

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

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

本品10.0g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

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

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 μ 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 μ 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 液体 1.0 μ 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、フレーム：空気-アセチレン) にて測定する。

(4) ヒ素

① 粉末 As_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°C) にて測定する。

② 液体 As_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°C) 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°C、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°C、3時間)

あらかじめ磁製の蒸発皿を550°C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°C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°C、3時間)

あらかじめ磁製の蒸発皿を550°C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℃

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℃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 $1\mu\text{g/g}$ 以下 (20.0g、第1法、鉛標準液 2.0ml)

(3) ヒ素 As_2O_3 として $1\mu\text{g/g}$ 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、55 $^{\circ}\text{C}$ 、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30以下、真菌数5以下である。また、大腸菌群は認めない。

生菌数

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 $^{\circ}\text{C}$ 、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（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 $^{\circ}\text{C}$ 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当りに換算し一般生菌数とする。

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 $^{\circ}\text{C}$ 、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（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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 、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