

(別紙1)

○農林水産省告示第百九号

飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和二十八年法律第三十五号）第二条第三項の規定に基づき、昭和五十一年七月二十四日農林省告示第七百五十号（飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律第二条第三項に基づき飼料添加物を定める件）の一部を次のように改正する。

令和四年一月二十一日

農林水産大臣 金子原二郎

次の表により、改正後欄に掲げる規定の傍線を付した部分を加える。

改正後

一・二 (略)

三 亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、アミラーゼ、アルカリ性プロテアーゼ、アンプロリウム・エトパベート、アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン、エンテロコッカス フェカリス、エンテロコッカス フェシウム、エンラマイシン、ギ酸カルシウム、キシラナーゼ、キシラナーゼ・ペクチナーゼ複合酵素、クエン酸モラントール、αーグルカナーゼ、グルコン酸ナトリウム、クロストリジウム ブチリカム、サツカリンナトリウム、サリノマイシンナトリウム、酸性プロテアーゼ、セルラーゼ、セルラーゼ・プロテアーゼ・ペクチナーゼ複合酵素、センデユラマイシンナトリウム、着色料(エステル類、エーテル類、ケトン類、脂肪酸類、脂肪族高級アルコール類、脂肪族高級アルデヒド類、脂肪族高級炭化水素類、テルペン系炭化水素類、フェノールエーテル類、フェノール類、芳香族アルコール類、芳香族アルデヒド類及びラクトン類のうち、一種又は二種以上を有効成分として含有し、着香の目的で使用されるものをいう。)、中性プロテアーゼ、ナイカルバジン、ナラシン、ニギ酸カリウム、ノシヘプタイド、バチルス コアグランス、バチルス サブチルス、バチルス セレウス、バチルス バディウス、ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム、ビコザマイシン、ビフィドバクテリウム サイモフィラム、ビフィドバクテリウム シュードロンガム、フィターゼ、フマル酸、フラボフオスフオリポール、ムラミダーゼ、モネンシンナトリウム、ラクターゼ、ラクトバチルス アシドフィルス、ラクトバチルス サリバリウス、ラサロシドナトリウム及びリパーゼ並びにこれらのいずれかを有効成分として含有する製剤

四 (略)

改正前

一・二 (略)

三 亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、アミラーゼ、アルカリ性プロテアーゼ、アンプロリウム・エトパベート、アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン、エンテロコッカス フェカリス、エンテロコッカス フェシウム、エンラマイシン、ギ酸カルシウム、キシラナーゼ、キシラナーゼ・ペクチナーゼ複合酵素、クエン酸モラントール、αーグルカナーゼ、グルコン酸ナトリウム、クロストリジウム ブチリカム、サツカリンナトリウム、サリノマイシンナトリウム、酸性プロテアーゼ、セルラーゼ、セルラーゼ・プロテアーゼ・ペクチナーゼ複合酵素、センデユラマイシンナトリウム、着色料(エステル類、エーテル類、ケトン類、脂肪酸類、脂肪族高級アルコール類、脂肪族高級アルデヒド類、脂肪族高級炭化水素類、テルペン系炭化水素類、フェノールエーテル類、フェノール類、芳香族アルコール類、芳香族アルデヒド類及びラクトン類のうち、一種又は二種以上を有効成分として含有し、着香の目的で使用されるものをいう。)、中性プロテアーゼ、ナイカルバジン、ナラシン、ニギ酸カリウム、ノシヘプタイド、バチルス コアグランス、バチルス サブチルス、バチルス セレウス、バチルス バディウス、ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム、ビコザマイシン、ビフィドバクテリウム サイモフィラム、ビフィドバクテリウム シュードロンガム、フィターゼ、フマル酸、フラボフオスフオリポール、モネンシンナトリウム、ラクターゼ、ラクトバチルス アシドフィルス、ラクトバチルス サリバリウス、ラサロシドナトリウム及びリパーゼ並びにこれらのいずれかを有効成分として含有する製剤

四 (略)

附 則

この告示は、公布の日から施行する。

○農林水産省令第四号

飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和二十八年法律第三十五号）第三条第一項の規定に基づき、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令を次のように定める。

令和四年一月二十一日

農林水産大臣 金子原二郎

飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令

飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和五十一年農林省令第三十五号）の一部を次のように改正する。

