

関与成分規格（案）

難消化性デキストリン

定義 本品はトウモロコシデンプンに微量の塩酸を加えて加熱し、さらにα-アミラーゼ（注1）とグルコアミラーゼ（注2）による酵素分解を行ったのち食物繊維成分を分取したものである。

含量 本品は難消化性デキストリン（食物繊維として）を 85.0～95.0%含む。

性状 本品は淡黄色の粉末である。

確認試験 本品の検液及び標準品（注3）につき、定量法の操作方法で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品のチャートは標準品のチャートに一致する。

純度試験

（1）液性 pH 3.0～6.0（10g、水 90ml）

（2）重金属 Pb として 1μg/g 以下（1.0g、第2法、比較液 鉛標準液 0.1ml）

（3）ヒ素 As₂O₃ として 1μg/g 以下（1.0g、第4法、装置 B）

乾燥減量 5%以下（2.0g、70cmHg 減圧、70℃、5時間）

灰分 0.2%以下

あらかじめ白金製、石英製又は磁製のるつぼを 500～550℃で 1 時間強熱し、放冷後、その質量を精密に量る。本品 2～4g を採取し、先のるつぼに入れ、その質量を精密に量り、必要ならばるつぼのふたをとるか、又はずらし、初めは弱く加熱し、徐々に温度を上げて 500～550℃で 4 時間以上強熱して、炭化物が残らなくなるまで灰化する。放冷後、その質量を精密に量り、灰分の量(%)とする。放冷はデシケーター（シリカゲル）で行う。

DE 値（注4） 10～15

本品 2.5g を正確に量り、水で溶かして 200ml とする。この液 10ml を量り、1/25mol/L ヨウ素溶液（注5）10ml と 1/25mol/L 水酸化ナトリウム溶液（注6）15ml を加えて 20 分間暗所に放置する。次に、2mol/L 塩酸（注7）を 5ml 加えて混和した後、1/25mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液（注8）で滴定する。滴定の終点近くで液が微黄色になったら、デンプン指示薬（注9）2 滴を加えて滴定を継続し、液の色が消失した時点を滴定の終点とする。水を用いてブランク値を求め、次式により DE 値を求める。

$$DE = (b-a) \times f \times 3.602 / (1/1000) / (200/10) / \{ A \times (100-B) / 100 \} \times 100$$

a：滴定値(ml)

b：ブランク値(ml)

f：チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター値

A：試料の秤取量(g)

B：試料の水分値(%)

微生物限度

次の試験を行うとき、本品 1 g につき細菌数は 300 以下、真菌数は 100 以下である。
また、大腸菌群は認めない。

一般生菌数

本品 10g をリン酸緩衝溶液(pH7.2) (注 10) 90ml に溶解する。

標準カンテン培地 (注 11) 7.05g を 500ml の三角フラスコに入れ、精製水 300ml を加えて攪拌する。これを 121℃で 15 分間滅菌する。

2 枚のペトリ皿にそれぞれ 45～50℃に温調した培地を入れ、ここにリン酸緩衝溶液 (pH7.2) で 10 倍に希釈した試料溶液 1ml を加えて直ちに培地と試料溶液を十分に混合する。カンテン培地が完全に凝固した後ペトリ皿を倒置し、表面が乾燥した後 35 ±1℃で 48±3 時間培養する。

培養後 2 枚のペトリ皿の寒天上の集落数を数え、その大きい方の値を 10 倍して生菌数とする。

真菌数

本品 10g をリン酸緩衝溶液(pH7.2) 90ml に溶解する。

ポテト・デキストロースカンテン培地 12g、クロラムフェニコール 30mg、ローズベンガル 30mg を 500ml の三角フラスコに入れ、水 300ml を加えて攪拌する。これを 121℃で 15 分間滅菌して用いる。

2 枚のペトリ皿にそれぞれ 45℃に温調した培地を入れ、ここにリン酸緩衝溶液 (pH7.2) で 10 倍に希釈した試料溶液 1ml を加えて直ちに培地と試料溶液を十分に混合する。カンテン培地が完全に凝固した後ペトリ皿を倒置し、表面が乾燥した後 23 ～25℃で 7 日間培養する。

培養開始 3、5、7 日目に集落数を数え、7 日間で出現した集落数をそのペトリ皿の真菌数とする。2 枚のペトリ皿の真菌数のうち大きい方の値を 10 倍して検体の真菌数とする。

大腸菌群

BGLB 培地 40g をビーカーに入れ水 1000ml を加えて溶解する。溶解後ダーラム管を入れた 30ml 試験管に分注し、121℃で 15 分間滅菌して用いる。

本品 1g を BGLB 培地を入れた試験管に加え、35±1℃で 48±3 時間培養する。培養後ガスの発生を認める場合は培養液を白金耳でとって、EMB カンテン培地に画線塗抹し、35±1℃で 24±2 時間培養し、集落の形成の有無を確認する。EMB カンテン培地上に生育した集落は LB 培地を入れた試験管に移植し、さらに標準カンテン斜面培地に移植する。これらを 35±1℃で 48±3 時間培養した後、LB 培地でガスと酸の発生を確認し、さらに標準カンテン培地上の集落の細菌の検鏡を行う。

