

平成 28 年度 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業  
総括研究報告書

国際的な動向を踏まえた乳及び乳製品の試験法の研究

研究代表者 寺嶋 淳 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

**研究要旨：**

制定の古い乳等省令の別表二(七)乳等の試験法についてその妥当性を検証するために、昨年度は米国、欧州連合(以下、EU と略す)、オーストラリア及びニュージーランドにおける乳及び乳製品の試験法に関して情報を収集し、当該国、地域における関連試験法を規定する法令を検索した。本年度はその結果に基づき、牛乳、クリーム及び脱脂粉乳について、米国(OMA 法)及び EU(ISO 法)における試験法と現行試験法をコラボレイティブスタディを含めて実施し比較した。その結果、乳の乳脂肪分の測定値は OMA 法、ISO 法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきは大きい結果となった。乳の全固形分では OMA 法と比べて乳等省令法のばらつきが小さい結果となった。クリームの乳脂肪分では OMA 法、ISO 法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきは OMA 法、ISO 法と同等の結果となった。脱脂粉乳の水分の測定値は乳等省令法が ISO 法より高く OMA 法より低い結果となったが、ばらつきは乳等省令法が一番小さい結果となった。また、乳及び乳製品の試験法に関する昨年度のアンケート調査で要望があった、生乳における細菌数の直接個体鏡検法(ブリード法)でのニューマン染色液の代替染色法について検討した。その結果、市販品である BPV 染色液(ベッセル【獣医環境衛生研究所】)およびブロードファーストバーレイ(武藤化学)についてニューマン染色液との同等性が示唆された。

**研究分担者**

岩崎 司 公益財団法人日本乳業技術  
協会 事業部  
平井昭彦 東京都健康安全研究センタ  
ー 微生物部

に関連する情報収集と改正が必要と考えられる試験法について検討し、最適な試験法の策定の可能性も含めて、将来的な展望を示すことを目的とする。特に、海外の乳及び乳製品に関する試験法を規定する成分規格に関する情報を収集し、乳等省令と比較することで国際的にも対応可能な試験法の確立を目指す。

**A. 研究目的**

本研究では、乳等省令における試験法

## B. 研究方法

### 1. 海外における乳及び乳製品の試験法と乳等省令による試験法の比較

乳等省令の別表 二 乳等一般の成分規格及び製造の方法の基準のうち、(七) 乳等の成分規格の試験法 で定められる乳及び乳製品の試験法で、EU の ISO 法及び米国の OMA 法で該当するものを検索し、最新法と考えらるものについて順次比較を実施した。乳および乳製品を含む食品の成分規格(乳脂肪分や無脂肪固形分、酸度、添加成分等の成分規格)について、米国と EU の法令から試験法を特定した。米国: Code of Federal Regulations( CFR ; 連邦行政規則集)

CFR Title21 CHAPTER I SUBCHAPTER B-FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION

PART 131-乳及びクリーム

PART 133-チーズ及びチーズ製品

試験法として、Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL ( OMA 法 ) が記載されている。

EU : Commission Regulation (EC) No 273/2008 of 5 March 2008 laying down detailed rules for the application of Council Regulation (EC) No 1255/1999 as regards methods for the analysis and quality evaluation of milk and milk products

成分規格と試験法が示されており、試験法は ISO 法を使用している。平成 28 年度については、乳の乳脂肪分、無脂乳固形分、クリームの乳脂肪分、脱脂粉乳の水分についての試験を実施した。そのうち、乳の乳脂肪分および無脂乳固形分については 4 試験室(東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科、株式会社明治品質科学研究所、雪印メグミルク

株式会社品質保証部分析センター、公益財団法人日本乳業技術協会)による共同試験を実施し、クリームの乳脂肪分、脱脂粉乳の水分についてはシングルラボ(公益財団法人日本乳業技術協会)で試験を行った。

### 2. 乳等省令で規定される細菌数の直接個体鏡検法(ブリード法)の代替染色法の検討

材料として、2016 年 9 月に東北地方の農場で採取され、冷蔵で輸送された生乳 1 検体(R1)および関東地方の生乳販売農業協同組合連合会生乳検査所で検査した後に冷蔵で輸送された生乳 5 検体(R2-R6)を用いた。ブリード法は、乳等省令および一般社団法人 J-milk の生乳検査マニュアルに従い実施した。

