

平成 29 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：**

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に該当する、EU 及び米国の最新の試験法について情報収集を行った。対応する試験法を整理した項目のうち、アイスクリーム類、濃縮乳・無糖練乳、加糖練乳について、米国における試験法 (Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL : OMA 法) 及び欧州連合における試験法 (ISO 法) と乳等省令法との比較試験を実施した。アイスクリーム類は、乳脂肪分の試験法を OMA 法と比較し、測定値は OMA 法と比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。濃縮乳・無糖練乳の全固形分は、乳等省令法、ISO 法、OMA 法の 990.19(AOAC990.19)及び 990.20(AOAC990.20)の 4 法を比較し、測定値は AOAC990.19 及び AOAC990.20 がほぼ同じ値で高く、次いで ISO 法、乳等省令法という順であった。室間再現相対標準偏差は、大きい順に ISO 法、乳等省令法と AOAC990.19、AOAC990.20 となった。濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分の測定値は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が大きかった。加糖練乳の全固形分は ISO 法と比較し、測定値は ISO 法に比べて乳等省令法が高く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。加糖練乳の乳脂肪分の測定値は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は大きい順に乳等省令、ISO 法、OMA 法であった。

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。代替染色液として、ブロードハーストパーレイ染色液、その改良染色液である BPV 染色液およびブロードハーストパーレイ改良染色液を用いて、4 施設によるコロバレイティブスタディを行い、各染色液のニューマン染色液との同等性を検証した結果、いずれの染色液も同等性が確認された。よって、ブロードハーストパーレイ染色液およびその改良染色液はニューマン染色液の代替染色液として使用可能と示唆された。

## 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

### A. 研究目的

本研究では、乳等省令における試験法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。

### B. 研究方法

#### 1. EU 及び米国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に該当する、EU 及び米国の最新の試験法について文献調査・整理を行い、取りまとめた。

乳及び乳製品を含む食品の成分規格と試験法について、EU では 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 が定められており、試験法は ISO 試験法を使用している。また、米国では Code of Federal Regulation (CFR ; 連邦行政規則集) CFR TITLE 21 Food and Drugs CHAPTER

I FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER B-FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION を定めており、乳及び乳製品については、131. MILK AND CREAM、133. CHEESES AND RELATED CHEESE PRODUCTS、135. FROZEN DESSERTS に記載されている。また、CFR では、試験法として、Official Methods of Analysis of AOAC International (AOAC) が定める試験法 (AOAC 法) を利用することが記載されている。

#### 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

今年度は、ブロードハーストパーレイ染色液 (B2)、その改良染色液である BPV 染色液 (B1, ベッセル【獣医環境衛生研究所】) およびブロードハースト・パーレイ改良染色液 (公益社団法人 北海道酪農検定検査協会生乳検査部) のニューマン染色液 (N, 関東化学) との同等性を検証するために、4 施設によるコラボレイティブスタディを行った。2017 年に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当センターに輸送された生乳 2 検体を供試した。

### 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

今年度調査した乳等省令の試験項目に対応する ISO 試験法と AOAC 法は、表 3 1 のとおりである。なお、平成 28 年度に比較を行った試験法については、網掛けとし、掲載を割愛している。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。

## 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染色像では、Nは初心者でも安定した染色が可能であり、鏡検時に判別しやすい印象であった。B1、B3は背景がピンク色、細菌および体細胞は青色に染色され、色が異なり判別しやすく、また色彩も判別しやすい印象であった。B2はB1と同じように背景と対象物の色が異なり判別しやすい一方、背景が濃く染まる場合があり、濃い部分では測定がしづらく、判別しにくい印象であった。

コラボレイティブスタディにより、B1、B2、B3いずれの染色液においても、求められる細菌数および体細胞数は試料1、2ともいずれも標本のばらつきの範囲内に含まれ、染色液Nによって得られる数値と同等であると考えられた。

