

乳果オリゴ糖

(①粉末 ②液体)

定義 本品はショ糖(注1)と乳糖(注2)をフルクトシルトランスフェラーゼ(注3)により酵素反応させたもので、ラクトスクロースを主成分としたものである。

含量 ①粉末 本品を乾燥物換算したものは乳果オリゴ糖(ラクトスクロース)を55.0%以上含む。

②液体 本品は乳果オリゴ糖(ラクトスクロース)を55.0~60.0%含む。

性状 ①粉末 本品は白色粉末で、甘味がある。

②液体 本品は無色澄明の粘りような液体で、甘味がある。

確認試験 定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品のピークの保持時間はラクトスクロース標準品のピーク保持時間と一致する。また、白糖標準液(注4)および乳糖標準液(注5)を同一条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、白糖及び乳糖に対する本品の相対保持時間はそれぞれ 1.6 ± 0.3 、 1.3 ± 0.1 である。

純度試験

(1) 液性 ①粉末 pH 4.0~7.0 (30 g、水 70 ml)

②液体 pH 4.0~6.5 (30 g、水 70 ml)

(2) 重金属 Pbとして $1.0 \mu\text{g/g}$ 以下(10 g、第1法、比較液 鉛標準液 1.0 ml)

(3) ヒ素 As_2O_3 として $1.0 \mu\text{g/g}$ 以下(0.5 g、第1法、装置C、比較液 ヒ素標準液 0.4ml)

乾燥減量 ①粉末 5.0%以下(2~3 g、減圧、80°C、6時間)

強熱残分 ①粉末 0.1%以下(2 g、600°C、4時間)

②液体 0.05%以下(2 g、600°C、4時間)

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1 gにつき、細菌数は300以下、真菌数は5以下である。また、大腸菌は認めない。

定量法

①粉末 本品約1.0 gを精密に量り、これに水約20 mlを加えて溶解し、水を加えて正確に50 mlとし、検液とする。別にラクトスクロース標準品(注6)を80°Cで6時間減圧乾燥し、その約500 mgを精密に量り、水を加えて溶かし、正確に50 mlとし、標準液とする。検液及び標準液20 μl につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、検液のラクトスクロースのピーク面積 S_1 及び標準液のラクトスクロースのピーク面積 S_2 を測定する。

②液体 本品約1.3 gを精密に量り、これに水約20 mlを加えて溶解(加温しながら混ぜるか、超音波処理により行う)し、水を加えて正確に50 mlとし、検液とする。検液及び①粉末で用いた標準液20 μl につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを

行い、検液のラクトスクロースのピーク面積 S_1 及び標準液のラクトスクロースのピーク面積 S_t を測定する。

乳果オリゴ糖（ラクトスクロース）の含量

$$= \frac{\text{標準品採取量 (mg)}}{\text{試料採取量 (mg)}} \times \frac{S_1}{S_t} \times 100 (\%)$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 5 μm のカルバモイル基化学結合型シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm、長さ 25 cm のステンレス管

カラム温度 35 $^{\circ}\text{C}$

移動相 アセトニトリル/水混液 (71 : 29)

流量 ラクトスクロースの保持時間が約 16~19 分となるよう調整する。

(注 1) ショ糖 ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) は純度 99.0%以上。

(注 2) 乳糖 ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$) は純度 98.5%以上。

(注 3) フルクトシルトランスフェラーゼ： β -フラクトシダーゼ、*Arthrobacter* sp. K-1 株 (FERM BP-3192) 由来

(注 4) 精製白糖 (日本薬局方) 100 mg を精密に量り、水に溶解し正確に 10 ml とする。

(注 5) 乳糖一水和物 100 mg を精密に量り、水に溶解し正確に 10 ml とする。

(注 6) ラクトスクロース標準品

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、ラクトスクロース ($\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$) 98.0 %以上を含む。

定量法 本品約 1.5 g をとり、水を加えて正確に 100 ml とし、検液とする。検液 20 μl につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を自動積分法により測定する。

ラクトスクロースの量 (%)

$$= \frac{\text{検液のラクトスクロースのピーク面積}}{\text{総ピーク面積}} \times 100$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 5 μm のカルバモイル基化学結合型シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm、長さ 25 cm のステンレス管

カラム温度 35 $^{\circ}\text{C}$

移動相 アセトニトリル/水混液 (71 : 29)