使用した染色液はニューマン染色液(N, 関東化学)、BPV 染色液(B1, ベッセル【獣医環境衛生研究所])およびブロードファーストパーレイ(B2, 武藤化学)の 3 種類とした。B1 はブロードハーストパーレイ染色液の組成に改良が加えられた市販品で、既に国内でも一部使用されている。B2 はブロードハーストパーレイ染色液のアニリンを加えた段階の状態です市販されており、今回はその市販品 100ml に 50ml の温水を加えて混和して使用した。

## C. 研究結果

### 1. 海外における乳及び乳製品の試験法と乳等省令による試験法の比較

乳等省令の試験項目に対応する ISO 法と OMA 法で規定される試験法には以下のものが検索された。本年度に実施した項目の詳細については分担研究の報告を参照のこと。

分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
a 生乳	比重 (摂氏一五度において) 一・〇二八以上 酸度 (乳酸として) 〇・二〇%以下 細菌数				
分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
b 生山羊乳	比重 (摂氏一五度において) 一・〇三〇 一・〇三四 酸度 (乳酸として) 〇・二〇%以下 細菌数				
(1) 牛乳	無脂乳固形分 八・〇%以上  乳脂肪分 三・〇%以上 比重 (摂氏一五度において) 一・〇二八以上 酸度 (乳酸として) 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性	[Milk and cream, not concentrated nor containing added sugar or other sweetening matter]  fat( 6% m/m); ISO 1211:2001 IDF 1D:1996  ISO 13366-1:2008 (IDF 148-1:2008) Milk -- Enumeration of somatic cells -- Part 1: Microscopic method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40259">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40259</a>	ISO 1211:2010 (IDF 12010) Milk -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51348">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51348</a>	Milk  "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed (1980). 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.  "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed (1980). Milkfat content—"Fat, Rose-Gottlieb Method—Official Final Action," section 16.059.	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=22622">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=22622</a> Method Number 990.19 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23149">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23149</a> Method Number 990.20 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23166">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23166</a>  Fat in Milk Method Number 905.02 <a href="http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821">http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821</a> Method Number 989.05 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=22860">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=22860</a>
(2) 特別牛乳	乳脂肪分 三・三%以上 比重 (摂氏一五度において) 一・〇二八以上 酸度 (乳酸として) 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 三〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(3) 殺菌山羊乳	無脂乳固形分 七・五%以上 乳脂肪分 二・五%以上 比重 (摂氏一五度において) 一・〇三〇 一・〇三四 酸度 (乳酸として) 〇・二〇%以下 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(4) 成分調整牛乳	無脂乳固形分 八・〇%以上 酸度 (乳酸として) 〇・二%以下 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(5) 低脂肪牛乳	無脂乳固形分 八・〇%以上 乳脂肪分 〇・五%以上 一・五%以下 比重 (摂氏一五度において) 一・〇三〇以上 酸度 (乳酸として) 〇・二%以下 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(6) 無脂肪牛乳	無脂乳固形分 八・〇%以上 乳脂肪分 〇・五%未満 比重 (摂氏一五度において) 一・〇三二以上 酸度 (乳酸として) 〇・二%以下 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(7) 加工乳	無脂乳固形分 八・〇%以上 酸度 (乳酸として) 〇・一八%以下 細菌数 (標準平板培養法で—m当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				

