の希釈に用いた滅菌生理食塩水一m l に試料を加えた培養基と同一同量の培養基を混合し、静かに回転し、以下試料の場合と同様に操作して培養したものを対照とし、ペトリー皿、生理食塩水及び培養基が無菌であつたこと並びに操作が完全であつたことを確かめなければならない。

ペトリー皿は、直径九cmから一〇cmまで、深さは一・五cmとする。

培養した後、発生した集落のうち、黄変しているものが乳酸菌の集落である。

乳酸菌数の算定は、次の要領による。

一平板の乳酸菌の集落数三〇個から三〇〇個までのもの（一平板の乳酸菌の集落数が三〇個から三〇〇個までのものがないときは、拡散集落の部分が平板の二分の一以下で他の集落がよく分散していて算定に支障のないもの）の乳酸菌の集落数を集落計算器を用いて常に一定した光線の下で計測し、希釈倍率が同一の試料ごとに各平板の乳酸菌の集落数を平均した値に当該試料に係る希釈倍率を乗じて得た数値を加算し、有効であつた平板の希釈倍率別による種類の数で除して得た値を乳酸菌数とする。

ただし、次の場合は、これを試験室内事故とする。

- a 拡散集落の部分が平板の二分の一をこえた場合
- b 汚染されたことが明らかなもの
- c その他不相当と思われるもの

o 培 地

B・C・P・加プレートカウント寒天培養基

酵母エキス二・五g、ペプトン五g、ブドウ糖一g、ツイーン80一g、L-システイン〇・一g及び粉末寒天一五gを水一、〇〇〇m l に合して加熱して溶かし、PHを六・八から七・〇までに修正し、これにB・C・P・を〇・〇〇四から〇・〇〇六%の割合に加えて高压滅菌する。

<意見>

- ・「g」で量り「ml」で表記することになっている。
- ・BCP 加プレートカウント寒天で良いのか？海外で一般的な培地との併記も一案ではないか？
- ・MRS 寒天培地を付け加えてもよいのではないか
- ・BCP 寒天培地は国際的には通用しない。ただし、乳等省令とコーデックスでは発酵乳の規格がそもそも違っており（乳等省令⇒乳酸菌なら何でも発酵乳 コーデックス⇒ヨーグルトはブル

ガリクスとサーモフィルスというように菌種制限がある)、乳等省令規格で広範囲の乳酸菌種を一度に測定するにはBCPは良い培地である。ISOではブルガリクス、サーモフィルスをそれぞれ別培地で測定する必要があり手間が多いので、国内的にはハーモナイゼーションさせないほうが合理的だと考える。

- ・BCP培地の場合、乳酸菌以外の菌も生育してしまい、対象外の菌によるアルカリ化が起きると変色が押さえられてしまい、判定ができないことがある。

- ・乳酸菌数が多い場合、培地全体が黄変し、乳酸菌以外の菌も乳酸菌として計測してしまう恐れがある。

- ・培地メーカーによって、測定対象の製品に使用されている菌種によっては計測ができないBCP培地がある。

- ・国際的なハーモナイズを考えた場合、CODEX規格を参考にすると考えられるが、CODEX規格では個別の菌ごとに測定法が定められているものの、乳酸菌数を包括的に測定する試験法が規定されておらず、現行の乳等省令での試験法としてCODEX規格に準ずるのは無理がある。従って、「BCP加プレートカウント寒天培地」による測定法のままでよい。

- ・乳等省令で定められている酵母については、測定法が規定されていない。

4 大腸菌群の測定法

- 2 検体の採取及び試料の調製法に規定する一〇倍希釈液について、(2) アイスクリーム類の
- 3 大腸菌群の測定法に規定する方法により行うものとする。

<意見>

・現在、多くの乳業メーカーでは少しでも早く検査結果を出したい実情がある。しかし、BGLB法では判定まで48時間かかるため、乳業メーカーとしてはデソ法(20時間)での試験が好ましい。そのため、品目ごとに限定せず、すべての品目でBGLB法またはデソ法で試験するという記載にして欲しい。

・デソ培地を採用している国はほぼ無いと思うので、当初は多少混乱するかもしれないが、国際標準に合わせてLST培地、VRB培地に変更するほうが良いと考える。

・食品衛生法『牛乳処理体制の正常化について(昭和60年1月14日:衛乳第四号の別紙、検査実施要領において、『大腸菌群推定試験として、デソキシコートレイト寒天培地等による試験』が追記されたことから、本文にも使用可能な記載を追記して頂きたい。