流量 ラクトスクロースの保持時間が約 16~19 分となるよう調整する。

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び

一般試験法を準用する。

ガラクトオリゴ糖（1）

定 義 本品は乳糖から β -ガラクトシダーゼ（注1）の作用により生成する、4'-ガラクトシルラクトースを主成分とするものである。

含 量 本品を乾燥物換算（減圧加熱乾燥法、90℃、3時間）したものは、ガラクトオリゴ糖 55%以上で、主な成分としてガラクトオリゴ糖中に 20%以上の 4'-ガラクトシルラクトースを含む。

性 状 本品は無色透明～淡黄色の粘ちような液体で、甘味がある。

確認試験 本品約2.5gを精密に量り、水を加えて正確に50 mlとし、検液とする。別にガラクトオリゴ糖標準品（注2）約2.5 gを精密に量り、水を加えて正確に50 mlとし、標準液とする。検液及び標準液10 μ lにつき、定量法の順相アミノプロピルカラムを用いた液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の主要なピークの保持時間は表-2に示す標準液のガラクトオリゴ糖成分の相対保持時間と一致する。

純度試験

(1) pH 3.0～5.5 （本品 12.5 g、水 23.5 ml）

(2) 鉛 Pbとして1 μ g/g以下（5.0 g、第1法、比較液 鉛標準液 0.5ml）

(3) ヒ素 As₂O₃として1 μ g/g以下（0.5 g、第1法、装置C、比較液 ヒ素標準液 0.4ml）

灰 分 0.1%以下

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は300以下、真菌数は10以下である。また、大腸菌は認めない。

定 量 法 本品約2.5 gを精密に量り、内標準物質のグリセリン溶液（5 → 100）を正確に5 ml加えた後、水を加えて正確に50 mlとし、検液とする。別に乳糖一水和物1053 mg（乳糖として1000mg）（注3）を正確に量り、水を加えて正確に25 mlとする。この溶液0.5、1.0、2.0、5.0 および10.0 mlに、グリセリン溶液（5 → 100）をそれぞれ正確に2 mlずつ加えた後、水で正確に20mlとし標準液とする。標準液10 μ lにつき、次の操作条件で排除型イオン交換カラムおよび順相カラムの液体クロマトグラフィーを行い、それぞれ縦軸に内標準物質に対する乳糖の比をとり、横軸に乳糖の濃度（1、2、4、10 および20 mg/ml）をとって検量線を作成する。

検液10 μ lにつき、排除型イオン交換カラムの操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、表-1に示した相対保持時間よりガラクトオリゴ糖成分を同定する。内部標準法により2～6糖類を乳糖で換算して定量する。次いで検液10 μ lにつき、順相カラムの操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、内部標準法により乳糖を定量する。2～6糖類の総量から乳糖量を差し引き、検液中のガラクトオリゴ糖含量を次の計算式により定量する。

$$\text{ガラクトオリゴ糖 (\%)} = (G - L) \times \frac{50}{S} \times \frac{100}{1000}$$

G : 排除型イオン交換カラムより乳糖に換算して求めた 2 ～ 6 糖の濃度 (mg/ml)

L : 順相カラムより求めた乳糖の濃度 (mg/ml)

S : 乾燥物換算した試料採取量 (g)

4' -ガラクトシルラクトース標準品 (注 4) 40mg を正確に量り、水を加えて正確に 2ml とする。この溶液 0.1、0.5、および 1.0 ml に、グリセリン溶液 (5 → 100) をそれぞれ正確に 0.2ml ずつ加えた後、水で正確に 2ml とし標準液とする。標準液 10 μl につき、順相カラムの操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、それぞれ縦軸に内標準物質に対する 4' -ガラクトシルラクトースの比をとり、横軸に 4' -ガラクトシルラクトースの濃度 (1、5、および 10mg/ml) をとって検量線を作成する。検液 10 μl につき、順相カラムの操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、4' -ガラクトシルラクトースと同定されたピークの濃度を定量する。以下の計算式よりガラクトオリゴ糖中の 4' -ガラクトシルラクトースの量が 20% 以上であることを確認する。

$$20 \leq \frac{\text{4' -ガラクトシルラクトースの定量値}}{\text{ガラクトオリゴ糖の定量値}} \times 100$$

操作条件

排除型イオン交換カラム

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 排除型イオン交換ゲルろ過カラム

カラム管 内径 6.0 mm、長さ 300 mm

カラム温度 60～80℃

移動相 水

流速 0.5 ml/分

表-1 ガラクトオリゴ糖標準品の排除型イオン交換カラムを用いた
液体クロマトグラフィーの主な成分と相対保持時間

成分名	相対保持時間
5糖および6糖	0.702
4糖	0.726
3糖	0.760
2糖	0.808
単糖 (グルコース)	0.899
単糖 (ガラクトース)	0.933
内標準 (グリセリン)	1.000