分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
(1) クリーム		[Cream]		Heavy cream. Light cream. Light whipping cream	
	乳脂肪分 一八・〇%以上	fat: ISO 2450:1999\IDF 16 C:1987	ISO 2450:2008 (IDF 16:2008) Cream -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51013">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51013</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed (1980), sections 16.156 and 16.059, under "Fat, Roese-Gottlieb Method Official Final Action,"	Fat in Cream Method Number 920.111 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23778">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23778</a> Method Number 995.18 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23880">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23880</a> Method Number 995.19 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23948">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23948</a>
		[Milk and cream, not concentrated nor containing added sugar or other sweetening matter]			
		fat(>6% <i>m/m</i> ): ISO 2450:1999\IDF 16C:1987	ISO 2450:2008 (IDF 16:2008) Cream -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51013">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51013</a>		
	酸度 (乳酸として) 〇・二〇%以下				
	細菌数 (標準平板培養法で— <i>m</i> ・当たり) 一〇〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(2) バター		[salted butter] [unsalted butter]			
	乳脂肪分 八〇・〇%以上	fat: ISO 17189:2003\IDF 194:2003	同左:ISO 17189:2003 (IDF 194:2003) Butter, edible oil emulsions and spreadable fats -- Determination of fat content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=32902">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=32902</a>		
	水分 一七・〇%以下	water: ISO 3727-1:2001\IDF 80-1:2001	同左:ISO 3727-1:2001 (IDF 80-1:2001) Butter -- Determination of moisture, non-fat solids and fat contents -- Part 1: Determination of moisture content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35212">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35212</a>		
	大腸菌群 陰性	coliforms: (preparation samples) ISO 8261:2001\IDF 122:2001.	ISO 6887-5:2010 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_jcs/catalogue_detail.htm?csnumber=50306">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_jcs/catalogue_detail.htm?csnumber=50306</a>		
		(procedure) ISO 4831	ISO 4831:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique <a href="http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=38280">http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=38280</a>		
		unsalted butterのみ			
(3) バターオイル		[butter oil]			
	乳脂肪分 九九・三%以上				
	水分 〇・五%以下	Water (if fat < 99 % <i>m/m</i> ): ISO 5536:2002\IDF 23:2002	ISO 5536:2009 (IDF 23:2009) Milk fat products -- Determination of water content -- Karl Fischer method <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=45804">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=45804</a>		
	大腸菌群 陰性				
(4) ナチュラルチーズ(ソフト及びセミハードのものに限る。)				CHEESES AND RELATED CHEESE PRODUCTS	
	リステリア・モノサイトゲネス(— <i>g</i> ・当たり) 一〇〇以下				
(5) プロセスチーズ		[Cheese and curd]		CHEESES AND RELATED CHEESE PRODUCTS	
	乳固形分 四〇・〇%以上	Solids: ISO 5534:2004\IDF 4:2004	同左:ISO 5534:2004 (IDF 4:2004) Cheese and processed cheese -- Determination of the total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35249">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35249</a>		
		Solids (Ricotta): ISO 2920:2004\IDF 58:2004	同左:ISO 2920:2004 (IDF 58:2004) Whey cheese -- Determination of dry matter (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40464">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40464</a>		
	大腸菌群 陰性				
(6) 濃縮ホエイ		[Whey, whether or not concentrated or containing added sugar or other sweetening matter; products consisting of natural milk constituents]			
	乳固形分 二五・〇%以上	solids:ISO 6734:1989\IDF 15B:1991	ISO 6734:2010 (IDF 15:2010) Sweetened condensed milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_jcs/catalogue_detail.htm?csnumber=56816">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_jcs/catalogue_detail.htm?csnumber=56816</a>		
		solids(Concentrated products): ISO 6731:1989\IDF 21B:1987	ISO 6731:2010(en) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6731:ed-2:v1:en">https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6731:ed-2:v1:en</a>		
	大腸菌群 陰性				