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
<p>別表第1（第1条関係）</p> <p>1 飼料一般の成分規格並びに製造、使用及び保存の方法及び表示の基準</p> <p>(1) (略)</p> <p>(2) 飼料一般の製造の方法の基準</p> <p>ア～ナ (略)</p> <p><u>ニ ムラミダーゼは、ブロイラーを対象とする飼料（飼料を製造するための原料又は材料を含む。）以外の飼料に用いてはならない。</u></p> <p>(3)・(4) (略)</p> <p>(5) 飼料一般の表示の基準</p> <p>ア (略)</p> <p>イ 飼料（飼料添加物を含むものに限る。）には、次に掲げる事項を表示しなければならない。</p> <p>(7)～(イ) (略)</p> <p>(㊦) (1)のウに掲げる表、(1)のキの(7)、ケの(7)及びコの(7)、(2)のエからカまで、(2)のキに掲げる表並びに(2)のケ及びサから<u>ニ</u>までを対象とする家畜等が定められている飼料にあつては、対象家畜等</p> <p>(㊧)～(㊨) (略)</p> <p>(注)</p> <p>1 飼料添加物の名称の表示については、法第2条第3項の規定に基づき農林水産大臣が飼料添加物を指定する場合に、当該飼料添加物の名称</p>	<p>別表第1（第1条関係）</p> <p>1 飼料一般の成分規格並びに製造、使用及び保存の方法及び表示の基準</p> <p>(1) (略)</p> <p>(2) 飼料一般の製造の方法の基準</p> <p>ア～ナ (略)</p> <p>(新設)</p> <p>(3)・(4) (略)</p> <p>(5) 飼料一般の表示の基準</p> <p>ア (略)</p> <p>イ 飼料（飼料添加物を含むものに限る。）には、次に掲げる事項を表示しなければならない。</p> <p>(7)～(イ) (略)</p> <p>(㊦) (1)のウに掲げる表、(1)のキの(7)、ケの(7)及びコの(7)、(2)のエからカまで、(2)のキに掲げる表並びに(2)のケ及びサから<u>ナ</u>までを対象とする家畜等が定められている飼料にあつては、対象家畜等</p> <p>(㊧)～(㊨) (略)</p> <p>(注)</p> <p>1 飼料添加物の名称の表示については、法第2条第3項の規定に基づき農林水産大臣が飼料添加物を指定する場合に、当該飼料添加物の名称</p>

として用いるものによるものとする。ただし、次の表の左欄に掲げる飼料添加物については、同表の相当右欄に掲げる名称によることができる。

飼料添加物	名 称
(略)	(略)
メナジオン亜硫酸水素ナトリウム	(略)
<u>ムラミダーゼ</u>	<u>ペプチドグリカン分解酵素</u>
(略)	(略)

2・3 (略)

ウ (略)

2～6 (略)

別表第2 (第2条関係)

1～5 (略)

6 飼料添加物一般の試験法

(略)

(1)～(13) (略)

(14) 酵素力試験法

①～⑩ (略)

⑪ ペプチドグリカン分解力試験法

ペプチドグリカン分解力試験法は、蛍光標識ペプチドグリカンにムラミダーゼが作用するときに、加水分解に伴って増加する蛍光強度により、飼料添加物中の

として用いるものによるものとする。ただし、次の表の左欄に掲げる飼料添加物については、同表の相当右欄に掲げる名称によることができる。

飼料添加物	名 称
(略)	(略)
メナジオン亜硫酸水素ナトリウム	(略)
(新設)	(新設)
(略)	(略)

2・3 (略)

ウ (略)

2～6 (略)

別表第2 (第2条関係)

1～5 (略)

6 飼料添加物一般の試験法

(略)

(1)～(13) (略)

(14) 酵素力試験法

①～⑩ (略)

(新設)

ムラミダーゼの量を測定する方法であり、その単位は、ペプチドグリカン分解力単位で示す。

1 ペプチドグリカン分解力単位は、ムラミダーゼがフルオレセイン標識ペプチドグリカンにpH6.0、30℃で作用するとき、1分間に0.06nmolのフルオレセインイソチオシアナート（アイソマーI）に相当する蛍光強度を増加させる酵素量に相当する。

希釈液

リン酸一水素ナトリウム・二水和物22.5g（22.45～22.54g）及びクエン酸7.74g（7.735～7.744g）を量り、1Lの全量フラスコに入れ、800mLの水を加え、溶解するまで攪拌した後、オクチルフェノールエトキシレート試液1mLを加え、0.05mol/L水酸化ナトリウム試液又は0.1mol/L塩酸試液を用いてpHを5.9～6.1に調整する。さらに水を標線まで加える。

基質溶液の調製

0.5mg/mLフルオレセイン標識ペプチドグリカン試液100 μ Lに1,900 μ Lの希釈液を加え混合する。用時調製する。

操作法

試験を行うために必要な量の試料を有効数字3桁まで量り、その数値を記録し、1mL当たりの濃度が0.01～0.03ペプチドグリカン分解力単位となるように希釈液を加え、45～90分間かき混ぜて得られた液を試料溶液とする。