BL 培地で 48±3 時間以内にガスを発生し、標準カンテン培地上の菌がグラム陰性無芽胞桿菌であった場合に大腸菌群陽性とし、これ以外を陰性とする。

定量法

本品約 1g を精密に量り (Sp)、0.08mol/L リン酸緩衝溶液 (注 12) 50ml を加え、pH が 6.0 ± 0.5 であることを確認する。これに α -アミラーゼ (注 13) 溶液 0.1ml を加え、沸騰水浴中に入れ、5 分ごとに攪拌しながら 30 分間放置する。

冷却後、0.275mol/L 水酸化ナトリウム溶液約 10ml を加えて pH を 7.5 ± 0.1 に調整する。たん白分解酵素 (注 14) 溶液 0.1ml を加え、 $60 \pm 2^\circ\text{C}$ の水浴中で振とうしながら 30 分間反応させる。

冷却後、0.325mol/L 塩酸約 10ml を加え、pH を 4.3 ± 0.3 に調整する。アミログルコシダーゼ (注 15) 溶液 0.1ml を加え、 $60 \pm 2^\circ\text{C}$ の水浴中で振とうしながら 30 分間反応させる。

以上の酵素処理を終了後、直ちに沸騰水浴中で 10 分間加熱した後冷却し、10%グリセリン (内部標準物質) 5ml を加え蒸留水で 100ml とし酵素処理液とする。

酵素処理液 50ml をイオン交換樹脂 (OH 型：H 型=1：1) 50ml を充填したカラム (ガラス管 20mm×300mm) に通液速度 50ml/hr で通液し、さらに蒸留水で押し出して全量を約 200ml とする。この溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、全量を 20ml にメスアップする。孔径 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフィーに供する検液とする。

食物繊維成分含量(%) =

$$\begin{aligned} & [\text{食物繊維成分のピーク面積} / \text{グリセリンのピーク面積}] \times f_1 \\ & \times [\text{内部標準グリセリン重量}(\text{mg}) / \text{秤取試料重量}(\text{Sp}, \text{mg})] \times 100 \\ & f_1 : \text{グリセリンとブドウ糖のピーク面積の感度比}(0.82) \end{aligned}$$

操作条件

検出器	: 示差屈折計
カラム充てん剤	: 親水性ビニルポリマーゲル
カラム管	: 内径 7.8mm、長さ 30cm のステンレス管を 2 本直列につないだもの
カラム温度	: 80°C
移動相	: 水
流速	: 0.5ml/min

(注 1) α -アミラーゼ：EC 3.2.1.1。 *Bacillus* 属由来

(注 2) グルコアミラーゼ：EC 3.2.1.3。 *Aspergillus* 属由来

(注 3) 難消化性デキストリンの規格に適合するもので、含量が 88.0～92.0%であるもの

(注 4) DE 値 (Dextrose Equivalent 値)：

還元糖をグルコースとして測定し、その還元糖の全固形分に対する割合であり、デンプン分解物の分解度の指標となる。また、100/DE はデンプン分解物の重合度 (DP) を表し、平均分子量の指標となる。

(注 5) 1/25mol/L ヨウ素溶液 : ヨウ化カリウム 20.4g とヨウ素 10.2g を 2L のメスフラスコに入れ、少量の水で溶解後、標線まで水を加える。

(注 6) 1/25mol/L 水酸化ナトリウム溶液 : 水酸化ナトリウム 3.2g を 2L のメスフラスコに入れ、少量の水で溶解後、標線まで水を加える。

- (注7) 2mol/L 塩酸 : 水 750ml に塩酸 150ml をかき混ぜながら徐々に加える。
- (注8) 1/25mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 : チオ硫酸ナトリウム 20g を 2L のメスフラスコに入れ、少量の水で溶解後、標線まで水を加える。
- (注9) デンプン指示薬 : 可溶性デンプン 5g を水 500ml に溶解し、これに塩化ナトリウム 100g を溶解する。
- (注10) リン酸緩衝液(pH7.2) : リン酸一カリウム 34g を水 500ml に溶解し、1mol/L 水酸化ナトリウム 175ml で pH7.2 に調整後、水を加えて 1000ml にしたものを原液とする。原液 1.25ml に水を加えて 1000ml としたものを必要に応じて用いる。
- (注11) 標準カンテン培地 : 酵母エキス 2.5g、ペプトン 5g、グルコース 1g、寒天 15g、水 1L、pH7.0~7.4
- (注12) 0.08mol/L リン酸緩衝溶液(pH6.0)
無水リン酸二ナトリウム 1.400g とリン酸一ナトリウム 10.94g を 700ml の蒸留水に溶かし、pH を 6.0 に調整して 1L とする。
- (注13) α -アミラーゼ: EC 3.2.1.1。 *Bacillus licheniformis* 由来
- (注14) たん白分解酵素: EC 3.4.21.62。 *Bacillus licheniformis* 由来
- (注15) アミログルコシダーゼ: EC 3.2.1.3。 *Aspergillus niger* 由来