順相カラム

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 順相型アミノプロピルカラム

カラム管 内径4.6 mm、長さ250 mm

カラム温度 25℃

移動相 アセトニトリル/水混液 (70 : 30)

流速 1.0 ml /分

表-2 ガラクトオリゴ糖標準品の順相アミノプロピルカラムを用いた液体クロマト
グラフィーの主な成分と相対保持時間

成分名	相対保持時間	相対保持時間
	(乳糖)	(4'-GL)
内標準 : グリセリン	0.29	0.19
グルコースおよび ガラクトース	0.62	0.41
Gal β 1-3 Glc	0.84	0.56
Gal β 1-2 Glc	0.96	0.64
Gal β 1-4 Glc (乳糖)	1.00	0.67
Gal β 1-6 Glc	1.16	0.77
Gal β 1-4 Gal β 1-3 Glc	1.27	0.84
Gal β 1-4 Gal β 1-4 Glc (4'-ガラクトシルラクトース)	1.50	1.00
Gal β 1-4 Gal β 1-4 Gal β 1-4 Glc	2.16	1.44

(注1) β -ガラクトシダーゼ： EC. 3. 2. 1. 23

(注2) ガラクトオリゴ糖標準品：

含量 ガラクトオリゴ糖含有量 55%以上、乾燥減量26%以下、4'-ガラクトシルラク
トースをガラクトオリゴ糖中に20%以上含む。

定量法 本品は上記定量法に従って分析したとき、ガラクトオリゴ糖が55%以上含まれ
る。また、4'-ガラクトシルラクトース標準品（注3）を用いて、順相カラムにより
分析したとき、ガラクトオリゴ糖中に20%以上の4'-ガラクトシルラクトースが含まれ
る。

(注3) 乳糖一水和物 ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$)：

本品の特級試薬は白色結晶で、純度98.5%以上のものを使用する。

(注4) 4'-ガラクトシルラクトース標準品：

本品は白色の結晶または粉末である。

含量 本品を乾燥したものは4'-ガラクトシルラクトースを95%以上含む。

定量法 本品10mgを正確に量り、水を加えて正確に10mlとし、検液とする。検液10 μ l
につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、主ピークの保持時間の約2
倍の範囲についてピーク面積を測定し、総面積に対する主ピークの面積比を計算する。

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 排除型イオン交換ゲルろ過カラム

カラム管 内径6.0 mm、長さ300 mm

カラム温度 60~80 $^{\circ}$ C

移動相 水

流速 0.5 ml/分

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び
一般試験法を準用する。

ガラクトオリゴ糖（2）

（①液体 ②粉末）

定義 本品は、乳糖にβ-ガラクトシダーゼ(β-D-galactoside galactohydrolase 注1)を作用させ、副生するグルコースをパン酵母等により消費することで得られる4'-ガラクトシルラクトースを主成分とするものである。

含量 ①液体 本品は、ガラクトオリゴ糖52.5%以上で、主な成分としてガラクトオリゴ糖中に45.0~85.0%の4'-ガラクトシルラクトースを含む。

②粉末 本品を乾燥物換算したものは、ガラクトオリゴ糖70.0%以上で、主な成分としてガラクトオリゴ糖中に45.0~85.0%の4'-ガラクトシルラクトースを含む。

性状 ①液体 本品は無色透明~淡黄色の粘ちょうな液体で、甘味がある。

②粉末 本品は白色の粉末で、甘味がある。

確認試験 定量法で調製した検液及びガラクトオリゴ糖標準液につき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品に含まれるガラクトオリゴ糖（4'-ガラクトシルラクトース）のピークの保持時間は標準品のピークの保持時間と一致する。