分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
(7) アイスクリーム				Ice cream and frozen custard	
	乳固形分 一五・〇%以上		ISO 3728:2004 (IDF 70:2004) Ice-cream and milk ice -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40471">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40471</a>		
	うち乳脂肪分 八・〇%以上			"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), sections 16.287 and 16.059, under "Fat, Roesse-Gottlieb Method Official Final Action,"	Fat in Ice Cream and Frozen Desserts Method Number 952.06 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=19052">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=19052</a>
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 一〇〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(8) アイスミルク					
	乳固形分 一〇・〇%以上				
	うち乳脂肪分 三・〇%以上				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(9) ラクトアイス					
	乳固形分 三・〇%以上				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(10) 濃縮乳		[Milk and cream, concentrated or containing added sugar or other sweetening matter]		Concentrated milk	
	乳固形分 二五・五%以上	Solids (evaporated milk, cream): ISO 6731:1989/IDF 21B:1987	ISO 6731:2010 (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), Total milk solids—"Total Solids—Official Final Action," section 16.169.	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622</a> Method Number 990.19 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149</a> Method Number 990.20 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166</a>
	うち乳脂肪分 七・〇%以上	Fat (liquid form): ISO 1737:1999/IDF 13C:1987	ISO 1737:2008 (IDF 13:2008) Evaporated milk and sweetened condensed milk -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), Milkfat content—"Fat—Official Final Action," section 16.172.	Fat in Milk Method Number 905.02 <a href="http://www.aocacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821">http://www.aocacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821</a> Method Number 989.05 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22860">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22860</a>
		Fat (solid form): ISO 1736:2000/IDF 9C:1987	ISO 1736:2008 (IDF 9:2008) Dried milk and dried milk products -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010</a>		
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 一〇〇,〇〇〇以下				
(11) 脱脂濃縮乳					
	無脂乳固形分 一八・五%以上				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 一〇〇,〇〇〇以下				
(12) 無糖練乳		[Milk and cream, concentrated or containing added sugar or other sweetening matter]		Evaporated milk	
	乳固形分 二五・〇%以上	Solids (evaporated milk, cream): ISO 6731:1989/IDF 21B:1987	ISO 6731:2010 (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980) Total milk solids—"Total Solids—Official Final Action," section 16.169.	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622</a> Method Number 990.19 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149</a> Method Number 990.20 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166</a>
	うち乳脂肪分 七・五%以上	Fat (liquid form): ISO 1737:1999/IDF 13C:1987	ISO 1737:2008 (IDF 13:2008) Evaporated milk and sweetened condensed milk -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980) Milkfat content—"Fat—Official Final Action," section 16.172.	Fat in Milk Method Number 905.02 <a href="http://www.aocacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821">http://www.aocacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&amp;Path=1&amp;products_id=1821</a> Method Number 989.05 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22860">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22860</a>
		Fat (solid form): ISO 1736:2000/IDF 9C:1987	ISO 1736:2008 (IDF 9:2008) Dried milk and dried milk products -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010</a>		
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 〇				

分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
(13) 無糖脱脂練乳					
	無脂乳固形分 一八・五%以上				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) ○				
(14) 加糖練乳乳		[Milk and cream, concentrated or containing added sugar or other sweetening matter]		Sweetened condensed milk	
	乳固形分 二八・〇%以上	Solids (sweetened condensed milk): ISO 6734:1989/IDF 15B:1991	ISO 6734:2010 (IDF 15:2010) Sweetened condensed milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56816">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56816</a>		
	うち乳脂肪分 八・〇%以上	Fat (liquid form): ISO 1737:1999/IDF 13C:1987	ISO 1737:2008 (IDF 13:2008) Evaporated milk and sweetened condensed milk -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51011</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), section 16.185, under "Fat—Official Final Action"	Sweetened Condensed Milk Method Number 920.115 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23982">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23982</a>
	水分 二七・〇%以下	Fat (solid form): ISO 1736:2000/IDF 9C:1987	ISO 1736:2008 (IDF 9:2008) Dried milk and dried milk products -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010</a>		
	糖分 (乳糖を含む) 五八・〇%以下	Sucrose (normal content): ISO 2911:2004/IDF 35:2004	同左: ISO 2911:2004 (IDF 35:2004) Sweetened condensed milk -- Determination of sucrose content -- Polarimetric method <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40463">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=40463</a>		
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下	Sucrose (low content): No reference method has been established	同左		
	大腸菌群 陰性				
(15) 加糖脱脂練乳					
	乳固形分 二五・〇%以上				
	水分 二九・〇%以下				
	糖分 (乳糖を含む) 五八・〇%以下				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(16) 全粉乳		[Milk and cream, concentrated or containing added sugar or other sweetening matter]		Dry whole milk.	
	乳固形分 九五・〇%以上	Solids (evaporated milk, cream): ISO 6731:1989/IDF 21B:1987	ISO 6731:2010 (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815</a>		
	うち乳脂肪分 二五・〇%以上	Fat (solid form): ISO 1736:2000/IDF 9C:1987	ISO 1736:2008 (IDF 9:2008) Dried milk and dried milk products -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), Milkfat content—"Fat in Dried Milk—Official Final Action," sections 16.199–16.200.	Fat in Dried Milk Method Number 932.06 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=24016">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=24016</a>
	水分 五・〇%以下	Water (milk powder): ISO 5537:2004/IDF 26:2004	同左: ISO 5537:2004 (IDF 26:2004) Dried milk -- Determination of moisture content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), Moisture content—"Moisture—Official Final Action," section 16.192.	Moisture in Dried Milk Method Number 927.05 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23914">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23914</a>
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(17) 脱脂粉乳		[skimmed-milk powder(spray)]		Nonfat dry milk.	
	乳固形分 九五・〇%以上				
	水分 五・〇%以下	water: ISO 5537:2004/IDF 26:2004	同左: ISO 5537:2004 (IDF 26:2004) Dried milk -- Determination of moisture content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980), Moisture content—"Moisture—Official Final Action," section 16.192.	Moisture in Dried Milk Method Number 927.05 <a href="http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23914">http://www.eoma.aoc.org/methods/info.asp?ID=23914</a>
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性	coliforms: (preparation samples) ISO 8261:2001/IDF 122:2001.	ISO 6887-5:2010 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail.htm?csnumber=50306">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail.htm?csnumber=50306</a>		
		(procedure) ISO standard 4831	ISO 4831:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique <a href="http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=38280">http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=38280</a>		