・(1)8bと同様TPPを踏まえると、大腸菌群は、ISO法(VRB寒天)に合わせて行く必要があると考えます。

・より対象範囲の広い腸内細菌科にあわせたほうが良いと考える。

・デソキシコートレイト寒天培地で「暗赤色の集落」と規定されているが、色での判断は解りにくい。「集落が見られたらEMB培地で確認する」とした方が判断しやすい。

・現在の乳糖ブイヨンの多くはBTBが添加されており、酸産生も確認できる。普通ブイヨンに乳糖を添加する等自家調製をする事はほとんど無いといえる。

・酵素基質による迅速な検査方法が市販であり、これらを取り入れたい。

・大腸菌群ではなく腸内細菌科菌群の検査の方が海外では主流。

・現在、DESO培地を使用しているが、海外ではVRB培地などを使用している。

DESO培地で検査を行っているのは日本だけということもあり、今後TPPを見据え輸出を行う機会の増加も考えられる。そのためにも、諸外国に対してこの理由が明示され、認証などを得るなどの必要があると感じられる。また、DESO培地の場合、試料自体の酸度の影響でコロニーと試料残渣と見間違えてしまうことがある。

(4) バター及びバターオイル

1 水分の定量法

試料約二gをひょう量管に正確に採り、(1) 乳及び乳製品の1 乳及び乳製品の無脂乳固形分の定量法の項に定める方法と同様の方法により乾燥物質量を求め、乾燥減量を試料の採取量で除した数に一〇〇を乗じ、水分のパーセント量とする。

<意見>

- ・一般的にコーマン法による測定であるが、マイクロ波による測定で水分値を求める方法を公定法に加えて欲しい。
- ・水浴上で加熱する必要があるのか
- ・電気コンロ等で試料中の水分を蒸発させる方法も認めて欲しい。
- ・アルミニウム製平底ひょう量皿の使用も認めて欲しい。

2 乳脂肪分の定量法

水分を定量したひょう量管に石油エーテル一五m lを加え、ガラス棒ですりつぶしながらよく混ぜて十分溶かし、これをるつぼ型すり合わせガラスろ過器に移し、更に少量の石油エーテルを用いてひょう量管の内壁をよく洗い、これをろ過器に流し込む。ろ過器は一〇〇m lの石油エーテルを用いて数回に分けて洗浄して脂肪を溶かし出す。次にろ過器を沸騰している蒸気乾燥器の中で恒量となるまで乾燥し、残留物質量を求める。

1により求めた乾燥物質量と残留物質量との差を試料の採取量で除した数に一〇〇を乗じ、乳脂肪分のパーセント量とする。

<意見>

- ・蒸気乾燥器が現在ほとんど流通していないため、電気乾燥器にも対応頂きたい。
- ・ろ過器を用いなくて脂肪除去する方法も認めて欲しい。
- ・るつぼ型ガラスろ過器のポアサイズの規定がない
- ・ろ過器はあらかじめ恒量を求める旨の記載がない。また、蒸気乾燥器を用いることとなっているため乾燥時の温度の記述もない。

3 大腸菌群の測定法

a 検体の採取及び試料の調製法

検体は、容器包装のまま採取するか、又はその成分規格に適合するかしないかを判断することのできる数量を無菌的に滅菌採取びんに採取し、四度以下の温度で保持し、又は運搬し、採取後四時間以内に試験に供しなくてはならない。

検体は、四五度をこえない温度の恒温槽で温め、一五分間以内に滅菌器具を用いてよくこね、滅菌スプーン又は滅菌駒込ピペットで無菌的にその一〇gを共栓三角フラスコ（栓を除いて重量八五g以下で一〇〇mlの所にかく線を有するもの）に採り、四〇度の滅菌生理食塩水を加えて一〇〇mlとし、一〇倍希釈したものを試料液とする。

<意見>

- ・『検体 10g を入れる容器は、共栓三角フラスコを使用する』について、現在のサンプリング容器は滅菌ポリバックを用いることが主流であり、記載の見直しを検討して頂きたい。

b 大腸菌群の測定法

(2) アイスクリーム類の3 大腸菌群の測定法に規定する方法とする。

<意見>

・現在、多くの乳業メーカーでは少しでも早く検査結果を出したい実情がある。しかし、BGLB法では判定まで48時間かかるため、乳業メーカーとしてはデソ法(20時間)での試験が好ましい。そのため、品目ごとに限定せず、すべての品目でBGLB法またはデソ法で試験するという記載にして欲しい。