純度試験

(1) 着色度 ①液体 20 以下（色価測定法(720nm、420nm)）

(2) 鉛 Pbとして1μg/g以下（5g、第1法、比較液 鉛標準液0.5ml）

(3) ヒ素 As₂O₃として1μg/g以下（0.5g、第1法、装置C、比較液 ヒ素標準液0.4ml）

乾燥減量

②粉末 3%以下（105℃、2時間）

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は200以下、真菌数は20以下である。また大腸菌は認めない。

定量法 本品（粉末）約3g又は本品（液体）約4gを精密に量り、水を加えて溶かして正確に50mlとし検液とする。別にガラクトオリゴ糖標準品（4'-ガラクトシルラクトース）（注2）を105℃で2時間乾燥し、その約20mgを精密に量り水を加えて溶かし、正確に10mlとし標準液とする。

検液及び標準液10μlにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、検液のガラクトオリゴ糖3糖（主成分4'-ガラクトシルラクトース）のピーク面積S₁、及びガラクトオリゴ糖4糖（ガラクトオリゴ糖3糖に対する相対保持時間が約0.91）のピーク面積S₂、ガラクトオリゴ糖5糖（ガラクトオリゴ糖3糖に対する相対保持時間が約0.84）のピーク面積S₃、並びに標準液のピーク面積S₄を測定する。

①液体

ガラクトオリゴ糖の含量(%)

$$= \frac{\text{ガラクトオリゴ糖標準品の採取量(mg)} (S_1+S_2+S_3) \times 5}{\text{試料採取量(mg)}} \times \frac{1}{S_t} \times 100$$

②粉末

ガラクトオリゴ糖の含量(%)

$$= \frac{\text{ガラクトオリゴ糖標準品の採取量(mg)} (S_1+S_2+S_3) \times 5}{\text{試料採取量(mg)} (1-\text{乾燥減量}(\%)/100)} \times \frac{1}{S_t} \times 100$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 5~15 μ mのスルホン化ポリスチレン系ゲル

カラム管 内径 10~12mm、長さ 30cm のステンレス管

カラム温度 60℃

移動相 水

流速 1.0ml/分

(注1) β -ガラクトシダーゼ : E. C. 3. 2. 1. 23、クリプトコッカス属酵母(主として *Cryptococcus laurentii* var. *laurentii* FERM P-7629)由来

(注2) ガラクトオリゴ糖標準品 (4'-ガラクトシルラクトース)

性状 本品は白色の粉末で、甘味がある。

含量 本品を乾燥物換算したものは、4'-ガラクトシルラクトースを99%以上含む。

乾燥減量 1%以下(105℃、2時間)

定量法 本品を105℃で2時間乾燥し、その約20mgを精密に量り水を加えて溶かし、正確に10mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、液体クロマトグラフィーを上記操作条件で行い、全ピーク面積値に対する主ピークの面積比を求め、含量とする。

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

キシロオリゴ糖

(①粉末 ②液体)

定 義 本品は、コーンコブ (*Zea mays*) をキシラナーゼ (注1) で酵素反応させて得られた、キシロビオースを主成分とするものである。

含 量

①粉末 本品を乾燥物換算したものは、キシロオリゴ糖95%以上を含み、キシロオリゴ糖中のキシロビオース含量は28~70%である。

②液体 本品はを脱水物換算したものは、キシロオリゴ糖70%以上を含み、キシロオリゴ糖中のキシロビオース含量は35~70%である。

性 状 ①粉末 本品は、白色の粉末で、わずかに甘い。

②液体 本品は、極めて薄い黄色の透明な液体である。

純度試験

(1) 比吸光度

①粉末

$$E_{5cm}^{20 w/v\%} (420nm) = 0.07以下$$

本品10.0 gを精密に量り、水を加えて正確に50mlとした液の吸光度を測定する。

②液体

$$E_{5cm}^{50 w/w\%} (420nm) = 0.07以下$$

本品約20.0gを精密に量り、同重量の水を加えて溶かした液の吸光度を測定する。

(2) 重金属

① 粉末 Pbとして 10 μg/g以下

本品約 5 g をビーカーに量り、500℃の電気炉に 5~6 時間入れ、灰化する。塩酸/水混液 (1:1) 5ml を加え、熱板上で蒸発乾固させる。水 15ml、塩酸/水混液 (1:1) 2 滴を加え、100℃で 30 分間加温する。その後、フェノールフタレインを指示薬として、アンモニア/水混液 (1:3)、6%酢酸を用いて、中和する。6%酢酸 2ml を加え、pH を 3.0~4.0 に調整する。ろ紙でろ過し、50ml 容ネスラー管に移し、一定量とする。硫化ナトリウム試薬 2 滴を加え、別に作成する標準列と比色し、定量する。