標準液 A～G 及び試料溶液を 50 μL ずつマイクロプレート（黒色）に分注し、使用しない隣接ウェルには希釈液を 100 μL 分注する。標準液 A～G 及び試料溶液の入ったウェルに基質溶液を速やかに 50 μL ずつ分注し、直ちに励起波長 485nm、蛍光波長 528nm 及び温度 30℃ に設定した蛍光マイクロプレートリーダーを用いて、測定間隔 1 分で 30 分間測定する。

$$1 \text{ g 中のペプチドグリカン分解力単位} = \frac{F \times V \times Z}{W}$$

F : 検量線から求めたペプチドグリカン分解力単位

V : 調製した試料溶液量

Z : 試料溶液の希釈倍率

W : 試料採取量 (g)

検量線の作成

70,000 ペプチドグリカン分解力単位に相当する ムラミダーゼを量り、適量の希釈液を加え、45～90 分間よくかき混ぜて溶かし、100mL の全量フラスコに入れ、さらに希釈液を標線まで加えて 100mL とする。この液 50 μL を 100mL の全量フラスコに入れ、希釈液を標線まで加えて 100mL とし、標準原液とする。この液を下表に従い、希釈液にて希釈し、標準液 A～G とする。

標準液	希釈倍率	標準原液量 (μL)	希釈液量 (μL)	ペプチドグリカン分解力単位/mL
A	40倍	30	1,170	0.0088

<u>B</u>	<u>30倍</u>	<u>40</u>	<u>1,160</u>	<u>0.012</u>
<u>C</u>	<u>24倍</u>	<u>50</u>	<u>1,150</u>	<u>0.015</u>
<u>D</u>	<u>20倍</u>	<u>60</u>	<u>1,140</u>	<u>0.018</u>
<u>E</u>	<u>15倍</u>	<u>80</u>	<u>1,120</u>	<u>0.023</u>
<u>F</u>	<u>12倍</u>	<u>100</u>	<u>1,100</u>	<u>0.029</u>
<u>G</u>	<u>10倍</u>	<u>120</u>	<u>1,080</u>	<u>0.035</u>

標準液 A～G の 0～30 分の測定値から 1 分間当たり
のそれぞれの蛍光強度増加量（傾き）を算出する。算
出した傾きを縦軸に、各標準液の 1 mL 中のペプチドグ
リカン分解力単位を横軸にとり、検量線を作成する。

⑫ （略）

(15)～(38) （略）

7 飼料添加物一般の試験法並びに各飼料添加物の成分規格及び製造方法等の基準に用いる標準品、試薬・試液、容量分析用標準液、標準液、色の比較液、計量器・用器、ろ紙、滅菌法及びベルトラン糖類定量表の規定

(1) （略）

(2) 試薬・試液

(略)

亜鉛（標準試薬）～オクタン酸 （略）

オクチルフェノールエトキシレート $C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$

オクチルフェノールエトキシレート試液 オクチルフェ

ノールエトキシレート 25g (24.5～25.4g) に水を

加えて溶かし 250mL とする。

オリブ油～炭酸水素ナトリウム （略）

⑪ （略）

(15)～(38) （略）

7 飼料添加物一般の試験法並びに各飼料添加物の成分規格及び製造方法等の基準に用いる標準品、試薬・試液、容量分析用標準液、標準液、色の比較液、計量器・用器、ろ紙、滅菌法及びベルトラン糖類定量表の規定

(1) （略）

(2) 試薬・試液

(略)

亜鉛（標準試薬）～オクタン酸 （略）

（新設）

（新設）

オリブ油～炭酸水素ナトリウム （略）

炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH9.3) 炭酸水素ナトリウム21.0g (20.95~21.04g) に水を加えて溶かし、1 mol/L塩酸試液でpH9.3に調整した後、更に水を加えて500mLとする。

炭酸水素ナトリウム・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH9.0) ~フルオレセイン (略)

フルオレセインイソチオシアナート (アイソマー I) $C_{21}H_{11}NO_5S$ 黄橙色の粉末である。

フルオレセイン・エタノール試液 (略)

フルオレセイン標識ペプチドグリカン試液、0.5mg/mL *Micrococcus lysodeikticus*由来のペプチドグリカンを以下の操作により蛍光物質であるフルオレセインイソチオシアナート (アイソマー I) で標識したものの。

ペプチドグリカン100mg (99.5~100.4mg) を量り、炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH9.3) 35mLを加え、よく振り混ぜて懸濁液とする。この懸濁液をフルオレセインイソチオシアナート (アイソマー I) 800mg (799.5~800.4mg) に加え、更に懸濁液の入っていた容器を炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH9.3) 10mLで洗浄した後、フルオレセインイソチオシアナート (アイソマー I) に加える。毎分700回転、37°Cで4時間振り混ぜた後、1,500×gで20分間遠心分離し、上澄液を捨てる。次に、この残留物に炭酸水素ナトリウム緩衝液 (pH9.3) 35mLを加えてよく振り混ぜた後

(新設)

