

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新旧対照条文

○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）

（傍線の部分は改正部分）

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) 飼料一般の成分規格</p> <p>ア～チ （略）</p> <p><u>ツ 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの飼料（飼料を製造するための原料又は材料を除く。以下ツにおいて同じ。）中の含有量は、豚を対象とする飼料にあつては飼料1トン当たり50mg以下、鶏を対象とする飼料にあつては飼料1トン当たり80mg以下でなければならない。</u></p> <p>(2) 飼料一般の製造の方法の基準</p> <p>ア～ス （略）</p> <p><u>セ 25-ヒドロキシコレカルシフェロールは、豚及び鶏を対象とする飼料（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)～(5) （略）</p> <p>別表第2（第2条関係）</p> <p>1～6 （略）</p> <p>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</p> <p>(1) （略）</p> <p>(2) 試薬・試液</p> <p>（略）</p> <p>アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液 （略）</p> <p><u>アルミニウム Al [特級]</u></p> <p>安息香酸（標準試薬） （略）</p> <p>（略）</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) 飼料一般の成分規格</p> <p>ア～チ （略）</p> <p>(2) 飼料一般の製造の方法の基準</p> <p>ア～ス （略）</p> <p>(3)～(5) （略）</p> <p>別表第2（第2条関係）</p> <p>1～6 （略）</p> <p>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</p> <p>(1) （略）</p> <p>(2) 試薬・試液</p> <p>（略）</p> <p>アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液 （略）</p> <p>安息香酸（標準試薬） （略）</p> <p>（略）</p>

ヒ素モリブデン酸試液 (略)

25-ヒドロキシコレカルシフェロール $C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$ 97.0%以上を含む。

ヒドロキシセンドュラマイシンナトリウム (略)

(略)

(3) (略)

(4) 標準液

(略)

亜鉛標準液 (略)

アルミニウム標準液 アルミニウム1.0 g (0.95~1.04 g) を量り、1,000mLの全量フラスコに入れ、塩酸 (1→2) 60mLを加え、加熱して溶かす。放冷後、水を標線まで加えて1,000mLとする。

アンモニウム標準液 (略)

(略)

(5)~(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)~(72) (略)

(73) 25-ヒドロキシコレカルシフェロール

ア 製造用原体

(7) 成分規格

含量 本品は、定量するとき、25-ヒドロキシコレカルシフェロール ($C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$) 94.0%以上を含む。

物理的・化学的性質

① 本品は、白色の結晶である。

② 本品は、空気又は光により変化する。

確認試験

① 定量法により調製した試料溶液及び標準液20 μ Lにつき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、試料溶液及び標準液から得た25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピークに係る保持時間は一致する。

② 本品及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品につき、それぞれ赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により測定し、スペクトルを比較するとき、両者の吸収は、同一波数のところに認められ、これらの吸収の相対強度は等しい。

ヒ素モリブデン酸試液 (略)

ヒドロキシセンドュラマイシンナトリウム (略)

(略)

(3) (略)

(4) 標準液

(略)

亜鉛標準液 (略)

アンモニウム標準液 (略)

(略)

(5)~(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)~(72) (略)

純度試験

- ① エリスロシン 本品約1.0gを0.01gの桁まで量り、その数値を記録し、メタノールを加えて溶かし、10mLの全量フラスコに入れ、更にメタノールを標線まで加えて10mLとし、試料溶液とする。この溶液につき、メタノールを対照として波長530nmにおける吸光度 A_i を測定する。別に、メタノール10mLについて、試料溶液と同様に操作し、吸光度 A_0 を測定する。次式によりイオン化したエリスロシンの含量を求めるとき、その量は、5 μ g/g以下でなければならない。