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。

ポリデキストロース

定義 本品は、ブドウ糖（注1）、ソルビトール及びクエン酸を、減圧下で熱処理して得られたもので、ブドウ糖の β -1,6結合を主とした重合物を主成分とする。

含量 本品を乾燥物換算したものは、ブドウ糖の β -1,6結合を持つ重合物 90%以上を含む。

性状 白色～淡黄色の非結晶性の粉末又は塊で、においがなく、味はないか又はわずかに酸味がある。

確認試験

1. 本品の水溶液（1→10）1滴に5%フェノール溶液4滴を加え、次に濃硫酸15滴を急速に加えるとき、濃い黄色からオレンジ色を呈する。
2. 本品の水溶液（1→10）1mlにアセトン1mlを激しく攪拌しながら加えるとき、溶液の色調に変化はない。
3. 2の溶液にアセトン2mlを激しく攪拌しながら加えるとき、直ちに白濁する。
4. 本品の水溶液（1→50）1mlにアルカリクエン酸銅試液4mlを加え、加熱する。冷後、上澄液は青色又は青緑色を呈する。

純度試験

- （1）液性：pH3.0～4.5（10g、100ml）
- （2）ヒ素： As_2O_3 として1.0 μ g/g以下（0.5g、第3法、装置C）
- （3）重金属：Pbとして5 μ g/g以下（1.0g、第2法、比較液 鉛標準液2.0ml）
- （4）鉛：0.5 μ g/g以下（1.0g、第1法）

強熱残分：0.3%以下（1.0g、800℃ 15分間）

水分：4%以下（1.0g、直接滴定）

微生物限度

次の試験を行うとき、本品1gにつき細菌数、真菌数は、300以下である。また大腸菌群は認めない。

一般生菌数

本品10gを量り、リン酸緩衝液（pH7.2）と混和して100mlとし、試料溶液とする。試料溶液1mlを無菌的にペトリ皿に分注する。あらかじめ45℃以下に保温された標準寒天培地15～20mlを加えて混和する。カンテン凝固後ペトリ皿を倒立して35℃で48時間培養する。出現した集落を計測する。

真菌数

一般生菌数検査で調整した試料溶液1mlを無菌的にペトリ皿に分注する。あらかじめ45℃に保温されたクロラムフェニコール添加ポテトデキストロース寒天培地20mlを加えて混和する。カンテン凝固後ペトリ皿を倒立して25℃で5～7日間培養する。出現した集落を計測する。

大腸菌群

一般生菌数検査で調整した試料溶液1mlを無菌的にペトリ皿に分注する。あらかじめ50℃に保温されたデソキシコレート寒天培地15ml～20mlを加えて混和する。カ

ンテン凝固後、その上から同培地を薄く重層する。凝固後ペトリ皿を倒立して 25℃で 24 時間間培養する。出現した赤色集落を計測する。

定量法

本品及びブドウ糖、ソルビトール、レボグルコサン（注 2）を乾燥し、それぞれ約 4 g、約 250mg、約 160mg、約 250mg を精密に量り、水を加えて溶かして正確に 100 ml ずつとし、検液及び標準液とする。それぞれの標準液 20 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、得られたクロマトグラムから求めたピーク面積を縦軸に、標準品の採取量を横軸にとり、検量線を作成する。検液を、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。得られた被検成分値を用い、計算式によりブドウ糖の β -1,6 結合を持つ重合物の含量を求める。

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、陰イオン交換樹脂

カラム管：内径 7~9mm、長さ 15~30 cm のステンレス管

カラム温度：30℃

移動相：0.0005mol/l 硫酸

流 量：ブドウ糖の保持時間が約 8.5 分となるように調整する。

計算式

ブドウ糖の β -1,6 結合を持つ重合物 (%)
= 100 - (強熱残分) - (ブドウ糖%) - (ソルビトール%) - (レボグルコサン%)

(注 1) 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 99.5% 以上である。

(注 2) レボグルコサン

ブドウ糖を加熱処理した際に生成される分子内脱水物で、1,6 無水ブドウ糖のこと。

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。

グアーガム分解物

定義 本品は、グアー (*Cyamopsis tetragonolobus*)の種子中に含まれるガラクトマンナンを β -ガラクトマンナーゼ(注1)で加水分解して得られた食物繊維画分である。

含量 本品を乾燥物換算したものは、グアーガム分解物(食物繊維として)60%以上含む。

性状 本品は、類白～微黄色の粉末又は粒で、わずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品 20g にイソプロピルアルコール 4ml を加えてよく湿らせた後、激しくかき混ぜながら水 200ml を加え、更に均一に分散するまで激しくかき混ぜるとき、わずかに粘性のある液になる。この液を沸騰した水浴上で約 10 分間加熱した後、室温まで冷却するとき、その粘性は加熱前とほとんど変わらない。

(2) (1)で得た 10%水溶液 10ml にホウ酸ナトリウム溶液 (1→20)2ml を加え、混和して放置するとき、ゼリー状にならない。

純度試験

(1) たん白質 7.0%以下

本品約 0.15mg を精密に量り、窒素定量法中のセミマイクロケルダール法により試験を行う。
0.005mol/l 硫酸 1ml=0.8754mg たん白質

(2) 酸不溶物 7.0%以下 「加工ユーケマ藻類」の純度試験 (5)を準用する。

(3) 重金属 Pbとして 20 μ g/g 以下 (1.0g、第2法、比較液 鉛標準液 2.0ml)