表 エラー! 指定したスタイルは使われていません。-1 乳等省令の試験項目に対応する ISO 法と AOAC 法で規定されている試験法

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)	—		—	
	細菌数	—		—	
b 生山羊乳		—		—	
	比重 (摂氏十五度において) 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		【Milk and cream, not concentrated nor containing added sugar or other sweetening matter】		Milk	
	無脂乳固形分 八・〇%以上	—		“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.	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 Method Number 990.19 Method Number 990.20
		—			
	乳脂肪分 三・〇%以上	fat( 6% <i>m/m</i> ): ISO 1211:2001   IDF 1D:1996	ISO 1211:2010 (IDF 1:2010) Milk -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method)	“Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists,” 13th Ed. (1980), Milkfat content—“Fat, Roese-Gottlieb Method—Official Final Action,” section 16.059.	Fat in Milk Method Number 905.02 Method Number 989.05
	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 (標準平板培養法で一m l 当たり) 五〇、〇〇〇以下	—	ISO 13366-1:2008 (IDF 148-1:2008) Milk -- Enumeration of somatic cells -- Part 1: Microscopic method (Reference method)	—	
大腸菌群 陰性	—		—		
(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 (標準平板培養法で一m l 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 (標準平板培養法で一m l 当たり) 五〇、〇〇〇以下	—		—	

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
(4) 成分調整牛乳	大腸菌群 陰性	—		—	
		—		—	
	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1m <sup>l</sup> 当たり) 五〇、〇〇〇以下	—		—	
(5) 低脂肪牛乳	大腸菌群 陰性	—		—	
		—		—	
	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	—		—	
(6) 無脂肪牛乳	酸度 (乳酸として) 〇・二%以下	—		—	
	細菌数 (標準平板培養法で1m <sup>l</sup> 当たり) 五〇、〇〇〇以下	—		—	
	大腸菌群 陰性	—		—	
		—		—	
	無脂乳固形分 八・〇%以上	—		—	
(7) 加工乳	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1m <sup>l</sup> 当たり) 五〇、〇〇〇以下	—		—	
	大腸菌群 陰性	—		—	
(1) クリーム		【Cream】		Heavy cream. Light cream. Light whipping cream	
	乳脂肪分 一八・〇%以上	fat: ISO 24 50:1999   IDF 16 C:1987	ISO 2450:2008 (IDF 16:2008) Cream -- Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method)	“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 Method Number 995.18 Method Number 995.19
		【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)		
	酸度 (乳酸として) 〇・二〇%以下	—		—	
	細菌数 (標準平板培養法で1m <sup>l</sup> 当たり) 一〇〇、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
(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)	—	
	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)	—	
	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	—	
		(procedure) ISO slandered 4831	ISO 4831:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique	—	
(3) バターオイル		unsalted butter のみ			
		【butter oil】		—	
	乳脂肪分 九九・三%以上	—		—	
	水分 〇・五%以下	Water (if fat < 99 % m/m): ISO 5536:2002   IDF 23:2002	ISO 5536:2009 (IDF 23:2009) Milk fat products -- Determination of water content -- Karl Fischer method	—	
(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。)	大腸菌群 陰性	—			
	リステリア・モノサイトゲネス (—g 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)	—	
	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)	—	
		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)	—	
	大腸菌群 陰性	—			
(7) アイスクリューム		—		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)	—	
	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, Roese-Gottlieb Method—Official Final Action.”	Fat in Ice Cream and Frozen Desserts Method Number 952.06

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
	細菌数 (標準平板培養法で—g 当たり) —〇〇、〇〇〇以下	—		—	
	大腸菌群 陰性	—		—	
(8) アイスミルク		—		—	
	乳固形分 —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)	“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 Method Number 990.19 Method Number 990.20
	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)	“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 Method Number 989.05
	細菌数 (標準平板培養法で—g 当たり) —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) —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)	“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
	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)	“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 Method Number 989.05
	細菌数 (標準平板培養法で—g 当たり) 〇	—		—	
(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) 〇	—			
(14) 加糖練乳		【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)	—	

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
	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)	"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
	水分 二七・〇%以下	—	—	—	—
	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	—	—
		Sucrose (low content): No reference method has been established.	同左	—	—
	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	—	—	—	—
(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)	—	—
	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)	"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
	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)	"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
	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)	"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
	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	—	—



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
		(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		
(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)	—	
	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)	“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 (Concentrated products): ISO 6731:1989   IDF 21B:1987	ISO 6731:2010(en) Milk, cream and evaporated milk — Determination of total solids content (Reference method)	—	
	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)	—	
	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   IDF 26:2004	同左 : ISO 5537:2004 (IDF 26:2004) Dried milk -- Determination of moisture content (Reference method)	—	
	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	—			—	

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
	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	—		—	
(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		Milk solids not fat content—Calculated by subtracting the milkfat content from the total solids content as determined by the method prescribed in section 16.032, "Method I—Official Final Action," under the heading "Total Solids."	Solids (Total) in Milk Method Number 925.23 Method Number 990.19 Method Number 990.20
	乳酸菌数又は酵母数(—m l 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(—m l 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—m l 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(—m l 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