標準列の作成：鉛標準液 (10 μg/ml) 0~5ml を段階的にとり、試験溶液と同様に操作し、標準列を作成する。

(3) 鉛

② 液体 1.0 μg/g以下

本品約 5 g をケルダールフラスコに量り、硝酸、硫酸5mlを添加し加熱分解する。放冷後、分解液に20%塩酸10ml加えて煮沸する。放冷後、200ml容の分液ロートに移し、

50%クエン酸ニアンモニウム溶液10mlを加え、その後、チモールブルーを指示薬としてアンモニア水で中和する。放冷後、水を加えて約100mlとする。3%ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液 (APDC) 5mlを加えて5分間放置し、酢酸ブチルを加えて5分間振とうした後、静置する。酢酸ブチル層を採り、原子吸光光度計 (波長283.3nm、フレーム：空気-アセチレン) にて測定する。

(4) ヒ素

① 粉末 Λs_2O_3 として 0.5 μ g/g以下

本品約1gをケルダールフラスコに量り、硝酸、硫酸5mlを添加し加熱分解する。冷後、分解液に飽和シュウ酸アンモニウム溶液10~15mlを加えて加熱する。放冷後、ろ過してメスフラスコへ移し、40%ヨウ化カリウム溶液5mlを加え30分間放置し、10%アスコルビン酸溶液5mlを加え、一定量とする。その後、1.5%水素化ホウ素ナトリウム-0.5%水酸化ナトリウム溶液、塩酸/水混液 (1:1)、水を加え、発生した水素化ヒ素を原子吸光光度計 (波長：193.7nm、石英加熱セル温度：1000℃) にて測定する。

② 液体 $A s_2O_3$ として 0.2 μ g/g以下

本品約1.5gをケルダールフラスコに量り、硝酸、硫酸5mlを添加し加熱分解する。冷後、分解液に飽和シュウ酸アンモニウム溶液10~15mlを加えて加熱する。放冷後、ろ過してメスフラスコへ移し、40%ヨウ化カリウム溶液5mlを加え30分間放置し、10%アスコルビン酸溶液5mlを加え、一定量とする。その後、0.5%水素化ホウ素ナトリウム-0.02%水酸化ナトリウム溶液、塩酸/水混液 (1:9)、水を加え、発生した水素化ヒ素を原子吸光光度計 (波長：193.7nm、石英加熱セル温度：900℃) にて測定する。

(5) pH ②液体 3.5~6.5 (1.0g、水4g)

乾燥減量 ①粉末 6.0%以下 (3.0g、105℃、2時間)

水分 ②液体 24~26% (0.04g、直接滴定)

強熱残分

① 粉末 1.0%以下 (5g、550℃、3時間)

あらかじめ磁製の蒸発皿を550℃で約30分間強熱し、デシケーター中で放冷した後、その重量を精密に量る。本品約5gを先の蒸発皿に入れ、その重量を精密に量る。試料を少量の水で溶解させる。徐々に加熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、放冷する。放冷後、エタノール10mlを加え、エタノールを燃焼させる。放冷後、硫酸1mlを加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど発生しなくなった後、放冷する。さらにエタノール10mlを加え、エタノールを燃焼させる。放冷後、電気炉に入れ、550℃で3時間強熱する。次に蒸発皿をデシケーター内で放冷し、その重量を精密に量る。ただし、得られた値が規定値に適合していない場合は、残留物が恒量となるまで強熱する。

②液体 0.06%以下 (10g、550℃、3時間)

あらかじめ磁製の蒸発皿を550℃で約30分間強熱し、デシケーター中で放冷した後、その重量を精密に量る。本品約10gを先の蒸発皿に入れ、その重量を精密に量る。徐々

に加熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、放冷する。放冷後、エタノール10mlを加え、エタノールを燃焼させる。放冷後、硫酸1mlを加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど発生しなくなった後、放冷する。さらにエタノール10mlを加え、エタノールを燃焼させる。放冷後、電気炉に入れ、550℃で3時間強熱する。次に蒸発皿をデシケーター内で放冷し、その重量を精密に量る。ただし、得られた値が規定値に適合していない場合は、残留物が恒量となるまで強熱する。