(4) 鉛 Pbとして 10 μ g/g 以下 (1.0g、第1法)

(5) ヒ素 As₂O₃として 1.0 μ g/g (0.5g、第3法、装置C)

乾燥減量 14.0%以下 (105°C, 3時間)

灰分 2.0%以下 (800°C, 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、細菌数は 10,000 以下、真菌数は 1,000 以下である。また、大腸菌は認めない。

定量法

本品 1.0 g を精密に量り、0.08mol/l リン酸緩衝液 (pH6.0) (注2) 50ml を加えて攪拌し、溶解、分散させる。ターマミル (注3) 100 μ L を加え、沸騰水溶液中で時々攪拌しながら 15～30 分間加熱する。冷却後、0.275mol/l 水酸化ナトリウム試液 (注4) 10ml を加えて pH7.5 $\pm$ 0.1 に調整する。プロテアーゼ (注5) 5mg を加え、振とうさせながら 60°C で 30 分間、加温する。冷却後、0.325mol/l 塩酸溶液 (注6) 10ml を加えて pH4.5 $\pm$ 0.2 に調整する。アミログルコシダーゼ (注7) 0.3ml を加え、振とうさせながら 60°C で 30 分間、加温し、冷却後、蒸留水を加え、100ml とする。その後、60°C に加温した 95%エタノール (注8) 400ml を攪拌しながら加え、室温で 60 分間放置する。その後、遠心分離 (3000rpm、5 分間) し、上清を捨てる。残渣を 78%エタノール (注9) 20ml で 3 回、95%エタノール 10ml で 2 回、さらにアセトン 10ml で 2 回洗浄し、毎回遠心分離 (3000rpm、5 分間) し、上清を除去する。残渣を少量の 95%エタノールで重量既知の白金製、石英製又は磁性の

つぼに移し、105℃で一晩乾燥し、デシケーター中で放冷した後、その重量を精密に量る。

上記操作によって得られた残渣について、一つは窒素定量法によりたん白質を定量し（係数：6.25）、さらに、一つは、灰分試験法（525℃、5時間）を行う。

別に空試験を行い補正する。

$$\text{グアーガム分解物(食物繊維含量として) (\%)} = \frac{R - \{(P+A)/100 \times R\} - B}{S} \times 100$$

R：残渣重量平均値 (mg)

P：残渣中のたん白質 (%)

A：残渣中の灰分 (%)

S：試料採取量 (mg)

B：空試験補正值 (mg)

$$B = Br - \{(Bp+Ba) / 100 \times Br\}$$

Br：空試験の残渣 (mg)

Bp：空試験の残渣中のたん白質 (%)

Ba：空試験の残渣中の灰分 (%)

(注1) β - ガラクトマンナーゼ：麴菌等由来(EC 3.2.1.78)

(注2) 0.08mol/l リン酸緩衝液 (pH6.0)：リン酸二ナトリウム、無水 1.400 g とリン酸一ナトリウム 10.94 g を量り、水を加えて溶かし 1,000ml とする。pHを確認する。

(注3) ターマミル：熱安定性 α - アミラーゼ (EC 3.2.1.1)

(注4) 0.275mol/l 水酸化ナトリウム試液：水酸化ナトリウム 11.0 g を水に溶かし、1,000ml にする。

(注5) プロテアーゼ：バチルス属サブスティリシン (EC 3.4.21.62)

(注6) 0.325mol/l 塩酸試液：塩酸 27ml を量り、水を加えて 1,000ml にする。

(注7) アミログルコシダーゼ：麴菌液化型アミラーゼ (EC 3.2.1.3)

(注8) 95%エタノール：C₂H₅OH [エタノール (95) (エチルアルコール (95), 特級)

(注9) 78%エタノール：水 207ml を量り、95%エタノールを加えて 1,000ml 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。

大豆オリゴ糖

定義 本品は、大豆 (*Glycine max*) から抽出した水溶性糖類の濃縮物で、スタキオース、ラフィノースを主成分とするものである。

含量 本品は、スタキオースおよびラフィノース 20.0%以上を含む。

性状 本品は、無～淡黄色の透明のシロップ状の液体で、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、本品に含まれる大豆オリゴ糖（スタキオース、ラフィノース）のピークの保持時間はスタキオース標準品、ラフィノース標準品のピークの保持時間と一致する。

純度試験

(1) 溶状 無色または淡黄色、澄明 (34.2→100)

(2) 液性 pH 4.5～6.5

本品を希釈せず測定する。

(3) 糖度 77±1

屈折率測定法を準用する。

(4) 重金属 Pbとして1μg/g以下(1.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液 0.1ml)

(5) ヒ素 As₂O₃として1μg/g以下(1.0g, 第2法, 装置C)