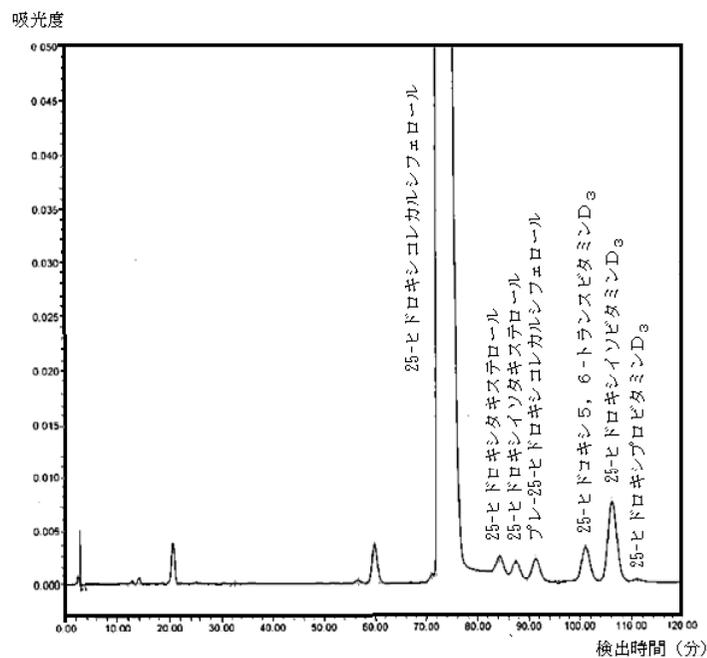
$$\text{エリスロシンの含量 } (\mu\text{g/g}) = \frac{(A_i - A_0) / \epsilon \times 833.9 \times 10^6}{W_T}$$

W_T : 本品の採取量 (g)

ϵ : エリスロシンの530nmにおけるモル吸光係数110,000 (L/mol·cm)

- ② 類縁物質 定量法により調製した標準原液5mLを全量ピペットを用いて量り、100mLの全量フラスコに入れ、メタノールを標線まで加えて100mLとし、純度試験用標準原液とする。純度試験用標準原液をメンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過し、純度試験用標準液とする。定量法により調製した試料原液及び純度試験用標準液20 μ Lにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。得られたクロマトグラムから、試料原液のクロマトグラムに現れる各ステロールのピークを本品の参照クロマトグラムにより同定し、そのピーク面積 A_T を求める。この値と純度試験用標準液のクロマトグラムから求めた25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積 A_S から、試料中の25-ヒドロキシコレカルシフェロールの類縁物質(25-ヒドロキシコレカルシフェロールの製造に由来する25-ヒドロキシコレカルシフェロール以外の各ステロールをいう。以下②において同じ。)の含量を、次式により計算するとき、それぞれ1%以下でなければならない。

本品の参照クロマトグラム



$$\text{個々の類縁物質の含量 (\%)} = p \times \frac{W_s}{W_T} \times \frac{A_T}{A_s} \times F \times 2$$

p : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の純度

W_T : 本品の採取量 (mg)

W_s : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の採取量 (mg)

A_T : 試料溶液の各ステロールのピーク面積

A_s : 標準液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

F : 次表に規定する類縁物質ごとの吸光係数

表

類縁物質名	吸光係数

<u>25-ヒドロキシイソタキステロール</u>	<u>0.8300</u>
<u>25-ヒドロキシイソビタミンD₃</u>	<u>0.8300</u>
<u>25-ヒドロキシコレカルシフェロール</u>	<u>1.0000</u>
<u>25-ヒドロキシタキステロール</u>	<u>0.9109</u>
<u>25-ヒドロキシ5, 6-トランスビタミンD₃</u>	<u>0.8986</u>
<u>25-ヒドロキシプロビタミンD₃</u>	<u>1.7677</u>
<u>プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロール</u>	<u>2.3863</u>
<u>25-ヒドロキシコレカルシフェロールと同様の吸収スペクトルを示す未知のステロール</u>	<u>1.000</u>

操作条件

検出器：フォトダイオードアレイ検出器（測定波長：230～330nm（定量は、波長270nmで測定））

カラム：内径4.6mm、長さ250mmのステンレス管に粒径5 μm以下の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：28℃付近の一定温度

移動相：メタノール・アセトニトリル・水混液(55：22：23)

