

①粉末 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液体 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 を精密に秤量して水を加えて溶かし、さらに水を加えて正確に 100ml として検液とする。別にフラクトオリゴ糖標準品 1-kestose (GF<sub>2</sub>)、ニストース (GF<sub>3</sub>)、1F-フラクトフラノシルニストース (GF<sub>4</sub>) をそれぞれ 0.4g 精密に秤量し、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、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 : GF<sub>2</sub> 標準液検量線による検液中 GF<sub>2</sub> 量 (g)

B : GF<sub>3</sub> 標準液検量線による検液中 GF<sub>3</sub> 量 (g)

C : GF<sub>4</sub> 標準液検量線による検液中 GF<sub>4</sub> 量 (g)

D : 乾燥物換算した試料摂取量 (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/分

(注 1) β-フルクトフラノシダーゼ : 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 本品は、1-kestose 98%以上を含む。

定量法 本品約 15mg を精密に秤量して水を加えて溶かし、さらに水を加えて正確に 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

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 本品は、ニストース 98%以上を含む。

定量法 「1-ケストース」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-ケストース」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ちような液体で、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 $1.6 \pm 0.3$ 、 $1.3 \pm 0.1$ 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  $\text{As}_2\text{O}_3$ 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  $\mu\text{l}$ につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、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  $\mu\text{l}$ につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを

行い、検液のラクトスクロースのピーク面積  $S_i$  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

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

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 5  $\mu\text{m}$  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。

(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:  $\beta$ -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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{m}$  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(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50mlとし、検液とする。別にガラクトオリゴ糖標準品(注2)約2.5gを精密に量り、水を加えて正確に50mlとし、標準液とする。検液及び標準液10μl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12.5g、水23.5ml)

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

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>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)

**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2.5g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5ml加えた後、水を加えて正確に50mlとし、検液とする。別に乳糖一水和物1053mg(乳糖として1000mg)(注3)を正確に量り、水を加えて正確に25mlとする。この溶液0.5、1.0、2.0、5.0および10.0mlに、グリセリン溶液(5→100)をそれぞれ正確に2mlずつ加えた後、水で正確に20mlとし標準液とする。標準液10μl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20mg/ml)をとって検量線を作成する。

検液10μl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10μl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 $\mu$ 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、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 $\mu$ 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、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 (乳糖)	相対保持時間 (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 $\beta$ 1-3 Glc	0.84	0.56
Gal $\beta$ 1-2 Glc	0.96	0.64
Gal $\beta$ 1-4 Glc (乳糖)	1.00	0.67
Gal $\beta$ 1-6 Glc	1.16	0.77
Gal $\beta$ 1-4 Gal $\beta$ 1-3 Glc	1.27	0.84
Gal $\beta$ 1-4 Gal $\beta$ 1-4 Glc (4'-ガラクトシルラクトース)	1.50	1.00
Gal $\beta$ 1-4 Gal $\beta$ 1-4 Gal $\beta$ 1-4 Glc	2.16	1.44



(注1)  $\beta$ -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 $\mu$ 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 $\beta$ -ガラクトシダーゼ( $\beta$ -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~淡黄色の粘ちような液体で、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 $1\mu\text{g/g}$ 以下(5g、第1法、比較液 鉛標準液0.5ml)

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として $1\mu\text{g/g}$ 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 $10\mu\text{l}$ につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、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 $S_1$ 、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 $S_2$ 、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 $S_3$ 、並びに標準液のピーク面積 $S_t$ 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 $\mu$ 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)  $\beta$ -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 $\mu$ 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。