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 以下である。

また、真菌数は、5 以下である。

定量法

本品約 1g を精密に量り、これに水を加えて正確に 100ml とし、検液とする。別に、スタキオース標準品（四水和物）（注1）およびラフィノース標準品（五水和物）（注2）を常温・減圧下で 24 時間乾燥後、水分含量を求める。それぞれ、水に溶解し、水 100ml 中にスタキオース（無水和物換算）約 0.4g および 0.8g、ラフィノース（無水和物換算）約 0.15g および 0.3g を含む液を調整し、これらを標準液とする。検液および標準液 5μl につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、各糖のピーク高さ又はピーク面積を測定する。

$$\text{大豆オリゴ糖含量 (W/W\%)} = (a+b) \times 100/c \times 100/1000$$

a：検量線から求めた試験溶液中のスタキオースの濃度 (mg/ml)

b：検量線から求めた試験溶液中のラフィノースの濃度 (mg/ml)

c：試料採取量 (g)

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 スルホ基を結合させたスチレンジビニルベンゼン共重合体

カラム管 内径 8mm, 長さ 30cm のステンレス管

カラム温度 70℃

移動相 水

流量 0.8 から 1.0ml／分の一定量

(注1) スタキオース標準品（四水和物）：

分子量；738.65

外観；白色の結晶性粉末

融点；110℃

比旋光度 $[\alpha]^{20}_D$ (C=1, H₂O) =約+133 °

溶解性；水に可溶、エタノールに難溶

(注2) ラフィノース標準品（五水和物）：

分子量；594.51

外観；白色の結晶性粉末

融点；77-81℃

比旋光度 $[\alpha]^{20}_D$ (C=2, H₂O) =+102 ° ～+106 °

溶解性；水に可溶、エタノールに不溶

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。

フラクトオリゴ糖（１）

定義 本品はショ糖をβ-フラクトフラノシダーゼ（注１）により酵素反応させたものであり、１-kestose、nystose、fructosyl nystoseを主成分とするものである。

含量 本品を乾燥物換算したものは、フラクトオリゴ糖 55.0～60.0%で、主な成分としてフラクトオリゴ糖中に、24.0～35.0%の１-kestose、20.0～26.0%のnystose、2.0～7.0%のfructosyl nystoseを含む。

性状 本品は、無色～淡黄色の粘りような液体で、においがなく、甘みがある。

確認試験

検液及び１-kestose、nystose及び 1F-fructosyl nystose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、本品に含まれるフラクトオリゴ糖（１-kestose、nystose及び 1F-fructosyl nystose）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)液性 pH 5.0～6.0（10ml、水 10ml）
- (2)ヒ素 As_2O_3 として $4\mu g/g$ 以下（0.5g、第３法、装置 B）
- (3)重金属 Pb として $1\mu g/g$ 以下（2.0g、第１法、比較液 鉛標準液 2.0ml）
- (4)水分 27.0%～28.0%

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 以下である。また大腸菌は認めない。

定量法

本品を乾燥したものの約 5g を精密に量り 5%グリセリン溶液（注２）を 20ml を加えた後、水を加えて正確に 100ml とし検液とする。

別にフラクトオリゴ糖標準品（注３）を乾燥し、約 1,2,3,4 及び 5g ずつを精密に量り、それぞれに 5%グリセリンを正確に 1ml、水を加えて溶かして正確に 100ml とし、標準液とする。検液及び標準液 5 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフィーを行い、検液のグリセリンのピーク面積及び各フラクトオリゴ糖（グリセリンの対する相対保持時間が、１-kestose約 2.03、nystose約 2.57、1F-fructosyl nystose約 3.27）の面積を測定する。検液の各面積の比から検量線により求められた検液中の１-kestoseの濃度(mg/mg グリセリン)A、nystoseの濃度(mg/mg グリセリン)B 及び fructosyl nystoseの濃度(mg/mg グリセリン)C を求め、次式により、検液中の総フラクトオリゴ糖（１-kestose＋nystose＋1F-fructosyl nystose）の含有量を求める。

$$\text{総フラクトオリゴ糖(\%)} = (A+B+C) \times \frac{1000}{\text{試料採取量(mg)}} \times 100$$

操作条件

検出器 RI 検出器

カラム充填材 粒径 5 μ m のアクリルアミド基化学結合シリカ

カラム管 内径 4.6mm、長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 40°C

移動層 アセトニトリル／水混液(70：30)

流速 1ml／分

(注1) β -フラクトフラノシダーゼ：*Aureobasidium* 属 FERM P4257 由来

(注2) 5g のグリセリンに水を加えて 100ml とする

(注3) フラクトオリゴ糖標準品

1-kestose 本品は白色の粉末でにおいがなく、甘味がある。

含量 本品を乾燥したものは、1-kestose 99.0%以上を含む。

定量法 本品 1g をとり水を加えて 100ml とし、以下の操作条件において、その 10 μ l で液体クロマトグラフィーを行い、1-kestose (グルコースに対する相対保持時間 1.70) のピーク面積を測定し、全ピーク面積に対する、ピークの面積の比に 100 を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