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

網掛けはH28年度調査においてフローチャートを作成している項目。

#### D. 考察

海外における試験法のうち、乳等省令に対応する試験法が明らかになった、EU (ISO 法) 及び米国 (OMA 法) における試験法について、アイスクリーム類の乳脂肪分、濃縮乳・無糖練乳の乳固形分、濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分、加糖練乳の乳固形分、加糖練乳の乳脂肪分の試験法を乳等省令の試験法と比較した。乳脂肪分の試験法として比較した乳等省令法及び OMA 法は、いずれも原理的には同じ重量法であるが、脂肪抽出を行う器具に違いがあり、乳等省令法には「レーリツヒ管」が、OMA 法には「マジョニア管」が規定されている。乳脂肪分の測定結果として乳等省令法は測定値が低く、試験所間で差が出やすいという傾向を示した。これは、レーリツヒ管とマジョニア管の形状の違いを反映しているものと考えられた。レーリツヒ管とマジョニア管は、どちらもガラス製の脂肪抽出器具であるが、その形状は大きく異なる。レーリツヒ管は、管の中央部付近にある側管から溶媒層を回収する構造になっており、その構造上側管より下に位置する溶媒層はレーリツヒ管内に残してしまうことになる。一方、マジョニア管は溶媒層を最後まで回収できる構造になっている。マジョニア管に比べてレーリツヒ管がロスを生じてしまう形状であることが、乳等省令法が低値となった原因であると考えられた。

濃縮乳・無糖練乳の乳固形分の測定試験法の比較では、比較試験を行った乳等省令法、ISO 法、OMA990.19 及び

OMA990.20 の 4 試験法はいずれも直接乾燥法であるが、試料採取方法や、測定操作に少しずつ違いがある。測定値の総平均値を比較した場合、AOAC990.19 と AOAC990.20 はいずれも 28.66% と同値であり、ISO 法は 28.54%、乳等省令法は 28.44% であった。ISO 法の反復精度は 0.50%、OMA 法の反復精度は AOAC990.19 が 0.013%、AOAC990.20 が 0.018% である。ばらつきについては、室間再現相対標準偏差は大きい順に ISO 法は 0.8%、乳等省令法と OMA990.19 は 0.5%、OMA990.20 は 0.3% であった。X-Y プロットは 4 法いずれの組み合わせにおいても  $R^2 > 0.999$  と非常に高い相関性が確認された。

加糖練乳の全固形分について比較試験を行った乳等省令法と ISO 法は、いずれも原理的には同じ乾燥法であるが、乳等省令法は直接乾燥法であり、ISO 法は乾燥助剤法と呼ばれる方法である。

測定値の比較において、乳等省令法の総平均は 74.11% であり、ISO 法の 73.20% より固形分値として約 0.9% 高値であった。ISO 法の反復精度は 0.6% である。乾燥助剤は、水分含量が高いことに加えて、糖質などの含量も比較的高い試料を効率的に乾燥させるために加えるとされており、約 44% とショ糖を多く含む加糖練乳は、直接法である乳等省令法では乾燥が不完全な状態となっていることが考えられた。ばらつきについては、室間再現相対標準偏差の総平均は、乳等省令法は 0.5%、ISO 法は 0.3% であった。X-Y プロットは  $R^2 = 0.9351$  であり、非常に

高い相関性が確認された。

ブリード法試験における代替染色液の候補として、コラボレイティブスタディにより、B1、B2、B3いずれの染色液においても、求められる細菌数および体細胞数は試料 1、2 ともいずれも標本のばらつきの範囲内に含まれ、染色液 N によって得られる数値と同等であると考えられた。

したがって、ブロードハーストパーレイ染色液、その改良染色液である BPV 染色液およびブロードハーストパーレイ改良染色液は、ニューマン染色液の代替染色液として使用可能と示唆された。

#### E. 結論

本年度実施したアイスクリーム類の乳脂肪分、濃縮乳・無糖練乳の乳固形分、濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分、加糖練乳の乳固形分、加糖練乳の乳脂肪分の試験法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。今後は、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であろう。

#### 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

- ・国際酪農連盟日本国内委員会 理化学分析専門部会 / 添加物・汚染物質専門部会合同会議，平成29年7月18日，東京都

- ・一般社団法人日本乳業協会 生産技術委員会，平成29年8月30日，東京都

#### 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

ou