流量：毎分約1.0mL

測定時間：120分

カラムの選定：純度試験用標準原液10mLを50～55℃で2時間加温し、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールを生成させ、メンブランフィルター(0.45 μm)でろ過する。このろ液20 μLにつき、上記の条件で操作するとき、25-ヒドロキシコレカルシフェロール、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールの順に溶出し、その分離度が4.0以上のものを用いる。

③ 鉛 本品0.5g (0.45～0.54g) を量り、鉛試験法（原子吸光度法第1法）により鉛の試験を行うとき、その量は、20 μg/g以下でなければならない。

④ アルミニウム 本品0.2g (0.15～0.24g) を量り、白金製又は石英製のるつぼに入れ、硫酸少量を加えて潤し、徐々に加熱

してできる限り低温でほとんど灰化した後、放冷し、更に硫酸 1 mLを加え、徐々に加熱して450~550℃で灰化するまで強熱する。残留物に少量の硝酸（1→150）を加えて溶かし、50mLの全量フラスコに入れ、水を標線まで加えて50mLとし、試料溶液とする。別に、アルミニウム標準液 1 mLを全量ピペットを用いて量り、100mLの全量フラスコに入れ、水を標線まで加えて100 mLとする。この溶液 1 mLを全量ピペットを用いて量り、10mLの全量フラスコに入れ、水を標線まで加えて10mLとする。更にこの溶液 4 mLを全量ピペットを用いて量り、50mLの全量フラスコに入れ、少量の硝酸（1→150）を加えた後、水を標線まで加えて50mLとし、標準液とする。試料溶液及び標準液につき、次の条件で原子吸光光度法（フレイムレス方式（電気加熱方式））により測定するとき、試料溶液の吸光度は、標準液の吸光度以下でなければならない（ $20 \mu\text{g/g}$ 以下）。

光源ランプ：アルミニウム中空陰極ランプ

分析線波長：309.3nm

乾燥温度：140℃

灰化温度：900℃

原子化温度：2,600℃

水分 5.0%以下（直接滴定）

定量法 本品約0.20gを0.001gの桁まで量り、その数値を記録し、メタノールを加えて溶かし、200mLの全量フラスコに入れ、更にメタノールを標線まで加えて200mLとし、試料原液とする。この試料原液 5 mLを全量ピペットを用いて量り、50mLの全量フラスコに入れ、メタノールを標線まで加えて50mLとし、メンブランフィルター（ $0.45 \mu\text{m}$ ）を用いてろ過し、ろ液を試料溶液とする。別に、25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品約0.050gを0.0001gの桁まで量り、その数値を記録し、メタノールを加えて溶かし、50mLの全量フラスコに入れ、更にメタノールを標線まで加えて50 mLとする。この溶液 5 mLを全量ピペットを用いて量り、50mLの全量フラスコに入れ、メタノールを標線まで加えて50mLとし、標準原液とする。この標準原液をメンブランフィルター（ $0.45 \mu\text{m}$ ）を用いてろ過し、標準液とする。試料溶液及び標準液 $20 \mu\text{L}$ につ

き、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。得られたクロマトグラムから25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積を求める。

25-ヒドロキシコレカルシフェロール (C₂₇H₄₄O₂・H₂O) の含量 (%)

$$= \frac{A_T}{A_S} \times \frac{W_S}{W_T} \times p \times 400$$

p : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の純度

W_T : 本品の採取量 (mg)

W_S : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の採取量 (mg)

A_T : 試料溶液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

A_S : 標準液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

操作条件

検出器 : 紫外吸光光度計 (測定波長 : 270nm)

カラム : 内径4.6mm、長さ150mmのステンレス管に粒径5 μmの液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度 : 28℃付近の一定温度

移動相 : メタノール・アセトニトリル・水混液 (55 : 22 : 23)

流量 : 毎分約1.0mL

(i) 製造の方法の基準

Saccharomyces cerevisiaeに属する菌株を宿主とした5, 7, 24-コレスタトリエノール生産組換え体を好氣的に培養し、培養を終了した後、培養液を加熱処理し、5, 7, 24-コレスタトリエノールを分離し、紫外線照射の化学的処理により製造すること。

(ii) 保存の方法の基準

遮光した密封容器に入れ、空気を窒素で置換し、冷所に保存すること。

イ 製剤

(7) 成分規格

本品は、25-ヒドロキシコレカルシフェロール製造用原体に、賦

形物質を混和した粉末である。

含量 本品は、定量するとき、表示量の90～120%に相当する25-ヒドロキシコレカルシフェロール ($C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$) を含む。

確認試験

- ① 定量法により調製した試料溶液及び標準液100 μ Lにつき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、試料溶液及び標準液から得た25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピークに係る保持時間は一致する。
- ② 定量法により調製した試料原液及び標準原液10 μ Lずつを蛍光剤入り薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に、n-ヘキサン・酢酸エチル混液(1:1)を展開溶媒として、約12cm展開した後、薄層板を風乾し、紫外線(主波長254nm)を照射するとき、試料原液及び標準原液から得た25-ヒドロキシコレカルシフェロールのスポットのRf値は等しい。

乾燥減量 8.0%以下(1g, 105°C, 4時間)

定量法 本品約0.35gを0.001gの桁まで量り、その数値を記録し、100mLの全量フラスコに入れ、ジメチルスルホキシド15mLを加え、粉末が見えなくなるまで超音波処理する。液が半透明になったら、酢酸エチルを標線まで加えて100mLとし、5分間静置し、試料原液とする。この試料原液の上澄液3mLを全量ピペットを用いて量り、100mLの全量フラスコに入れ、イソプロパノール・酢酸エチル・イソオクタン混液(1:30:69)を標線まで加えて100mLとし、メンブランフィルター(0.45 μ m)を用いてろ過し、試料溶液とする。別に、25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品約0.020gを0.0001gの桁まで量り、その数値を記録し、200mLの全量フラスコに入れ、メタノール15mLを加え、20分間振り混ぜて溶かし、酢酸エチルを標線まで加えて200mLとし、標準原液とする。この標準原液3mLを全量ピペットを用いて量り、200mLの全量フラスコに入れ、イソプロパノール・酢酸エチル・イソオクタン混液(1:30:69)を標線まで加えて200mLとし、メンブランフィルター(0.45 μ m)を用いてろ過し、ろ液を標準液とする。また、別に、標準液10mLを40°Cで一晩又は室温で3～4日間放置し、プレ-25-

ヒドロキシコレカルシフェロールを生成させ、メンブランフィルター (0.45 μm) を用いてろ過し、ろ液をプレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールの保持時間の確認及びカラムの選定のための分離溶液とする。試料溶液、標準液及び分離溶液100 μLにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。なお、試料溶液中の25-ヒドロキシコレカルシフェロール及びプレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールの確認は、標準液及び分離溶液の保持時間が一致すること又は標準液及び分離溶液を添加してピークの幅が広がらないことにより行う。

25-ヒドロキシコレカルシフェロール (C₂₇H₄₄O₂ · H₂O) の含量 (%)

$$= \frac{A_{T1} + A_{T2} \times 2.21}{A_s} \times \frac{W_s}{W_T} \times 25$$

W_T : 本品の採取量 (mg)

W_s : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール標準品の採取量 (mg)

A_{T1} : 試料溶液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

A_{T2} : 試料溶液のプレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

A_s : 標準液の25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

操作条件

検出器 : 紫外吸光光度計 (測定波長 : 260nm)

カラム : 内径4.6mm、長さ150mmのステンレス管に粒径5 μmの液体クロマトグラフ用シリカゲルを充填する。

カラム温度 : 室温

移動相 : イソプロパノール・酢酸エチル・イソオクタン混液 (1 : 10 : 89)

流量 : 毎分1.5mL

カラムの選定 : 分離溶液100 μLにつき、上記の条件で操作するとき、25-ヒドロキシコレカルシフェロール、プレ-

25-ヒドロキシコレカルシフェロールの順に溶出し、その分離度が1.5以上のものを用いる。

(i) 保存の方法の基準

遮光した気密容器に保存すること。

(74)~(160) (略)

(73)~(159) (略)