検出器 RI 検出器

カラム充填材 細孔径 12nm 粒径 5 μ m の ODS 結合シリカ

カラム管 内径 4.6mm、長さ 15cm のステンレス管

カラム温度 40°C

移動層 水

流速 1ml／分

niostose 本品は白色の粉末でにおいがなく、わずかに甘味がある。

含量 本品を乾燥したものは、niostose 99.0%以上を含む。

定量法 本品 1g をとり水を加えて 100ml とし、以下の操作条件において、その 10 μ l で液体クロマトグラフィーを行い、niostose (グルコースに対する相対保持時間 3.04) のピーク面積を測定し、全ピーク面積に対する、主ピークの面積の比に 100 を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

1-kestose に同じ。

1F-fructofuranosilniostose 本品は白色の粉末でにおいがなく、わずかに甘味がある。

含量 本品を乾燥したものは、1F-fructofuranosilniostose 99.0%以上を含む。

定量法 本品 1g をとり水を加えて 100ml とし、以下の操作条件において、その 10 μ l で液体クロマトグラフィーを行い、1F-fructofuranosilniostose (グルコースに対する相対保持時間 6.11) のピーク面積を測定し、全ピーク面積に対す

る、主ピークの面積の比に 100 を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

1 ケーストースに同じ。

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。

フラクトオリゴ糖（２）

（①粉末 ②液体）

定 義 本品は、ショ糖をβ-フルクトフラノシダーゼ（注１）で酵素反応（ショ糖の果糖側に果糖をβ-2,1結合させる）して得られた1-kestose、nystose、フラクトフラノシルニストースを主成分とするものである。

含 量 ①本品を乾燥物換算したものは、フラクトオリゴ糖 95.0%以上で、主な成分としてフラクトオリゴ糖中に15.0～65.0%の1-kestose、25.0～75.0%のnystose、0～30%の1F-フラクトシルニストース0～30%を含む。

②本品を乾燥物換算したものは、フラクトオリゴ糖 55.0%以上で、主な成分としてフラクトオリゴ糖中に15.0～65.0%の1-kestose、25.0～75.0%のnystose、0.0～30.0%の1F-フラクトシルニストースを含む。

性 状 ①本品は、白色の粉末、粒、結晶又はこれらの混合物で、においがなく、甘味がある。

②本品は、白～淡黄色で澄明のシロップ状の液体で、無～白色の結晶を析出することがあり、においがなく、甘味がある。

確認試験 (1) 検液及びフラクトオリゴ糖標準液を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、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。

(2) 本品の水溶液（1→20）を検液とし、フラクトオリゴ糖（注２）、白糖、果糖及びブドウ糖標準品の水溶液（1→20）を対照液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。検液及び対照液2μlずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調整した薄層板にスポットする。次に、酢酸/クロロホルム/水混液（7：6：1）を展開溶媒として約7cm展開した後、薄層板をドライヤーにて熱風乾燥する。これに発色液（注３）を噴霧した後、300℃で約1分加熱するとき、ブドウ糖から得たスポットは青～紺色、果糖は赤～橙色、白糖、1-kestose、nystoseおよび1F-フラクトシルニストースは赤～紫色を呈し、検液と対照液のスポットの移動位置により確認する。

(3) 本品の水溶液（1→50）の味は甘い。

純度試験 (1) ① 溶状 澄明（1.0g、水2.0ml）

② 液性 pH6±1（3.0g、水10ml）

(2) 鉛 Pbとして1.0μg/g以下（10.0g、第1法）

(3) ヒ素 As₂O₃として1.0μg/g以下（5.0g、第1法、装置C）

乾燥減量 ①5%以下（2kPa以下、90℃、4時間）

②25%以下（2kPa以下、90℃、3時間）

灰 分 0.1%以下

微生物限度

① 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1,000以下、

真菌数は 20 以下である。また大腸菌は認めない。

- ② 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 20 以下である。また大腸菌は認めない。

定量法 本品約 2.0g を精密に秤量して精製水を加えて溶かし、さらに精製水を加えて正確に 100ml として検液とする。別にフラクトオリゴ糖標準品 1-kestose (GF₂)、Nystose (GF₃)、1F-フラクトフラノシルニストース (GF₄) をそれぞれ 0.4g 精密に秤量し、精製水を加えて正確に 20ml とする。この液を 1、2、3、4 および 5ml 正確に採取し、精製水を加えて約 10ml として標準液とする。検液および標準液 10 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、検液および各標準液の各フラクトオリゴ糖のピーク面積の比からフラクトオリゴ糖量を測定する。

$$\text{総フラクトオリゴ糖量 (\%)} = (A+B+C) / D \times 100$$

A: GF₂ 標準液検量線による検液中 GF₂ 量 (g)

B: GF₃ 標準液検量線による検液中 GF₃ 量 (g)

C: GF₄ 標準液検量線による検液中 GF₄ 量 (g)

D: 本品秤量 (g)

操作条件

検出器	示差屈折計
カラム充てん剤	5 μm の化学修飾型アミノプロピルシリル化シリカゲル
カラム管	内径 4mm、長さ 25cm のステンレス管
カラム温度	40℃
移動相	アセトニトリル／水混液 (70 : 30)
流速	1.0ml/min

(注1) β-フルクトフラノシダーゼ: *Aspergillus niger* 由来

(注2) フラクトオリゴ糖標準品:

1-kestose

性状 本品は白色の粉末で、水溶液 (1→20) は澄明である。

含量 本品を乾燥したものは、1-kestose 98%以上を含む。

定量法 本品約 15mg を精密に秤量して精製水を加えて溶かし、さらに精製水を加えて正確に 1.0ml として検液とする。検液 10 μl につき、フラクトオリゴ糖の定量法に示した操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、検出ピーク面積の比から純度を求め、含量とする。

$$\text{各標準品の純度 (\%)} = A/B \times 100$$

A: 各標準品のピーク面積

B: 全検出ピーク面積

Nystose

性状 本品は白色の粉末で、水溶液 (1→20) は澄明である。

含 量 本品を乾燥したものは、ニストース 98.0%以上を含む。

定量法 「1-kestose」の定量法を準用する。

1F-フラクトフラノシルニストース

性 状 本品は白色の粉末で、水溶液（1→20）は澄明である。

含 量 本品を乾燥したものは、1F-フラクトフラノシルニストース 75%以上を含む。

定量法 「1-kestose」の定量法を準用する。

（注3）発色液： A液とB液を10：1〔容量比〕で混合する。A液はジフェニルアミン 2g、アニリン 2ml、アセトン 100ml、B液はリン酸である。

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。

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 β -フラクトシダーゼ（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 55.0～60.0 % 含む。

性状 ①本品は白色粉末で、甘味がある。

②本品は無色澄明の粘ちょうな液体で、甘味がある。

確認試験 定量方法で分析したとき、試料のピークの保持時間は標準品のピーク保持時間と一致する。更に、白糖標準液（注4）および乳糖標準液（注5）を同一条件で分析した場合、白糖及び乳糖に対する乳果オリゴ糖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 ①pH 4.0～7.0 (30 g, 水 70 ml)

②pH 4.0～6.5 (30 g, 水 70 ml)

(2)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)

(3)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)

乾燥減量 ①5.0 %以下 (2～3 g, 減圧, 80°C, 6 時間)

固形分 ②75.0～78.0 % (1 g, 減圧, 80°C, 6 時間)

強熱残分 ①0.1 %以下 (2 g, 600°C, 4 時間)

②0.05 %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5）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_t を測定する。

②本品約 1.3g 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。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_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°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%以上を使用する。

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

（注 3） 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 本品を乾燥したものは，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°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 本品を乾燥物換算したものは、ガラクトオリゴ糖 55.0%以上で、主な成分としてガラクトオリゴ糖中に 20.0%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～淡黄色の粘ちょうな液体で、甘味がある。

確認試験 本品約 2.5 g 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 μl につき、順相系アミノプロピルカラムによる液体クロマトグラフィーを行うとき、検液のピークの保持時間は標準液のガラクトオリゴ糖成分の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) ヒ素 As₂O₃ として 1 μg/g 以下（0.5 g、第 3 法、装置 C）
- (3) 鉛 Pb として 1 μg/g 以下（5.0 g、第 1 法）

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 1 g 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、内部標準物質のグリセロール溶液（5 → 100）を 5 ml 加えた後、水を加えて正確に 50 ml とし、検液とする。別に乳糖一水和物約 1,053 mg を精密に量り、これに水を加えて溶解し、水を加えて正確に 25 ml とする。この溶液の 0.5、1.0、2.0、5.0 および 10.0 ml に、グリセロール溶液（5 → 100）を 2 ml 加えた後、水で正確に 20 ml とし標準液とする。検液及び標準液 10 μl につき、次の操作条件の液体クロマトグラフィーにより、乳糖と内部標準物質のピーク面積値またはピーク高さを求める。縦軸に内部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。検液中のガラクトオリゴ糖含量を次の計算式により求める。

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

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：試料採取量（g）

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

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

（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

ガラクトオリゴ糖含有量 55.0%以上

Bx糖度 75.0～76.0

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、副成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 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本品は白色の粉末で、甘味がある。

確認試験 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 ①20 以下（色価測定法（720nm、420nm））

（２）鉛 Pb として 1μg/g 以下（5 g、第 1 法）

（３）ヒ素 As₂O₃ として 1ppm 以下（0.5 g、第 3 法、装置 C）

乾燥減量

②3%以下（105℃、2 時間）

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 1 g 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 1ml 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 S_tを測定する。

ガラクトオリゴ糖の含量(%)

$$= \frac{\text{ガラクトオリゴ糖標準品の採取量(mg)}}{\text{試料採取量(mg)} \times \left(1 - \frac{\text{水分(\%)}}{100}\right)} \times \frac{(S_1 + S_2 + S_3) \times 50}{S_t} \times 100$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充填剤 5～15 μm 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)

ガラクトオリゴ糖標準品 (4'-ガラクトシルラクトース) を上記定量法で分析
した場合、次の式で 99%以上である。

$$\frac{S_t}{\text{全ピーク面積値}} \times 100(\%)$$

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 本品を乾燥物換算したものは、

- ① キシロオリゴ糖95.0%以上を含み、キシロオリゴ糖中のキシロビオース含量は28.0～70.0%である。
- ② キシロオリゴ糖70.0%以上を含み、キシロオリゴ糖中のキシロビオース含量は35.0～70.0%である。