微生物限度

次の試験を行うとき、本品1gにつき細菌数は①1000以下、②300以下、真菌数は①20以下、②10以下である。また、大腸菌群は認めない。

細菌数

本品5gを量り、滅菌した生理食塩水と混和して50mlとし、試料溶液とする。試料溶液1mlと標準寒天培地（注2）15～20mlを滅菌シャーレ中で混釈する。寒天培地が凝固した後、倒置して35±1.0℃、48±3時間培養し、集落数を計測する。

真菌数

本品5gを量り、滅菌した生理食塩水と混和して50mlとし、試料溶液とする。試料溶液1mlと抗生物質添加ポテト・デキストロースカンテン培地15～20mlを滅菌シャーレ中で混釈する。寒天培地が凝固した後、倒置して23～25℃、5～7日間培養し、集落数を計測する。

大腸菌群

本品5gを量り、滅菌した生理食塩水と混和して50mlとし、試料溶液とする。試料溶液を、BGLB培地およびダーラム管の入った発酵管に接種し、35±1.0℃、24～48±3時間培養し、ガスの発生を認めない場合、陰性とする。ガスの発生を認めた場合、ガス発生発酵管の培養液の1白金耳量をEMB寒天培地平板上に画線塗抹して35±1.0℃、24±2時間培養する。平板上に金属光沢～暗紫赤色の定型的集落あるいは非定型的集落を形成した場合、集落の2～3個またはそれ以上を釣菌して、乳糖ブイヨン発酵管および普通寒天斜面培地に移植し、35±1.0℃、48±3時間まで培養する。乳糖ブイヨン発酵管でガスと酸の産生を認め、これに対応する斜面培地上の菌がグラム陰性、無芽胞桿菌であれば陽性とし、これらのいずれかでも確認できない場合は陰性とする。陰性の場合、大腸菌群を認めない。

定量法

本品約1gを精密に量り、水を加えて溶かして正確に20mlとし、メンブランフィルター（0.45μm）でろ過し、検液とする。別にD-キシロース（注3）、ブドウ糖（注4）を乾燥し、1.00gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確にそれぞれ100mlとし、標準液とする。また、キシロビオース（注5）を乾燥し、0.50gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に50mlとし、標準液とする。検液及び標準液それぞれ10μlずつを量り、それぞれの液につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、それぞ

れのピーク面積を測定する。D-キシロース、ブドウ糖、キシロビオース標準液の面積比をあらかじめ求めておき、ファクターとする。以後このうちのどれかを基準物質として分析し、あらかじめ求めておいたファクターを乗じる。検液中の各糖濃度 (%) を (検液のクロマトグラフィーにおける各糖のピーク面積) / (各糖の標準液のクロマトグラフィーにおける面積) で求める。相対保持時間が、キシロビオースより短い糖はキシロビオースの、キシロースより長い糖はキシロースのファクターで定量する。

キシロオリゴ糖含量 (%) =

(キシロビオース及びキシロビオースより相対保持時間の短いピークのもの濃度の総計 / 全ピークの濃度の総計) × 100

キシロオリゴ糖中のキシロビオース含量 (%) =

(キシロビオースの濃度 / キシロビオース及びキシロビオースより相対保持時間の短いピークのもの濃度の総計) × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 ポリスチレンジビニルベンゼン陽イオン交換樹脂

カラム管 内径 7.8mm、長さ 30cm のステンレス管

カラム温度 65°C

移動相 0.005mol/l H₂SO₄

流速 0.6ml / 分

(注1) キシラナーゼ: *Trichoderma sp.* 由来

(注2) 標準カンテン培地:

ペプトン	5.0 g
酵母エキス	2.5 g
ブドウ糖	1.0 g
カンテン	15.0 g
水	1,000ml

全成分を混和し、121°Cで 15~20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH は 7.0~7.2 である。

(注3) D-キシロース:

本品は、無~白色の結晶又は粉末である。

含量 本品を乾燥したものは、D-キシロース (C₅H₁₀O₅) 95%以上を含む。

定量法 本品を乾燥し、その約 1g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 500ml とする。この液 10ml を正確に量り、メタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液 (1→400) 又は 0.3%過ヨウ素酸カリウム溶液 50ml を加え、更に硫酸 1ml を加えて水浴

中で 15 分間加熱する。冷後、ヨウ化カリウム 2.5 g を加え、よく振り混ぜた後、冷暗所に 5～15 分間放置し、0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液）。

別に空試験を行い補正する。

0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液1ml=1.8766mg $C_5H_{10}O_5$

(注4) ブドウ糖：

本品の規格は日本薬局方ブドウ糖に準じるが、乾燥したものを定量する時、ブドウ糖含量は98%以上である。

(注5) キシロビオース：

本品は、無～白色の結晶又は粉末である。

含量 本品を乾燥したものは、キシロビオース ($C_{10}H_{18}O_9$) 95%以上を含む。

定量法 本品約0.2gを精密に量り、水を加えて溶かして正確に20mlとし、検液とする。この検液10 μ lを採り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、主ピークの保持時間の2倍の範囲について、ピーク面積を自動測定法により測定し、総面積に対する主ピークの面積比を計算する。

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 スチレンジビニルベンゼン共重合体、スルホ基 (Na^+)

カラム管 内径8mm、長さ30cmのステンレス管

カラム温度 80 $^{\circ}C$

移動相 水

流速 0.8ml/分

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

イソマルトオリゴ糖

定義 本品は、デンプンを α -アミラーゼ（注1）、 β -アミラーゼ（注2）及び α -グルコシダーゼ（注3）により酵素反応させたもので、（ α 1, 2-, α 1, 3-, α 1, 6-）グリコシド結合された重合度2～6糖類を主成分とするものである。

含量 本品は、イソマルトオリゴ糖が37%以上で、主要な成分としてイソマルトース10～27%、イソマルトトリオース5～15%を含むもの。

性状 無～淡黄色の透明な液体で、においがなく、甘味がある。

純度試験

(1) pH 4.0～6.0 (30.0g、水 100ml)

(2) 重金属 Pbとして1 μ g/g以下 (20.0g、第1法、鉛標準液 2.0ml)

(3) ヒ素 As₂O₃として1 μ g/g以下 (1.0g、第1法、装置C、ヒ素標準液 1.0ml)

灰分 0.1%以下 (20.0g、550℃、5時間)

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品 1gにつき細菌数 30以下、真菌数 5以下である。また、大腸菌群は認めない。

細菌数

本品 10gにリン酸緩衝液 (pH7.2) 30mlを加え溶解させ、試料溶液とする。標準カンテン培地 (注4) 1.8mlを試験管に取り121℃、15分間滅菌して用いる。2枚のペトリ皿に、上記培地を加える。濾過ビンに0.45 μ mの滅菌したメンブランフィルター (直径47mm) をセットし、試料溶液を濾過する。滅菌精製水 30mlで洗浄後、濾過したメンブランフィルターの上面を培地表面に密着させたまま、37 \pm 1℃で48 \pm 3時間培養する。培養後2枚のペトリ皿の集落数を計測し、その平均値をg当りに換算し一般細菌数とする。

真菌数

本品 10gにリン酸緩衝液 (pH7.2) 30mlを加え溶解させ、試料溶液とする。ポテト・デキストロースカンテン培地 1.8mlを試験管に取り121℃、15分間滅菌して用いる。2枚のペトリ皿に、上記培地を加える。濾過ビンに0.8 μ mの滅菌済みメンブランフィルター (直径47mm) をセットし、試料溶液を濾過する。滅菌精製水 30mlで洗浄後、濾過したメンブランフィルターの上面を培地表面に密着させたまま、25 \pm 1℃で72 \pm 3時間培養する。培養後2枚のペトリ皿の集落数を数え、その平均値をg当りに換算し真菌数とする。

大腸菌群

本品 1gにリン酸緩衝液 (pH7.0) 9mlを加え溶解させ、試料溶液とする。BGLB培地 9mlを試験管に取りダーラム管を入れ、121℃、15分間滅菌して

用いる。試料溶液を1mlずつ3本の培地に加え、37±1℃で48±3時間で培養する。培養後2本以上でガス発生が認められた場合は、最もガス発生が多かった培養液を白金耳で採り、マッコンキー平板培地3枚に画線塗布し、37±1℃で48±3時間培養し集落を確認する。BGLB培地で2本以上ガスを発生し、かつマッコンキー培地で赤色又は淡赤色の集落が発生したものを大腸菌群陽性とし、これ以外を陰性とする。