・デソ培地を採用している国はほぼ無いと思うので、当初は多少混乱するかもしれないが、国際標準に合わせてLST培地、VRB培地に変更するほうが良いと考える

・アイスクリーム類・醗酵乳・乳酸菌飲料・バター・チーズは、Deso法が公定法として認められているが、それ以外はBGLB培地法となっている。この方法では、 48 ± 3 時間、ガス発生が認められたときには、さらに 24 ± 2 時間。さらに乳酸培地及びブイヨン培地で24時間培養し判定する。簡便に結果がでる、Deso法にすることはできないか。

・食品衛生法『牛乳処理体制の正常化について(昭和60年1月14日:衛乳第四号の別紙、検査実施要領において、『大腸菌群推定試験として、デソキシコートレイト寒天培地等による試験』が追記されたことから、本文にも使用可能な記載を追記して頂きたい。

・(1)8bと同様TPPを踏まえると、大腸菌群は、ISO法(VRB寒天)に合わせて行く必要があると考えます。

・より対象範囲の広い腸内細菌科にあわせたほうが良いと考える。

・デソキシコートレイト寒天培地で「暗赤色の集落」と規定されているが、色での判断は解りにくい。「集落が見られたらEMB培地で確認する」とした方が判断しやすい。

・現在の乳糖ブイヨンの多くはBTBが添加されており、酸産生も確認できる。普通ブイヨンに乳糖を添加する等自家調製をする事はほとんど無いといえる。

・酵素基質による迅速な検査方法が市販であり、これらを取り入れたい。

・大腸菌群ではなく腸内細菌科菌群の検査の方が海外では主流。

(5) プロセスチーズ及び濃縮ホエイ

1 乳固形分の定量法

次の方法により求めた乳脂肪量と乳蛋白量との和を乳固形分とする。

なお、濃縮ホエイにあつては、更に(1) 乳及び乳製品の7 乳製品の糖分の定量法のa 乳糖の定量法により求めた乳糖量を加え乳固形分とする。

<意見>

・たんぱく質量の定量法では、水酸化ナトリウムや硫酸等の危険な試薬を使用することに加えて、測定時間が長時間である。また食品衛生検査指針ではチーズ類の測定方法を常圧・乾燥助剤(混砂法)としていることから、乾燥助剤を用いた乳固形分算出方法も加えて欲しい。

a 乳脂肪分の定量法

試料1gを小型の背の高いビーカーに採り、蒸留水9ml及び希アンモニア水1mlを加え、ガラス棒で練つて均一の乳濁液とし、少し温めてやわらかくする。塩酸で中和し、更に塩酸10mlを加える。精製白砂を少量加え、時計皿でおおい、静かに約五分間煮沸する。冷却して内容物をリョーリツヒ管に移し、ビーカーはエタノール10ml及びエチルエーテル25mlで洗い、その洗液をリョーリツヒ管に加えて、よく振り混ぜ、以下(1) 乳及び乳製品の3 乳及び乳製品の乳脂肪分の定量法のb 濃縮乳、無糖練乳、加糖練乳、全粉乳、クリームパウダー、加糖粉乳及びクリームの乳脂肪分の定量法の項に定める濃縮乳、無糖練乳及び加糖練乳の方法と同様の方法により行うものとする。

<意見>

- ・マジョニア管も一般的であり、使用器具に加えて欲しい。
- ・「蒸留水9ml及び希アンモニア水1mlを加え」という記述があるが、アンモニア水の濃度が書かれていない。また食品表示基準(消食表第139号平成27年3月30日)の別添「栄養表示等の分析方法等」には「水9mL、濃アンモニア水1mL」とあり、アンモニア水の濃度に違いがあるように読める。
- ・塩酸濃度の記述がない。また「塩酸で中和し」とあるが、具体的にどれくらいの量で中和させるのか書かれていない。
- ・なぜ塩酸で中和するのか記載頂きたい。
- ・なぜ精製白砂を加えるのか記載頂きたい。
- ・マジョニア管の使用も認めて欲しい。
- ・試料採取は、IDF5/IS01735のように直接採取にしたほうがよい。