分類	成分規格	試験法 (ISO) [参照法] 1	試験法 (ISO) [最新法] 2	試験法 (AOAC) [参照法] 3	試験法 (AOAC) [最新法] 4
(18) クリームパウダー		[Milk and cream, concentrated or containing added sugar or other sweetening matter]		Dry cream	
	乳固形分 九五・〇%以上	Solids (evaporated milk, cream): ISO 6731:1989/IDF 21B:1987	ISO 6731:2010 (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815</a>		
	うち乳脂肪分 五〇・〇%以上	Fat (solid form): ISO 1736:2000/IDF 9C:1987	ISO 1736:2008 (IDF 9:2008) Dried milk and dried milk products -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51010</a>	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980) Milkfat content—"Fat in Dried Milk—Official Final Action," sections 16.199-16.200.	
	水分 五・〇%以下	Water (cream powder): ANNEX XVIII DETERMINATION OF MOISTURE CONTENT IN DRIED CREAM ISO法はなし	同左	"Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists," 13th Ed. (1980) Moisture content—"Moisture—Official Final Action," section 16.192.	
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(19) ホエイパウダー		[Whey, whether or not concentrated or containing added sugar or other sweetening matter, products consisting of natural milk constituents]			
	乳固形分 九五・〇%以上	solids:ISO 6734:1989/IDF 15B:1991	ISO 6734:2010 (IDF 15:2010) Sweetened condensed milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56816">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56816</a>		
		solids(Concentrated products): ISO 6731:1989/IDF 21B:1987	ISO 6731:2010(en) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6731:ed-2:v1:en">https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6731:ed-2:v1:en</a>		
	水分 五・〇%以下	water: IDF 21B:1987	ISO 6731:2010 (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=56815</a>		
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(20) たんぱく質濃縮ホエイパウダー					
	乳固形分 九五・〇%以上				
	乳たんぱく量 (乾燥状態において) 一五・〇%以上八〇・〇%以下				
	水分 五・〇%以下				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(21) バターミルクパウダー		[Buttermilk, fermented or acidified milk and cream, concentrated or not concentrated, containing added sugar or other sweetening matter]			
	水分 五・〇%以下	Water (acid buttermilk powder): ANNEX XIX DETERMINATION OF MOISTURE IN ACID BUTTERMILK POWDER	同左		
		Water (sweet buttermilk powder):ISO 5537:2004/IDF26:2004	同左 : ISO 5537:2004 (IDF 26:2004) Dried milk -- Determination of moisture content (Reference method) <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=35215</a>		
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(22) 加糖粉乳					
	乳固形分 七〇・〇%以上				
	うち乳脂肪分 一八・〇%以上				
	水分 五・〇%以下				
	糖分 (乳糖を除く) 二五・〇%以下				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				
(23) 調製粉乳					
	乳固形分 五〇・〇%以上				
	水分 五・〇%以下				
	細菌数 (標準平板培養法で—g当たり) 五〇,〇〇〇以下 大腸菌群 陰性				