定量法

本品約2gを精密に量り、水に溶かし、正確に50mlとし検液とする。別に標準品としてフラクトース、グルコース、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、マルトヘキサオース、イソマルトース、イソマルトトリオース（注5）を約500mgずつ精密に計り、水に溶かし正確に100mlとするこの液を5、10、15、20mlずつ正確に計り、それぞれ水で正確に50mlとし、標準液とする。検液及び標準液につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、検液中のイソマルトオリゴ糖の含量を次の計算式より求める。

$$\text{イソマルトオリゴ糖 (\%)} = (G - L) \times \frac{50}{S} \times 100$$

G：排除型イオン交換カラムを用いた液体クロマトグラフィーにより、各標準液検量線より求めた総糖含量（mg）

L：排除型イオン交換カラム及び順相カラムを用いた液体クロマトグラフィーより、各標準液検量線より求めた単糖及びマルトオリゴ糖含量（mg）

S：試料採取量（mg）

操作条件

排除型イオン交換カラム

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35ml/分

順相カラム

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 アミノ基修飾シリカ

カラム管 内径4.6mm、長さ250mmのステンレス管

カラム温度 25℃

移動相 アセトニトリル／水（65：35）

流速 0.8 ml／分

（注1） α -アミラーゼ：EC.3.2.1.1、主に *Bacillus licheniformis* 由来。

（注2） β -アミラーゼ：EC.3.2.1.2、主に大豆由来。

（注3） α -グルコシダーゼ：EC.3.2.1.20、主に *Aspergillus niger* 由来。

（注4）標準カンテン培地

ブドウ糖	1.0 g
酵母エキス	2.5 g
ペプトン	5.0 g
カンテン	15.0 g
水	1,000 ml

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpH7.0～7.4である。

（注5）

フラクトース標準品：

本品は、白色の結晶で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でフラクトース99%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

フラクトースの乾燥物換算含量（%）

＝検液のフラクトースのピーク面積÷総ピーク面積×100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35 ml／分

グルコース標準品：

本品は、白色の結晶で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でグルコース98%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク

面積を測定する。

グルコースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のグルコースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35ml/分

マルトース標準品：

本品は、白色の結晶で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でマルトース99%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10μlにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

マルトースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のマルトースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35ml/分

マルトトリオース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でマルトトリオース97%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10μlにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

マルトトリオースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のマルトトリオースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35ml/分

マルトテトラオース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でマルトテトラオース97%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10μlにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

マルトテトラオースの乾燥物換算含量 (%)

=検液のマルトテトラオースのピーク面積÷総ピーク面積×100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35ml/分

マルトペンタオース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でマルトペンタオース97%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10μlにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

マルトペンタオースの乾燥物換算含量 (%)

=検液のマルトペンタオースのピーク面積÷総ピーク面積×100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35 ml/分

マルトヘキサオース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でマルトヘキサオース97%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

マルトヘキサオースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のマルトヘキサオースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 Na型強酸性カチオン交換樹脂

カラム管 内径8mm、長さ200mmのステンレス管

カラム温度 65℃

移動相 水

流速 0.35 ml/分

イソマルトース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算でイソマルトース99%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

イソマルトースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のイソマルトースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 アミノ基修飾シリカ

カラム管 内径4.6mm、長さ250mmのステンレス管

カラム温度 25℃

移動相 アセトニトリル/水 (65 : 35)

流速 0.8 ml/分

イソマルトトリオース標準品：

本品は、白色の粉末で、においがなく、甘味がある。

含量 本品は、乾燥物換算で、イソマルトトリオース99%以上を含む。

定量法 本品約100mgを水に溶かし正確に100mlとし検液とする。この検液10 μ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定する。

イソマルトトリオースの乾燥物換算含量 (%)

= 検液のイソマルトトリオースのピーク面積 ÷ 総ピーク面積 × 100

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 アミノ基修飾シリカ

カラム管 内径4.6mm、長さ250mmのステンレス管

カラム温度 25℃

移動相 アセトニトリル/水 (65 : 35)

流速 0.8ml/分

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