炭酸水素ナトリウム・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH9.0) ~フルオレセイン (略)

(新設)

フルオレセイン・エタノール試液 (略)

(新設)

、1,500×gで20分間遠心分離し、上澄液を捨てる。
この操作を更に1回繰り返す。次に、この残留物に
水35mLを加えてよく振り混ぜた後、1,500×gで20分
間遠心分離し、上澄液を捨てる。この操作を更に1
回繰り返す。次に、この残留物にアセトン35mLを加
えてよく振り混ぜた後、1,500×gで20分間遠心分離
し、上澄液を捨てる。この操作を更に1回繰り返す
。さらに、この残留物にエタノール35mLを加えてよ
く振り混ぜた後、1,500×gで20分間遠心分離し、上
澄液を捨てる。この操作を更に1回繰り返した後、
凍結乾燥し、-20℃で保存する。

ブルーテトラゾリウム～ペクチン (略)

ペプチドグリカン 細菌などの細胞壁に存在する多糖
類である。ただし、*Micrococcus lysodeikticus*由来
のものを用いる。

ペプトン、カゼイン製～リン酸 (略)

リン酸一水素ナトリウム・二水和物 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

リン酸塩緩衝液、pH2.0～レゾルシン (略)

(3)～(9) (略)

8 各飼料添加物の成分規格及び製造の方法等の基準

(1)～(139) (略)

(140) ムラミダーゼ

ア 製造用原体

(7) 成分規格

酵素力単位 本品は、酵素力試験を行うとき、1g

ブルーテトラゾリウム～ペクチン (略)

(新設)

ペプトン、カゼイン製～リン酸 (略)

(新設)

リン酸塩緩衝液、pH2.0～レゾルシン (略)

(3)～(9) (略)

8 各飼料添加物の成分規格及び製造の方法等の基準

(1)～(139) (略)

(新設)

中に30,000ペプチドグリカン分解力単位以上を含む。

物理的・化学的性質

- ① 本品は、淡褐色～濃褐色の液体である。
- ② 本品の水溶液又は水懸濁液（1→100）のpHは、3.0～5.0である。
- ③ 本品は、pH4.0～7.5において最大の酵素活性を有する。

純度試験

- ① 鉛 本品0.5g（0.45～0.54g）を量り、鉛試験法（原子吸光光度法第1法）により鉛の試験を行うとき、その量は、20 μ g/g以下でなければならない。
- ② ヒ素 本品1.0g（0.95～1.04g）を量り、ヒ素試験法第3法により試料溶液を調製し、装置Aを用いる方法によりヒ素の試験を行うとき、吸収液の色は、標準色より濃くてはならない（2 μ g/g以下）。
- ③ 抗菌活性 本品1g（0.5～1.4g）を量り、Micrococcus luteus ATCC 9341及びEscherichia coli ATCC 27166について抗菌活性試験法により試験を行うとき、抗菌活性を示してはならない。

強熱残分 5.0%以下（1g）

酵素力試験 ペプチドグリカン分解力試験法によ

り試験を行う。

(4) 製造の方法の基準

Trichoderma reeseiに属する菌株を宿主とした
ムラミダーゼ生産組換え体を培養し、培養を終了
した後、培養物をろ過し、又は水で抽出した後ろ
過して菌体を除去し、さらに、ろ液を濃縮して製
造すること。

(5) 保存の方法の基準

遮光した密閉容器に保存すること。

(6) 表示の基準

本品の直接の容器又は直接の被包に、最大の酵
素活性を示すpH値（小数点以下第1位まで）を記
載すること。

イ 製剤（その1）

(7) 成分規格

本品は、ムラミダーゼ製造用原体に、必要に応
じて硫酸ナトリウムを加え、さらに、賦形物質を
混和した小片、粉末又は粒子である。

酵素力単位 本品は、酵素力試験を行うとき、表
示ペプチドグリカン分解力単位の85～170%を含
む。

酵素力試験 ペプチドグリカン分解力試験法によ
り試験を行う。

(8) 保存の方法の基準

ムラミダーゼ製造用原体の保存の方法の基準を

準用する。

(ウ) 表示の基準

ムラミダーゼ製造用原体の表示の基準を準用する。

ウ 製剤（その2）

(イ) 成分規格

本品は、ムラミダーゼ製造用原体にソルビトールを混和した水溶性液状物である。

酵素力単位 本品は、酵素力試験を行うとき、表示ペプチドグリカン分解力単位の85～170%を含む。

酵素力試験 ペプチドグリカン分解力試験法により試験を行う。

(ロ) 保存の方法の基準

ムラミダーゼ製造用原体の保存の方法の基準を準用する。

(ハ) 表示の基準

ムラミダーゼ製造用原体の表示の基準を準用する。

(141)～(160) (略)

(140)～(159) (略)

附 則

この省令は、公布の日から施行する。