性状 ①本品は、白色の粉末で、わずかに甘い。
②本品は、極めて薄い黄色の透明な液体である。

乾燥減量 ①6.0%以下 (3.0g、105℃、2時間)

水分 ②25±1% (0.04g、直接滴定)

pH ②3.5～6.5 (1.0g、水4g)

強熱残分

- ① 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。

- ② 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。

比吸光度

①

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

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

②

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

本品約20gを正確に量り、同重量の水を加えて溶かした液の吸光度を測定する。

純度試験

(1) ヒ素

① As_2O_3 として 0.5 $\mu\text{g/g}$ 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 As_2O_3 として 0.2 $\mu\text{g/g}$ 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。

(2) 重金属

① Pbとして 10 $\mu\text{g/g}$ 以下

本品約5g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 $\mu\text{g/ml}$)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 1.0 $\mu\text{g/g}$ 以下

本品約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。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、フレイム：空気－アセチレン）にて測定する。

（４）カドミウム

② 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228.8nm、フレイム：空気－アセチレン）にて測定する。

微生物限度

次の試験を行うとき、本品1 gにつき細菌数は①1000以下、② 300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。

一般生菌数

本品5 g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5 g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5 g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を正確に量り、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（0.45 µm）でろ過し、検液とする。別にD-キシロース（注3）、D-グルコース（注4）を乾燥し、1.0g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、0.5g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 10 μ l 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、D-グルコース、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の濃度の総計／全ピークの濃度の総計） $\times$ 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の濃度の総計） $\times$ 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℃

移動相 0.005mol/l H_2SO_4

流速 0.6ml／分

（注1）キシラナーゼ：*Trichoderma* sp.由来

（注2）標準寒天培地

ペプトン 5.0 g

酵母エキス 2.5 g

ブドウ糖 1.0 g

寒天 15.0 g

水 1,000ml

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 pH7.0～7.2。

（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（ $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ ）95.0%以上を含む。

定量法 本品を乾燥し、その約 1g を正確に量り、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）D-グルコース

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 98.0%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 ($C_{10}H_{18}O_9$) 95.0%以上を含む。

定量法 本品約0.2 gを正確に量り、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約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℃

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 $\rightarrow$ 2、 α 1 $\rightarrow$ 3、 α 1 $\rightarrow$ 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 本品を乾燥物換算したものは、イソマルトオリゴ糖が50.0%以上で、主要な成分としてイソマルトース13.0～35.0%、イソマルトトリオース7.0～20.0%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) ヒ素 As_2O_3 として $0.2\mu\text{g/g}$ 以下 (1.0g, 第1法, 装置C)
- (3) 重金属 Pb として $1\mu\text{g/g}$ 以下 (1.0g, 第1法, 鉛標準液 0.1ml)

灰分 0.03%以下 (20.0g、550℃、5時間)

微生物限度

次の試験を行うとき、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。

一般生菌数

本品 10 g にリン酸緩衝液 (pH7.0) 30 ml を加え溶解させ、試料溶液とする。

TGC カンテン培地 1.8 ml 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 μm の滅菌したメンブランフィルターをセットし、試料溶液を濾過する。滅菌精製水 30 ml で洗浄後、濾過したメンブランフィルターを培地表面に載せ、 $37\pm 1^\circ\text{C}$ で 48 ± 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 当りに換算し一般生菌数とする。

真菌数

本品 10 g にリン酸緩衝液 (pH7.0) 30 ml 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 1.8 ml 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 μm の滅菌済みメンブランフィルターをセットし、試料溶液を濾過する。滅菌精製水 30 ml で洗浄後、濾過したメンブランフィルターを培地の表面に載せ、 $25\pm 1^\circ\text{C}$ で 72 ± 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 1 g にリン酸緩衝液 (pH7.0) 9 ml を加え溶解させ、試料溶液とする。

BGLB 培地 9 ml 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 1 ml ずつ 3 本の培地に加え、 $37\pm 1^\circ\text{C}$ 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、 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 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、イソマルトース及びイソマルトトリオース（注4）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。

この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により試験を行い、標準液より得た検量線を作成する。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に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°C

移動相 水

流速 $0.35\text{ml}/\text{分}$

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°C

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)

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 本品の乾燥物換算でフラクトース99.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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。

フラクトースの量 (%)

= 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 本品の乾燥物換算でグルコース98.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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。

グルコースの量 (%)

= 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 0.35 ml / 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 本品の乾燥物換算でマルトース99.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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 本品の乾燥物換算でマルトトリオース97.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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 本品の乾燥物換算でマルトテトラオース97.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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 本品の乾燥物換算でマルトペンタオース97.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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 0.35ml/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 本品の乾燥物換算でマルトヘキサオース97.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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。

マルトヘキサオースの量 (%)

＝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 本品の乾燥物換算でイソマルトース99.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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。

イソマルトースの量 (%)

= 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

カラム充填剤 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 本品の乾燥物換算でイソマルトトリオース99.0%以上を含む。

定量法 本品を100mg精密に計り、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。

イソマルトトリオースの量 (%)

= 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

カラム充填剤 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

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。