b 乳蛋白質の定量法

試料〇・二から一・〇gを正確に量り、ケルダール分解フラスコ（一〇〇から一五〇m lのもの）に採る。これに分解促進剤（硫酸カリウム九分と硫酸銅一分とを別々に磨砕した後混和したもの）を〇・五g加え、次いで分解フラスコの内壁を伝わらせて硫酸一〇m lを静かに加えて混和する。分解台上で徐々に加熱し、時々注意して緩やかに混和する。亜硫酸ガスの白煙が生じはじめたら火力を強め、泡末の大部分が消失したら強熱して内容液が淡青緑色で透明になるまで分解を続ける。透明になったら冷却して分解びんのくびの部分を少量の蒸留水で洗い、更に三〇分間加熱を続ける。分解が終つたら冷却し、蒸留水約二〇m lを加えて放冷した後、漏斗を用いて分解液を一〇〇m lメスフラスコに洗い込み、蒸留水で標線まで満たして、これを試料液とする。

ケルダール蒸留装置の受器（一〇〇から一五〇m lの三角フラスコ）に、〇・〇二m o l / l 硫酸一〇m lを正確に採り入れ、メチレンブルー・メチルレッド混合指示薬一から二滴を加え、冷却器先端のガラス管が、受器の底部に達し、液内に没するように固定し、廃液排出口及び試料注入口を開き、冷却水を還流させ、試料注入口の漏斗から試料液一〇m lを正確に二重蒸留管内に注入する。更に少量の蒸留水を用いて漏斗を洗い、次に、三〇%水酸化ナトリウム一〇m lを試料注入口漏斗から加え、再び少量の蒸留水で漏斗を洗い、直ちに試料注入口を閉じ、蒸気発生装置の加熱を強め、廃液排出口からはげしく蒸気が出た後、廃液排出口を閉じ、二重蒸留管内で蒸留を始める。初留の先端が受器に達してから四から五分間蒸留を続けた後、受器を下げ、冷却器先端のガラス管を液面からはずし、更に二分間蒸留を行う。そのガラス管先端を蒸留水で洗い、受器を装置からはずす。

直ちに、〇・〇二m o l / l 水酸化ナトリウム溶液で滴定する。なお、盲検として、試料以外の試薬を同量用いて、全く同様の操作を行い、同様に滴定する。

乳蛋白質量は次式によつて計算する。

$$\text{乳蛋白質量 (\%)} = 0.28 \times F (X - Y) \times (100 \div 10) \times (1 \div S) \times 6.38 \times 100$$

F 〇・〇二N水酸化ナトリウム溶液のファクター

X 盲検の滴定量 (m l)

Y 試料の滴定量 (m l)

S 試料の採取量 (m g)

<意見>

- ・ケルダール法による窒素量から算出しているが、燃焼法にも対応させてほしい。
- ・燃焼法は、食品衛生検査指針に収載され、平成27年3月30日付で改正された「栄養成分の分析方法等」にも追加され、一般化されつつある。追加を検討してほしい。

2 大腸菌群の測定法

本品の大腸菌群の測定法は、(4) バター及びバターオイルの3 大腸菌群の測定法に規定する方法とする。

<意見>

- ・現在、多くの乳業メーカーでは少しでも早く検査結果を出したい実情がある。しかし、BGLB法では判定まで48時間かかるため、乳業メーカーとしてはデソ法(20時間)での試験が好ましい。そのため、品目ごとに限定せず、すべての品目でBGLB法またはデソ法で試験するという記載にして欲しい。
- ・デソ培地を採用している国はほぼ無いと思うので、当初は多少混乱するかもしれないが、国際標準に合わせてLST培地、VRB培地に変更するほうが良いと考える。追加で希釈液を国際標準と統一するかは要検討。
- ・食品衛生法『牛乳処理体制の正常化について(昭和60年1月14日:衛乳第四号の別紙、検査実施要領において、『大腸菌群推定試験として、デソキシコートレイト寒天培地等による試験』が追記されたことから、本文にも使用可能な記載を追記して頂きたい。
- ・(1)8bと同様TPPを踏まえると、大腸菌群は、ISO法(VRB寒天)に合わせて行く必要があると考えます。
- ・他のアイテムと同様に検体の採取および試料の調製法を記載して頂きたい。
- ・より対象範囲の広い腸内細菌科にあわせたほうが良いと考える。
- ・デソキシコートレイト寒天培地で「暗赤色の集落」と規定されているが、色での判断は解りにくい。「集落が見られたらEMB培地で確認する」とした方が判断しやすい。
- ・現在の乳糖ブイヨンの多くはBTBが添加されており、酸産生も確認できる。普通ブイヨンに乳糖を添加する等自家調製をする事はほとんど無いといえる。
- ・酵素基質による迅速な検査方法が市販であり、これらを取り入れたい。
- ・大腸菌群ではなく腸内細菌科菌群の検査の方が海外では主流。

その他

- ・国際法への切り替え、あるいは国際法が国内外で有効であるような法整備が必要かと思えます。
- ・国際法との相違確認が必要であれば、国際法に関する情報提供もしくは情報交換の場が必要だと思います。(財)日本乳業技術協会様からそのようなご提案をしていただけると幸いです。
- ・ミルコスキャンやフードスキャンは実際の現場では高頻度で使用されているが、これらを公定法に準ずるようにはできないか。
- ・タンパク質測定に燃焼法を用いることができないか。
- ・乳のベンジルペニシリン測定法は、既にペーパーディスクによる *Bacillus stearothermophilus* ver. *calodolactis* から液体クロマトグラフィーに変更になっているのにいまだにペーパーディスクによる方法で検査を続けている。
- ・試薬の量など漢数字で書かれている箇所が読みづらく、アラビア数字に変更してほしい。乳等省令では検査方法の名称が書かれず、対象品目ごとにそれぞれ検査の内容が書かれている箇所が多いが、そのせいで目的の箇所を探しづらいという印象がある。検査方法の部分を別添として目次を付ける等、検索性を考慮してほしい。
- ・国内法でもいろいろな方法があり、少し異なる部分もあるので統一してほしい。
- ・IDF法とサンプリング量や方法が異なる部分は、国際法に統一してほしい。
- ・用語について
 - 「滴定数」を「滴定量」に変更したほうがよい。
 - 「パーセント量」を「g/100g」に変更したほうがよい。
 - 「規定度」を「モル濃度」表記に変更したほうがよい。
- ・省令で検査法についてまで言及するのは時代に即していないと思われ、通知などで随時変更しやすい形に直していくのが良いのではないだろうか。
- ・順番にまとまりがないように感じられ見づらい。たとえば、(1)3cのように、今まで乳脂肪分の測定だったものが、ホエイパウダーに関してはタンパク測定という話になっているため、くくりや理由が分かりにくい。
- ・試験法については、信頼できる代替法が確立されている場合は、使用できるようにしてほしい。
- ・試験法は、日々技術開発が進んでいるので、見直しの頻度を高くしてほしい(例として、無脂乳固形分の代替法としてFT-IRによる方法の採用や、酸度測定における電位差測定法(IDF 150)の追加があげられる)。
- ・(1)3b, (5)1a においてはリョーレツヒ管、(2)4 ではレーリツヒ管と表現が異なる
- ・たんぱく質の測定において省令法は手分析 {セミマイクロケルダール(塩入奥田法)(2)5, (3)1 とマイクロケルダール(二重管法)(1)3c, (5)1b} であるが、セミマイクロケルダールを自動化した機器分析が主流となっている。
- ・全体としては細かな条件の記載が不足。

以上

資料② 米国における指定参照法と最新の試験法対応表

製 品	項 目	指定参照法【13th Ed. (1980)】	最新の試験法【19th Ed. (2012)】
Milk	Milkfat content	“Fat, Roesse-Gottlieb Method—Official Final Action,” section 16.059.	AOAC Official Method 989.05 “Fat in Milk, Modified Mojonnier Ether Extraction Method,” section 33.2.26
	Milk solids not fat content	Calculated by subtracting the milk fat content from the total solids content as determined by the method “Total Solids, Method I—Official Final Action,” section 16.032.	AOAC Official Method 990.21 “Solids-Not-Fat in Milk, By Difference between Total Solids and Fat Contents,” section 33.2.45
Light cream Light whipping cream Heavy cream	Milkfat content	sections 16.156 and 16.059, under “Fat, Roesse-Gottlieb Method—Official Final Action,” which is incorporated by reference.	AOAC Official Method 995.19 “Fat in Cream, Mojonnier Ether Extraction Method,” section 33.3.19
Nonfat dry milk	Moisture content	“Moisture—Official Final Action,” section 16.192.	AOAC Official Method 927.05 “Loss on Drying (Moisture) in Dried Milk,” section 33.5.02