分類	成分規格	試験法(ISO)【参照法】 1	試験法(ISO)【最新法】 2	試験法(AOAC)【参照法】 3	試験法(AOAC)【最新法】 4
(24) 発酵乳		[Buttermilk, fermented or acidified milk and cream, concentrated or not concentrated, containing added sugar or other sweetening matter]		Cultured milk.	
	無脂乳固形分 八・〇%以上	Solids (other products): Methods approved by the competent authority	同左	Milk solids not fat content—Calculated by subtracting the milkfat content from the total solids content as determined by the method prescribed in section 18.032, "Method I—Official Final Action," under the heading "Total Solids."	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=22622</a> Method Number 990.19 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23149</a> Method Number 990.20 <a href="http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166">http://www.eoma.aocac.org/methods/info.asp?ID=23166</a>
	乳酸菌数又は酵母数(一m当たり) 一〇、〇〇〇、〇〇〇以上				
(25) 乳酸菌飲料(無脂乳固形分三・〇%以上のもの)					
	乳酸菌数又は酵母数(一m当たり)				
	一〇、〇〇〇、〇〇〇以上				
	大腸菌群 陰性				
(26) 乳飲料					
	細菌数(標準平板培養法で一m当たり) 三〇、〇〇〇以下				
	大腸菌群 陰性				
(1) 乳酸菌飲料(無脂乳固形分三・〇%未満のもの)					
	乳酸菌数又は酵母数(一m当たり) 一、〇〇〇、〇〇〇以上				
	大腸菌群 陰性				
	1: (出典) COMMISSION REGULATION (EC) No 273/2008 of 5 March 2008 laying down detailed rules for the application of Council Regulation (EC) No 1255/1999 as regards methods for the analysis and quality evaluation of milk and milk products				
	2: (出典) ISO Standards catalogue ISO/TC 34/SC 5 - Milk and milk products <a href="http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_tc_browse.htm?commid=47878">http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_tc_browse.htm?commid=47878</a>				
	※3: (出典) CFR TITLE 21—Food and Drugs CHAPTER I—FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER B—FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION				
	4: (出典) AOAC Official Methods of Analysis <a href="http://www.eoma.aocac.org/">http://www.eoma.aocac.org/</a>				
	H28年度 実施項目				

## 2. 乳等省令で規定される細菌数の直接 個体鏡検法（ブリード法）の代替染色法 の検討

ブリード法鏡検時の各種染色液の使用感としては、Nが初心者でも安定した染色が可能で鏡検時に判別しやすい印象である一方、B1、B2は背景と細菌および体細胞が異なる色に染色されるため判別しやすく、また色彩も判別しやすい印象となった。しかし染色のムラがでる場合や背景が濃染される場合などでは判別しにくい印象もあった。いずれの染色法もブリード法の特長として細菌・体細胞を1個と計測するか2個と計測するか判断に迷う場合があった。各染色液による細菌数および体細胞数の比較では、生乳5検体を用いて細菌数および体細胞数の1視野平均数を比較し検体ごとにZスコアを求めたところ、いずれの検体もいずれの染色液も $\pm 2$ 以内に分布した。よって、各染色液とも細菌数および体細胞数の1視野平均数は同等と示された。

### D. 考察

昨年度に調査した米国、EU、オーストラリア及びニュージーランドにおける乳及び乳製品の成分規格で規定されるそれぞれの国の試験法と乳等省令における試験法のうち、牛乳、クリーム及び脱脂粉乳について、米国(OMA法)及びEU(ISO法)における試験法と対応する現行試験法が明らかになったことから、これらの検体を当該試験法に供試した。一方、対応表で示すとおり、OMA法及びISO法においても、必ずしも乳等省令で対応する試験法があるわけではなく、まずは対

応する試験法があるものについて、検体試験を実施した。

4試験室で実施した乳の乳脂肪分および無脂乳固形分の試験では、原理的にまったく異なる試験法である、ゲルベル法(乳等省令法)と重量法(OMA法及びISO法)を用いた試験法であることを反映した結果となった。すなわち、ばらつきの指標である室間再現相対標準偏差については、ISO法、OMA法が0.4%、乳等省令法は2.4%となり、乳等省令法の方がばらつきの大きい結果となった。これは、析出した脂肪柱についてゲルベル乳脂計の目盛りを直接目視で読み取る容量法である乳等省令法と、抽出した脂肪の重量を化学天びんで測定する重量法であるISO法およびOMA法との原理の違いによる精度の差と考えられた。脂肪分の測定で海外の試験法が重量法を用いる中、容量法であるゲルベル法で国際的なハーモナイゼーションを考える場合には内容を精査し、試験の実施手順に関する詳細な記述も必要であろう。

乳の無脂乳固形分については、乳等省令法、OMA法ともに全固形分を定量し、別に求めた乳脂肪分を差し引くことによって算出する方法であった。全固形分の定量法では、乳等省令法の方が、ばらつきが小さく、全固形分はわずかに高値になる傾向が見られた。これは、乳等省令法は乾燥機で乾燥させる前に予備乾燥を行う工程があり最終的な乾燥ムラが小さくなるものと考えられたが、OMA法には予備乾燥の工程がなく、試料を直接乾燥機で乾燥させ乾燥物重量を定量するため、

ばらつきが生じるものとかんがえられた。OMA990.20において室間再現許容差は0.118%であり、乳等省令法とOMA法の測定値の差はその範囲内にあり、同等の結果が出せることができ、精度的にも乳等省令法が優れているという結果となった。また、X-Yプロットにおいても $R^2 > 0.999$ と非常に高い相関性が確認された。

クリームにおける乳脂肪分の試験法では、乳等省令法・ISO法・OMA法共通して原理的に同じ重量法であるものの、脂肪抽出を行う器具に違いがあり、乳等省令法には「リョーリツヒ管」が、ISO法及びOMA法には「マジョニア管」が規定されている。測定値の比較では、ISO法とOMA法は同等の結果となったが、乳等省令法は平均すると約0.4%低値となる傾向がみられた。その原因については、抽出器具による抽出効率の違いや試験操作におけるロス等が考えられるが、ばらつきの指標である併行相対標準偏差には差が認められなかったことから、試験操作におけるロスよりも抽出器具による抽出効率の差が大きな要因となっていることが考えられた。また、X-Yプロットではいずれも $R^2 > 0.999$ と非常に高い相関性が確認された。本試験で使用する器具に関して、昨年度のアンケートでの意見もあったが、日本国内においてもレーゼ・ゴットリーブ法を実施する際にはマジョニア管を用いるのが一般的となっている現状があることから、日本国内の実状と国際的な整合性の両方の観点からマジョニア管も適用可能とすることが望ましいと考えられた。

脱脂粉乳における水分の試験法は、乳等省令法が98~100の乾燥機内で乾燥を行う常圧乾燥法であるのに対し、ISO法は87の乾燥機内において風量33ml/minの条件で乾燥空気を通過させながら5時間乾燥させるという試験法であり、OMA法は100の乾燥機内において100mmHgの減圧条件下で5時間乾燥させるという試験法である。測定値は低い順にISO法、乳等省令法、OMA法となったが、乾燥温度が87であることを考えるとISO法が一番穏やかな条件下での乾燥であり、他と比べて低めの傾向が見られたものと考えられた。乳等省令法とOMA法はどちらも乾燥温度は100であるが、OMA法は減圧条件下での乾燥であり乳等省令法と比べて水分が蒸発しやすい条件であるため高めの傾向となったものと考えられた。ばらつきの指標である併行相対標準偏差は乳等省令法が一番小さい結果となったが、ISO法は乳等省令法と比べて操作が煩雑であることや、OMA法は試料採取量が少ないために相対的にばらつきやすいこと等が要因として考えられた。

ブリード法の代替染色法の検討では、市販品であるBPV染色液(ベッセル【獣医環境衛生研究所】)およびブロードファーストバーレイ(武藤化学)についてニューマン染色液との同等性が示唆されたものの、細菌や細胞と背景の染色の程度を改善し、標的細菌・細胞の個数に関わる分裂像の判断基準に関する指針作成などの検討が必要と考えられた。

## E. 結論

米国及び EU では、乳及び乳製品の成分規格に関する試験法は、OMA 法や ISO 法などの国際的に認められた試験法を参照法とし、妥当性が確認された最新の方法が公的試験法として随時採用されている。これらの公的試験法と乳等省令における試験法との比較から、本年度実施した品目における測定結果のわずかな違いは、乳等省令における試験法の精度や測定原理の違いによるものであることが明らかとなった。引き続き実施する他の品目における試験法の比較結果を踏まえつつ、国際的な整合性を持ち現行法の長所も取り込みうる試験法の検討が必要と考えられる。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

1) 誌上発表 なし

2) 学会発表

・下島優香子、井田美樹、西野由香里、

福井理恵、黒田寿美代、大嶋秀克、品川邦汎、平井昭彦、貞升健志、寺嶋淳：生乳の直接個体鏡検法（ブリード法）における染色液の比較、第29回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会、平成29年2月、甲府市

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし