

キシラナーゼの基準及び規格の設定

飼料添加物については、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 2 条第 3 項並びに第 3 条第 1 項及び第 2 項の規定に基づき、農林水産大臣が農業資材審議会の意見を聴いて指定し、その基準又は規格を設定している。

令和 5 年 2 月 6 日付け 4 消安第 5743 号をもって諮問されたキシラナーゼの基準及び規格の改正について、飼料安全部会の各小委員会において効果安全性及び規格について検討した。その概要は次のとおりである。

1. 飼料の製造の方法の基準を改正する飼料添加物

飼料添加物名：キシラナーゼ

用 途：飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進

2. 経過

令和 5 年 2 月 6 日 諮問

令和 5 年 2 月 6 日 飼料添加物効果安全性小委員会

令和 5 年 7 月 21 日 飼料添加物規格小委員会

3. 飼料安全部会の審議結果

効果安全性を確認した（資料 P. 2～35 のとおり）。

基準及び規格を作成した（資料 P. 36～39 のとおり）。

飼料添加物の効果安全性について（案）

Trichoderma reesei RF5427株を利用して
生産されたキシラナーゼ

令和5年10月25日

農林水産省 消費・安全局 畜水産安全管理課

目 次

1	名称等	2
2	起源又は発見の経緯、外国での飼料添加物としての許可状況及び使用状況等	2
3	効果に関する事項	3
3-1	効果を裏付ける基礎的試験 (<i>in vitro</i> 試験)	3
3-1-1	酵素の最大活性を示す pH	3
3-1-2	ペレット加工温度が酵素活性に及ぼす影響	3
3-2	効果を裏付ける基礎的試験 (<i>in vivo</i> 試験)	4
3-2-1	鶏	4
3-2-2	鶏	6
3-2-3	鶏	8
3-2-4	豚	10
3-2-5	豚	12
3-3	消化率の向上を確認する試験	15
3-3-1	鶏	15
3-3-2	豚	17
3-4	効果を裏付ける野外応用による試験	18
3-4-1	鶏	18
3-4-2	鶏	20
3-4-3	豚	21
4	安全性に関する事項	23
4-1	毒性試験	23
4-1-1	一般毒性試験	23
4-1-1-1	反復投与毒性試験 (短期)	23
4-1-2	特殊毒性試験	25
4-1-2-1	変異原性試験	25
4-2	対象家畜等を用いた飼養試験	26
4-2-1	鶏	26
4-2-2	鶏	27
4-2-3	豚	28
5	審議結果	31
6	参照 (参考文献及び参考資料)	32

キシラナーゼに関する効果安全性について

1 名称等

一般名：キシラナーゼ (Xylanase)

化学名：Endo-1,4- β -Xylanase

EC 番号：3.2.1.8

CAS 番号：9025-57-4

用途：飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進

対象家畜及び推奨添加量：

鶏用飼料	8000～24000 BXU/kg 飼料
うずら用飼料	8000～24000 BXU/kg 飼料
豚用飼料	24000 BXU/kg 飼料

※ 1 BXU は、50℃、pH5.3 で樺キシランから 1 秒間に 1 nmol のキシロース（還元糖）を遊離させるエンドー1,4-キシラナーゼの量に相当する。

1 BXU は、およそ 0.0299 キシラン糖化力単位に相当する。

2 起源又は発見の経緯、外国での飼料添加物としての許可状況及び使用状況等

キシラナーゼは、ヘミセルロースの一種であるキシランの主鎖をランダムに加水分解する酵素である。キシランは、飼料原料として多く使用する大豆、とうもろこし、小麦等に含有する非でんぷん質多糖類（NSP）の一つであり、小麦類では特に多く含有されている。NSP により腸管内粘度が高くなり、エネルギー効率が悪くなることが知られているが、キシラナーゼを飼料に添加することにより NSP の消化が促進され、エネルギー効率を改善することができる。【参照 1、2、3、4】

国内においては、平成 10 年に *Trichoderma longibrachiatum* のキシラナーゼ生産菌由来のキシラナーゼが飼料添加物として指定されている。

今回指定を要望されたキシラナーゼは、*Trichoderma reesei* RF5427 株を宿主としたキシラナーゼを産生する組換え体 *Trichoderma reesei* を培養して得られる組換え体由来のキシラナーゼであり、ペレット加工時等の製造工程中の加熱に対する耐熱性の高さが期待される。

本剤は、飼料添加物として EU 等の諸外国において使用が認められている。【参照 5、6】

3 効果に関する事項

3-1 効果を裏付ける基礎的試験 (*in vitro* 試験)

3-1-1 酵素の最大活性を示す pH

今回指定を要望されたキシラナーゼ（以下、AM24 キシラナーゼという。）の 40 °C における活性を評価した。

本キシラナーゼは、pH6.0～6.5 の範囲で最大の活性を示した（図 1 参照）。[参照 7]

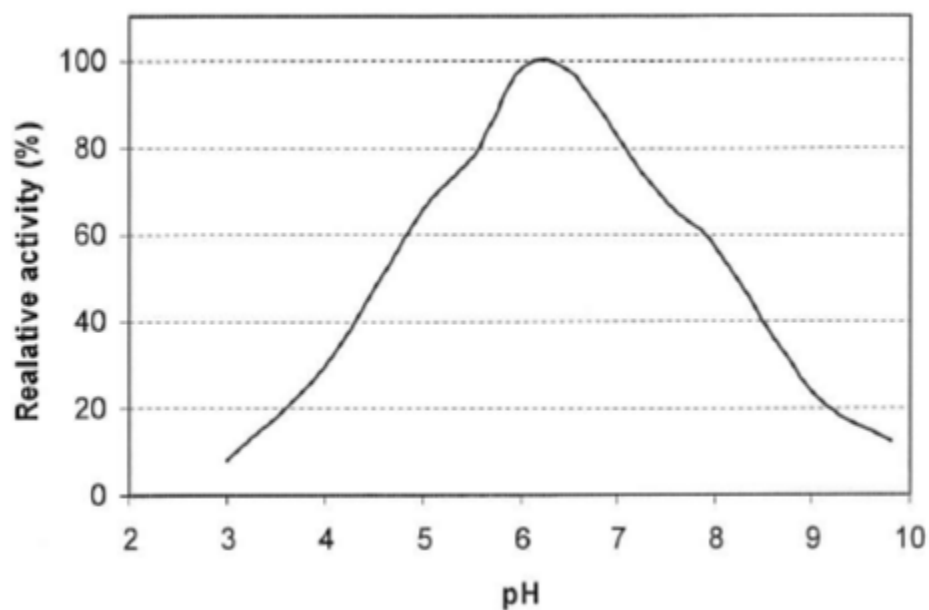


図 1：キシラナーゼが最大酵素活性を示す pH

3-1-2 ペレット加工温度が酵素活性に及ぼす影響

AM24 キシラナーゼのペレット加工温度が酵素活性に及ぼす影響を評価した。

結果を表 1 及び表 2 に示した。95 °C まで加熱しても加熱前と同程度の活性を示すことが確認された。【参照 8】

表 1：飼料添加後のキシラナーゼ活性（加熱前）

	測定値 (BXU/kg 飼料)	平均値 (BXU/kg 飼料)
飼料添加後 1	5940000	6188000
飼料添加後 2	6436000	

表 2：ペレット加工温度におけるキシラナーゼ活性の推移

	加熱前	70 °C	75 °C	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
キシラナーゼ活性 (BXU/kg 飼料)	6188000	5940000	6436000	5717000	6190000	6393000	6313000
加熱前のキシラナーゼ活性に対する割合 (%)	100	96	104	92	100	103	102

3-2 効果を裏付ける基礎的試験 (*in vivo* 試験)

3-2-1 鶏 (肉用鶏)

(1) 方法

ブロイラー (Ross308、雌雄、1 日齢、平均体重 38 g) に、小麦、ライ麦、ライ小麦及び大豆粕を主体とした飼料を陰性対照飼料 (NC 群) とし、陰性対照飼料に菜種油を添加して代謝エネルギーを調整した飼料を陽性対照飼料 (PC 群)、陰性対照飼料に AM24 キシラナーゼを 8,000 BXU/kg 飼料 (T1 群)、16,000 BXU/kg 飼料 (T2 群) 及び 24,000 BXU/kg 飼料 (T3 群) を添加した飼料をそれぞれ 42 日間連続給与した (1 群 8 羽、各 15 反復、雌雄同数)。

なお、1～21 日まではスターター用の粉末飼料を給与し、22～42 日までは、育成仕上げ用のペレット飼料を給与した。

試験開始後 1 日、21 日及び 42 日に体重及び飼料摂取量を計測し、試験終了まで死亡個体を記録した。

12 日～16 日齢の 5 日間に各群 80 羽において、排泄物を採取し、飼料とともに窒素保持量及びエネルギー保持量を測定した。

試験終了時に、各群 10 羽を抽出し、12 時間絶食させ、生体重を計測した。各群 4 羽については、絶食させないで、十二指腸及び空腸から内容物を採取し、腸管内容物の粘度を測定した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、一元配置法により行った。有意水準 5% で有意差が認められた項目については、Duncan の多重比較検定法により検証した。

(3) 結果

各項目の測定結果を表 3 から表 5 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、スターター用飼料給与期間では T1 群が 713 BXU/kg 体重、T2 群が 1429 BXU/kg 体重、T3 群が 2062 BXU/kg 体重、育成・仕上げ用飼料給与期間では T1 群が 555 BXU/kg 体重、T2 群が 1104 BXU/kg 体重、T3 群が 1630 BXU/kg 体重と推定された。1 日当たりの平均被験物質摂取量は、T1 群が 634 BXU/kg 体重、T2 群が 1267 BXU/kg 体重、T3 群が 1846 BXU/kg 体重と考えられた。

スターター飼料給与期間においては、T3 群で NC 群と比べて増体量が有意に高まった。また、エネルギー保持量については、T2 群及び T3 群で NC 群と比較して有意に高

まった。

育成仕上げ用飼料給与期間においては、全てのキシラナーゼ添加群で NC 群と比較して増体量が有意に高くなった。飼料要求率については、全てのキシラナーゼ添加群で NC 群と比較して有意に改善した。

全期間を通して、全てのキシラナーゼ添加群で NC 群と比較して増体量が有意に高まった。飼料要求率については、全てのキシラナーゼ添加群で NC 群と比較して有意に改善した。

育成仕上げ用飼料給与期間終了後の小腸内容物の粘度については、NC 群と比較して、全てのキシラナーゼ添加群で有意に低くなった。

死亡率については、全期間を通して有意な差はなかった。【参照 9】

表 3 鶏用飼料に添加したときの給与効果（肉用鶏：1～20 日齢）

		NC 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)			PC 群
			8,000	16,000	24,000	
飼料摂取量 (g/羽)		—	671	663	691	—
増体量 (g/羽)		374 ^a	376 ^a	371 ^a	402 ^b	376 ^a
増体量 (%) ※		100	101	99	107	101
飼料要求率		1.80	1.79	1.79	1.72	1.76
死亡率 (%)		0	0.83	0	0	0.83
保 持 量	窒素 (mg/羽/日)	698	717	799	807	739
	エネルギー (kcal/羽/日)	106	114	119	125	117
	飼料エネルギー 量に対する割合 (%)	68.4 ^a	71.7 ^{ab}	73.6 ^b	72.9 ^b	71.8 ^{ab}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

※NC 群に対する割合

表 4 鶏用飼料に添加したときの給与効果（肉用鶏：21～42 日齢）

		NC 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)			PC 群
			8,000	16,000	24,000	
飼料摂取量 (g/羽)		—	3191	3149	3175	—
増体量 (g/羽)		1507 ^a	1675 ^b	1675 ^b	1685 ^b	1661 ^b
増体量 (%) ※		100	111	110	112	110
飼料要求率		2.08 ^b	1.91 ^a	1.89 ^a	1.89 ^a	1.94 ^a
死亡率 (%)		0.83	1.67	0.83	1.67	0.83

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

※NC 群に対する割合

表 5 鶏用飼料に添加したときの給与効果 (肉用鶏：1～42 日齢)

	NC 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)			PC 群
		8,000	16,000	24,000	
飼料摂取量 (g/羽)	—	3861	3812	3866	—
増体量 (g/羽)	1881 ^a	2051 ^{bc}	2036 ^b	2087 ^c	2038 ^b
増体量 (%) ※	100	109.0	108.2	111.0	108.3
飼料要求率	2.02 ^a	1.88 ^{bc}	1.87 ^{bc}	1.85 ^c	1.91 ^b
死亡率 (%)	0.83	2.50	0.83	1.67	1.67
小腸内容物の粘度 (cps)	2.52 ^c	2.21 ^b	2.14 ^b	1.87 ^a	1.93 ^a

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

※NC 群に対する割合

3-2-2 鶏 (肉用鶏)

(1) 方法

ブロイラー (Ross308、雄、1 日齢、平均体重 42.2 g) に、とうもろこし及び大豆粕を主体とした飼料を対照飼料 (C 群)、対照飼料からエネルギーを 4 %低くなるように調製した陰性対照飼料 (NC 群) とし、AM24 キシラナーゼを 6,760 BXU/kg 飼料になるように対照飼料に添加した飼料 (T1 群) 及び陰性対照飼料に添加した飼料 (T2 群) をそれぞれ 41 日間連続給与した。

1～20 日まではスターター用飼料を給与し、21～41 日までは、育成仕上げ用飼料を給与した (スターター飼料給与期間：1 群 25 羽、各 8 反復、育成仕上げ用飼料給与期間：1 群 20 羽、各 8 反復)。

体重及び飼料摂取量を試験開始後 20 日及び 41 日に計測した。

試験期間を通して死亡個体がないか確認した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、二元配置法の分散分析により行い、有意水準 5%で飼料のエネルギー量の違いによる影響及び AM24 キシラナーゼ添加による影響を評価した。

(3) 結果

各項目の測定結果を表 6 から表 8 に示した。

被験物質の 1 日あたりの摂取量は、T1 群では 417～450 BXU/kg 体重、T2 群では 430～454 BXU/kg 体重と推定された。全期間を通しての 1 日あたりの平均被験物質摂取量は、T1 群で 434 BXU/kg 体重、T2 群ともに 442 BXU/kg 体重と推定された。

平均増体量及び飼料要求率については、スターター飼料、育成仕上げ用飼料のいずれの給与期間においても無添加群 (NC 群+C 群) に対して添加群 (T1 群+T2 群) は有

意に改善した。試験期間全期間を通して無添加群に対して添加群は有意な改善がみられた。

生存率については、全試験期間において有意な差はみられなかった。【参照 10】

表 6 鶏用飼料に添加したときの給与効果（肉用鶏：1～20 日齢）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
平均増体重 (g)	添加なし	723.1	692.5	707.8 ^A
	添加あり	743.9	723.9	733.9 ^B
	飼料条件平均	733.5 ^a	708.2 ^a	CV=5.08%
飼料摂取量 (g)	添加なし	1022.3	1039.1	1030.7 ^A
	添加あり	1046.0	1029.9	1038.0 ^A
	飼料条件平均	1034.2 ^a	1038.6 ^a	CV=3.27%
飼料要求率 (kg/kg)	添加なし	1.414	1.503	1.459 ^B
	添加あり	1.400	1.427	1.414 ^A
	飼料条件平均	1.407 ^a	1.465 ^b	CV=2.91%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり

($p<0.05$)

表 7 鶏用飼料に添加したときの給与効果（肉用鶏：20～41 日齢）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
平均増体重 (g)	添加なし	1893.3	1879.5	1886.4 ^B
	添加あり	1972.3	1898.3	1935.3 ^A
	飼料条件平均	1932.8 ^a	1888.9 ^a	CV=2.91%
飼料摂取量 (g)	添加なし	3530.3	3587.4	3558.9 ^A
	添加あり	3569.7	3570.3	3570.0 ^A
	飼料条件平均	3550.0 ^a	3578.9 ^a	CV=2.92%
飼料要求率 (kg/kg)	添加なし	1.865	1.910	1.888 ^B
	添加あり	1.812	1.882	1.847 ^A
	飼料条件平均	1.839 ^a	1.896 ^b	CV=1.52%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり

($p<0.05$)

表 8 鶏用飼料に添加したときの給与効果（肉用鶏：1～41 日齢）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
平均増体重 (g)	添加なし	2616.4	2572.0	2594.2 ^B
	添加あり	2716.2	2627.6	2672.1 ^A
	飼料条件平均	2666.5 ^a	2599.8 ^b	CV=2.95%
飼料摂取量 (g)	添加なし	4552.7	4626.5	4589.8 ^A
	添加あり	4609.5	4608.7	4609.1 ^A
	飼料条件平均	4581.1 ^a	4617.6 ^a	CV=2.72%
飼料要求率 (kg/kg)	添加なし	1.740	1.800	1.770 ^B
	添加あり	1.698	1.755	1.727 ^A
	飼料条件平均	1.719 ^a	1.778 ^b	CV=1.30%
生存率 (%)	添加なし	92.5	95.0	93.8 ^A
	添加あり	93.5	93.7	93.6 ^A
	飼料条件平均	93.0 ^a	94.4 ^a	CV=4.31%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり

($p<0.05$)

3-2-3 鶏（産卵鶏）

（1）方法

産卵鶏（Bovan Brown、雌、22 週齢、平均体重約 1798.1 g）に、小麦・大豆粕主体の対照飼料、対照飼料に AM24 キシラナーゼを 12,000 BUX/kg 飼料を添加した飼料をそれぞれ 24 週間連続給与した（1 群 4 羽、10 反復）。

飼料は、試験開始後 10 週目に酸化チタンを追加したものに切り替えたが、消化率の試験は行われなかった。

体重は、試験開始時、10 週目（34 週齢）、22 週目（46 週齢）に調査した。

飼料摂取量及び産卵成績については、1 週ごとに確認した。

（2）統計解析

試験結果の解析は、有意水準 5% で一般線形モデル（GLM）を用いた一元配置の分散分析を行った。

（3）結果

各項目の結果を表 9 から表 11 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、22 週齢で 804.5 BUX/kg 体重、46 週齢で 741.0 BUX/kg 体重と推定された。

増体重、飼料摂取量については、対照群と比較して AM24 キシラナーゼ添加群は、試

験全期間を通して有意な差はなかった。

飼料要求率は、対照群と比較して AM24 キシラナーゼ添加群は、34～46 週齢及び 22～46 週齢の期間において有意に改善された。

産卵成績の内、対照群と比較して AM24 キシラナーゼ添加群では、産卵率については、34～46 週齢の期間で有意に高く、日卵重においては、34～46 週齢及び 22～46 週齢の期間で有意に高かった。[参照 11]

表 9 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果（産卵鶏：22～34 週齢）

	対照群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	P 値	標準誤差
		12,000		
平均増体重 (g)	196.1	224.9	0.439	26.26
飼料摂取量 (g/日)	120.9	120.5	0.817	1.38
飼料要求率 (g/g)	2.367	2.292	0.187	0.038
産卵率 (%)	83.5	84.7	0.534	1.35
平均卵重 (g)	61.3	62.2	0.352	0.62
日卵重 (g)	51.2	52.6	0.310	0.975

各値は平均値

各項目内の P 値が太文字の場合、有意差あり (p<0.05)

表 10 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果（産卵鶏：34～46 週齢）

	対照群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	P 値	標準誤差
		12,000		
平均増体重 (g)	110.7	119.3	0.683	14.65
飼料摂取量 (g/日)	131.3	132.0	0.838	2.54
飼料要求率 (g/g)	2.284	2.145	0.019	0.038
産卵率 (%)	90.0	94.2	0.030	1.26
平均卵重 (g)	64.0	65.3	0.160	0.65
日卵重 (g)	57.6	61.5	0.006	0.89

各値は平均値

各項目内の P 値が太文字の場合、有意差あり (p<0.05)

表 11 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果（産卵鶏：22～46 週齢）

	対照群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	P 値	標準誤差
		12,000		
平均増体重 (g)	291.5	339.9	0.388	38.67
飼料摂取量 (g/日)	126.1	125.9	0.955	0.007
飼料要求率 (g/g)	2.316	2.201	0.007	0.027
産卵率 (%)	86.3	88.7	0.121	1.04
平均卵重 (g)	62.8	64.1	0.162	0.62
日卵重 (g)	54.5	57.2	0.021	0.75

各値は平均値

各項目内の P 値が太文字の場合、有意差あり (p<0.05)

3-2-4 豚

(1) 方法

カニューレを装着した肥育豚（大ヨークシャー×ランドレース、去勢雄、週齢不明、平均体重 37.3 ± 2.9 kg）に、小麦、大麦及び大豆粕を主体とした陽性対照飼料（PC 群）とし、陽性対照飼料から代謝エネルギー（ME）を 5%減じた飼料を陰性対照飼料（NC 群）とした。陰性対照飼料に AM24 キシラナーゼを 8,000 BXU/kg 飼料（T1 群）及び 16,000 BXU/kg 飼料（T2 群）を添加した飼料を調製し、それぞれの飼料を 1 日 2 回、維持エネルギー要求量の 2.6 倍量を給与した（1 群 5 頭、2 反復）。

飼料中の ME は、陽性対照飼料：13.2 MJ/kg、陰性対照飼料：12.2 MJ/kg になるように調製した。

9 日間を順化期間とした後、5 日間糞便採取し、3 日間 12 時間毎に回腸内容物を採取した。毎日飼料摂取状態を確認し、食べ残し量も計測した。毎日飼料摂取状態を確認し、食べ残し量も計測した。糞便は毎日 2 回、回腸内容物は持続的に採取して重量測定し、 -18°C で冷凍保存した。採取した糞便及び回腸内容物は、試験最終日に全量をホモジナイズし、全量の 30%を凍結乾燥して分析材料とした。飼料、回腸内容物及び糞便中の栄養成分を分析した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、一元配置法により行った。有意水準 5%で有意差が認められた項目については、Tukey の範囲検定により有意性を検討した。

(3) 結果

測定結果を表 12 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、T1 群で 399 BXU/kg 体重、T2 群で 798 BXU/kg 体重と推定された。

回腸内容物の消化率では、NC 群と比べて、T1 群及び T2 群は、乾物、粗たん白、粗繊維、可溶性無窒素物（NFE）、中性デタージェント繊維（NDF）及び酸性デタージェント繊維（ADF）で有意に高まった。T2 群と T1 群を比較すると、いずれの項目においても有意な改善はみられなかった。

回腸以降における消化率については、NC 群と比べて、T1 群及び T2 群は、乾物、粗繊維、NFE、NDF、ADF 及びエネルギーの消化率が有意に高まった。いずれの項目においても、T1 群及び T2 群の間に有意な差はなかった。

消化管全体における消化率では、NC 群と比較して、T1 群では、乾物の有意な増加がみられた。T2 群では、NC 群と比較して、粗たん白の有意な増加が認められた。T1 群及び T2 群の両群ともに、NC 群と比較して、粗繊維、ADF 及びエネルギーの消化率について有意に増加した。【参照 12】

表 12 豚用飼料にキシラナーゼを添加したときの消化率

		NC 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)		PC 群	RMSE
			8,000	16,000		
回腸の 消化率 (%)	乾物	64.0 ^c	69.5 ^a	69.4 ^a	68.4 ^b	0.6
	粗たん白	67.5 ^b	70.2 ^a	71.9 ^a	66.7 ^b	1.5
	粗脂肪	59.8 ^b	58.2 ^b	59.4 ^b	70.9 ^a	3.0
	粗繊維	30.6 ^b	38.8 ^a	37.7 ^a	14.0 ^c	1.7
	NFE	64.9 ^c	72.6 ^a	71.1 ^b	72.1 ^{ba}	1.2
	NDF	47.3 ^b	57.2 ^a	56.5 ^a	33.9 ^c	1.8
	ADF	24.0 ^c	35.3 ^a	35.4 ^a	8.9 ^c	1.6
	エネルギー	61.2 ^b	67.5 ^a	67.0 ^a	66.5 ^a	0.9
回腸以 降の消 化率 (%)	乾物	79.3 ^c	84.2 ^a	84.2 ^a	81.6 ^b	0.8
	粗たん白	84.2 ^{ba}	85.5 ^a	86.2 ^a	82.2 ^b	1.8
	粗脂肪	101.2 ^b	90.7 ^c	93.9 ^c	108.0 ^a	4.2
	粗繊維	81.9 ^b	87.0 ^a	87.6 ^a	74.0 ^c	2.3
	NFE	75.6 ^c	83.0 ^a	82.2 ^a	80.0 ^b	1.5
	NDF	81.0 ^b	90.0 ^a	89.6 ^a	74.5 ^c	1.8
	ADF	78.0 ^b	85.5 ^a	85.9 ^a	72.3 ^c	1.9
	エネルギー	79.2 ^c	84.5 ^a	84.2 ^a	81.6 ^b	1.0
消化管 全体の 消化率 (%)	乾物	84.7 ^c	85.3 ^b	85.2 ^{cb}	86.8 ^a	0.5
	粗たん白	83.4 ^b	84.7 ^{ba}	85.7 ^a	84.4 ^{ba}	1.4
	粗脂肪	58.6 ^c	67.5 ^a	64.6 ^{ba}	62.9 ^b	2.8
	粗繊維	48.6 ^b	51.8 ^a	50.1 ^{ba}	40.1 ^c	1.8
	NFE	89.2 ^b	89.6 ^b	88.9 ^b	92.0 ^a	0.6
	NDF	66.2 ^a	67.2 ^a	66.8 ^a	59.4 ^b	1.5

	ADF	46.0 ^b	49.9 ^a	49.4 ^a	36.6 ^c	2.3
	エネルギー	82.0 ^c	83.2 ^b	82.8 ^b	84.9 ^a	0.6

RMSE：二乗平均平方根誤差

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-2-5 豚

(1) 方法

子豚（品種不明、週齢不明、雌雄、体重約 14 kg）に、小麦、ライ麦、大豆及びふすまを主体とし、ME を 5%減じた対照飼料（C 群）及び対照飼料に AM24 キシラナーゼを 16,000 BXU/kg 飼料（T 群）を添加した飼料をそれぞれ 104 日間給与した（1 群 16 頭、1 反復）。

給与する飼料は、試験開始から 37 日間（体重約 35 kg まで）はスターター用飼料、その後 29 日間（体重約 68 kg まで）は育成用飼料、さらに 38 日間（体重約 110 kg まで）は仕上げ用飼料とした。

各群 12 頭については、ステージごとに体重及び飼料摂取量を測定し、日増体重及び飼料要求率を算出した。各群残りの雄 4 頭については、スターター用飼料給与期間及び育成用飼料給与期間のそれぞれ 5 日間、代謝ケージに収容して糞便を採取し、各栄養成分の消化率を評価した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、同一飼料給与期間内の C 群及び T 群の間で、有意水準 5%で *t* 検定により行った。

(3) 結果

測定結果を表 13 及び表 14 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、スターター用飼料給与期間で 492 BXU/kg 体重、育成用飼料給与期間で 609 BXU/kg 体重、仕上げ用飼料給与期間で 474 BXU/kg 体重と推定された。

平均日増体重については、仕上げ用飼料給与期間では、C 群と比較して、T 群で有意に高まった。全期間を通して見た場合も、C 群と比較して、T 群では増体重が有意に高まったことが確認された。

飼料要求率については、いずれの期間においても群間で有意な差はなかった。

消化率については、スターター用飼料給与期間では群間に有意差はなかった。育成用飼料給与期間では、C 群と比較して、T 群では有意な差はないが、高まる傾向にあった。

【参照 13】

表 13 豚用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果

		C 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)
			16,000
スターター 用飼料	平均日増体重 (g)	681±19	679±25 (100)
	平均飼料要求率 (%)	1.82±0.04	1.78±0.04 (97.80)
肥育用飼料	平均日増体重 (g)	917±14	995±35 (108.51)
	平均飼料要求率 (%)	2.65±0.03	2.63±0.07 (99.24)
仕上げ用飼 料	平均日増体重 (g)	979±31 ^a	1103±37 ^b (112.66)
	平均飼料要求率 (%)	3.02±0.06	2.98±0.09 (98.67)
全期間	平均日増体重 (g)	856±16 ^a	922±25 ^b (108)
	平均飼料要求率 (%)	2.57±0.04	2.53±0.04 (98.44)

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

() 内の数値は C 群に対する割合 (%)

表 14 スターター用飼料及び飼育用飼料給与期の消化率及びエネルギー

		C 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)
			16,000
スターター用 飼料	乾物 (%)	86.40±0.30	85.35±0.76
	有機物 (%)	88.44±0.34	87.40±0.71
	粗たん白 (%)	86.03±0.79	83.11±1.50
	脂肪 (%)	61.65±3.32 ^{ab}	52.64±5.57 ^a
	炭水化物 (%)	89.23±0.20	89.16±0.51
	エネルギー (%)	86.12±0.43	84.68±0.79
肥育用飼料	乾物 (%)	85.75±1.28	86.20±1.00
	有機物 (%)	87.88±1.06	88.32±0.88
	粗たん白 (%)	85.01±1.47	86.37±1.79
	脂肪 (%)	64.27±3.00	69.15±2.98
	炭水化物 (%)	88.74±0.95	88.90±0.67
	エネルギー (%)	85.61±1.28	86.05±1.04

各値は、開始時の分析値に対する割合

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-3 消化率の改善を確認する試験

3-3-1 鶏（肉用鶏）

(1) 方法

ブロイラー（Ross308、雄、26 日齢、体重不明）を用いて、とうもろこし及び大豆粕を主体とした飼料を対照飼料（C 群）、対照飼料からエネルギーを 4 %低くなるように調製した飼料を陰性対照飼料（NC 群）とし、AM24 キシラナーゼを 6,760 BXU/kg 飼料になるように対照飼料に添加した飼料（T1 群）及び陰性対照飼料に添加した飼料（T2 群）に酸化クロム 0.50%を添加し、それぞれ給与した（1 群 4 羽、8 反復）。

26 日齢から 31 日齢までの 5 日間を順化期間とし、31～36 日齢における 1 ケージ当たりの飼料摂取量及び排泄量より、代謝エネルギーを測定した。

37 日齢に回腸消化物及び排泄物を分析し、乾物及び粗たん白の消化率、窒素保持量及び代謝エネルギーを測定した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、有意水準 5%で二元配置法により行った。

(3) 結果

各項目の結果を表 15 から表 17 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、341～668 BXU/kg 体重と推定された。

回腸における乾物及び粗たん白質の消化率については、AM24 キシラナーゼの添加により有意に改善した。

窒素保持量については、AM24 キシラナーゼの添加により有意に改善した。
代謝エネルギー及び窒素補正代謝エネルギーにおいては、NC 群と比較して、T2 群では有意に高かった。 [参照 10]

表 15 鶏用飼料に添加したときの回腸消化率（肉用鶏）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
乾物 (%)	添加なし	73.2	74.6	73.9 ^B
	添加あり	75.1	77.2	76.2 ^A
	飼料条件平均	74.2 ^a	75.9 ^a	CV=4.08%
粗たん白質 (%)	添加なし	77.1	78.2	77.7 ^B
	添加あり	80.6	82.2	81.4 ^A
	飼料条件平均	78.9 ^a	80.2 ^a	CV=3.86%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり
($p<0.05$)

表 16 鶏用飼料に添加したときの窒素保持量（肉用鶏）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
窒素保持量 (g/kg 乾物)	添加なし	18.49	18.62	18.56 ^B
	添加あり	19.53	19.48	19.51 ^A
	飼料条件平均	19.01 ^a	19.05 ^a	CV=4.10%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり
($p<0.05$)

表 17 鶏用飼料に添加したときの代謝エネルギー（肉用鶏）

		対照群	陰性対照群	添加条件平均
代謝エネルギー (kcal/kg 乾物)	添加なし	3582 ^{Ba}	3444 ^{Bb}	3513
	添加あり	3661 ^{Aa}	3690 ^{Aa}	3676
	飼料条件平均	3622	3567	CV=1.80%
窒素補正代謝エネルギー (kcal/kg 乾物)	添加なし	3430 ^{Ba}	3291 ^{Bb}	3361
	添加あり	3500 ^{Aa}	3530 ^{Aa}	3515
	飼料条件平均	3465	3411	CV=1.78%

各値は平均値

各項目内の飼料条件平均の小文字及び添加条件平均の大文字の異文字間に有意差あり

($p < 0.05$)

3-3-2 豚

(1) 方法

子豚（（ポーランドラージホワイト×ポーランドランドレース）×（ピエトレン×デュロック）、性別不明、1日齢、平均体重 1.57～1.69 kg）を用いて、対照飼料（C 群）、対照飼料にアジアで市販流通している別製品のキシラナーゼを陽性対照として 24,000 BXU/kg 飼料添加した別製品添加飼料（T1'群）、対照飼料に AM24 キシラナーゼを 12,000（T2 群）及び 24,000（T3 群） BXU/kg 飼料を添加した飼料をそれぞれ 7 日齢から給与した。35 日齢で離乳させ、腹毎に配置させた（1 群 1 腹、8～9 反復）。

56～70 日齢まで給与飼料に酸化クロムを添加し、インデックス法により消化率を確認した。糞便は、66～70 日齢の 5 日間に採取した。

試験期間中（84 日間）は、発育成績及び消化率を調査した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、一元配置法により行った。有意水準 5%で有意差が認められた項目については、Duncan の検定により試験群間の平均値の差の有意性を検討した。

(3) 結果

各項目の結果を表 18 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、T2 群では 191 BXU/kg 体重、T3 群では 362 BXU/kg 体重と推定された。

平均増体重については、1～84 日全体を通して、C 群と比較して、T3 群では有意な増加が認められた。

飼料摂取日量、飼料要求率及び死亡率については、全ての群間で有意差はなかった。

消化率については、粗たん白、粗脂肪及び粗繊維において、C 群に比べて T3 群は有意に高まった。[参照 14]

表 18 豚用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果

		C 群	別製品キシラナーゼ 添加群 (BXU/kg 飼料)	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	
			24,000	12,000	24,000
発育成績	腹数	8	9	9	8
	産子数 (頭)	79	88	92	79
	平均増体重 (kg/日)	0.266 ^a	0.279 ^{ab}	0.274 ^{ab}	0.286 ^b
	飼料摂取量 (kg/頭/日)	0.387	0.387	0.388	0.383
	飼料要求率	1.45	1.39	1.42	1.35
	死亡率 (%)	5.1	3.4	3.2	2.5
消化率 (%)	乾物	83.7	84.2	83.8	85.0
	粗たん白	74.9 ^a	76.2 ^{ab}	75.2 ^a	77.4 ^b
	粗脂肪	40.3 ^a	46.3 ^{ab}	45.5 ^{ab}	49.9 ^b
	粗繊維	30.4 ^a	34.7 ^{ab}	33.1 ^{ab}	42.1 ^b
	可溶無窒素物	87.7	88.0	87.5	88.1

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-4 効果を裏付ける野外応用による試験

3-4-1 鶏（肉用鶏）

(1) 方法

ブロイラー（Ross308 種、雌雄、1 日齢、平均体重 45.87 g（雄）、45.53 g（雌））を用いて、小麦及び大豆ミール主体の飼料を対照飼料（NC 群）とし、対照飼料に AM24 キシラナーゼ 8,000 BXU/kg 飼料（T1 群）、16,000 BXU/kg 飼料（T2 群）、24,000 BXU/kg 飼料（T3 群）、AM24 キシラナーゼとは別製品のアジアで市販流通しているキシラナーゼを陽性対照として対照飼料に 8,000 BXU/kg 飼料（T4 群）及び 16,000 BXU/kg 飼料（T5 群）添加した飼料を 39 日間給与した（1 群 125 羽、8 反復（雄 4 反復、雌 4 反復））。

0～12 日齢はスターター用飼料、13～39 日齢は育成用飼料、40～42 日齢は仕上げ用飼料を給与した。スターター用飼料給与期間は制限給与とし、育成用飼料及び仕上げ用飼料給与期間は自由摂取とした。

試験開始時、12 日齢、42 日齢に体重を測定し、増体重を計算した。

試験期間を通しての飼料摂取量から、1 日当たりの飼料摂取量及び飼料要求率を計算した。

死亡個体数を毎日確認し、へい死率を計算した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析を行った後、線形モデル（GLM 法）で各群間の平均値を比較した。有意水準は、 $P<0.05$ で有意差ありと判断し、 $0.05<P<0.10$ で有意傾向ありと判断した。

(3) 結果

各項目の結果を表 19 及び表 20 に示した。

1 日当たりの AM24 キシラナーゼ摂取量は、T1 群では 347 BXU/kg 体重、T2 群では 719 BXU/kg 体重、T3 群では 1053 BXU/kg 体重と推定された。

平均増体重については、NC 群と比較して、AM24 キシラナーゼ添加全群で有意な増加が認められた。各期間でみると 42 日齢時の平均体重が NC 群と比較して有意に高く、12～42 日齢の平均増体重は有意に高まった。

飼料摂取日量においては、全ての群で有意差はなかった。

飼料要求率については、NC 群と比較して、AM24 キシラナーゼ添加全群で有意に改善した。

へい死率については、試験全期間を通してみると T3 群及び T4 群で T1 群と比べて有意に高かったが、NC 群と比べて有意な差はみられなかった。T1 群及び T2 群においても、NC 群と比較して有意な差はなかった。各期間でみると、T3 群で 12～39 日齢及び 39～42 日齢の期間で高かったが、NC 群と比較して有意差はなく、用量依存性は認められなかった。[参照 15]

表 19 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果（肉用鶏）

		NC 群	AM24 キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)			別製品キシラナーゼ 添加群 (BXU/kg 飼料)	
			8,000	16,000	24,000	8,000	16,000
平均体重	0 日齢 (g/羽)	45.62	45.72	45.68	45.80	45.68	45.68
	12 日齢 (kg/羽)	0.269	0.264	0.266	0.270	0.265	0.269
	42 日齢 (kg/羽)	1.927 ^c	2.053 ^{ab}	2.005 ^b	2.069 ^{aTb}	2.081 ^a	2.029 ^{ab}
平均増体	0～12 日齢	20.7	20.3	20.4	20.8	20.4	20.7

重 (g/日/羽)	12～42 日 齢	54.4 ^b	59.3 ^a	57.7 ^a	58.8 ^a	59.7 ^a	57.8 ^a
へい死率 (%)	0～12 日 齢	0.80 ^b	1.10 ^{bTa}	1.10 ^{bTa}	1.30 ^{ab}	2.00 ^a	0.90 ^b
	12～39 日 齢	2.02 ^{abTc}	0.71 ^c	0.91 ^{bc}	2.34 ^{aTb}	1.95 ^{abc}	2.22 ^{aTbc}
	39～42 日 齢	0.10 ^{bTa}	0.10 ^{bTa}	0.00 ^b	0.42 ^a	0.11 ^{bTa}	0.10 ^{bTa}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり ($p<0.05$)

表 20 試験全期間における成績 (肉用鶏)

	NC 群	AM24 キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)			別製品キシラナーゼ 添加群 (BXU/kg 飼料)	
		8,000	16,000	24,000	8,000	16,000
平均増体重 (g/日/羽)	45.9 ^c	48.9 ^{ab}	47.7 ^b	49.3 ^{aTb}	49.6 ^a	48.3 ^{ab}
平均飼料摂取量 (g/羽/日)	89.8	89.0	90.1	90.8	90.0	88.6
平均飼料要求率	1.994 ^a	1.835 ^d	1.899 ^b	1.885 ^{bcTd}	1.846 ^{cd}	1.863 ^{bcd}
へい死率 (%)	2.90 ^{ab}	1.90 ^b	2.00 ^{bTa}	4.00 ^a	4.00 ^a	3.20 ^{ab}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり ($p<0.05$)

3-4-2 鶏 (産卵鶏)

(1) 方法

室内で平飼いた産卵鶏 (ISA-Brown、20 週齢、雌、平均体重不明) を用いて、小麦、大麦、大豆粕及びライ麦を主体とした対照飼料 (C 群)、対照飼料に AM24 キシラナーゼを 12,000 BXU/kg 飼料 (T1 群) となるように添加した飼料、対照飼料にアジアで市販流通している別製品のキシラナーゼを陽性対照としてそれぞれ 6,000 (T2 群)、12,000 BXU/kg 飼料 (T3 群)、24,000 BXU/kg 飼料 (T4 群) となるように添加した飼料をそれぞれ 48 週齢まで連続給与した。

(1 群 10 羽、14 反復)。

死亡個体について確認し、死亡率を計算した。

産卵率、卵重、飼料摂取量及び飼料要求率は、試験期間中 4 週毎に確認した。飼料摂取量及び飼料要求率については、ペン単位で測定した。卵重については、24 時間以内に採卵された卵の重さを個々に全数測定し、平均卵重と総重量を計算した。

見かけの消化率については、44 週齢で各群の反復毎に糞便を採取し、酸化チタンを指標物質として確認した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、一元配置の分散分析により行い、試験群間の平均値の有意性を Tukey 検定で検討した。有意水準は、 $P<0.05$ で有意差ありと判断し、 $0.05<P<0.10$ で有意傾向ありと判断した。

(3) 結果

各項目の結果を表 21 に示した。

1 日当たりの AM24 キシラナーゼの摂取量は、T1 群では 651 BXU/kg 体重と推定された。

平均産卵率については、24～48 週齢の期間で NC 群と比べて、T1 群は有意に高かった。

卵重、総卵重、平均飼料摂取量及び平均飼料要求率については、いずれの期間においても有意な差はなかった。

見かけの消化率においては、乾物、総エネルギー (AME) 及び代謝エネルギー (AMEn) で NC 群と比較して、T1 群で有意に高まった。[参照 16]

表 21 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果 (産卵鶏)

		NC 群	AM24 キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	別製品キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)		
			12,000	6,000	12,000	24,000
平均産卵率 (%)		88.3 ^b	91.8 ^a	92.0 ^a	89.2	90.1
卵重 (g/個)		59.2	58.8	59.4	58.8	58.9
総卵重 (kg)		83.9	86.2	86.5	84.5	86.0
平均飼料摂取量 (g/日)		120.0	120.8	121.4	118.6	117.8
飼料要求率 (kg 飼料/kg 卵重)		2.30	2.23	2.22	2.26	2.22
へい死率 (%)		5.9	8.1	5.8	6.8	5.2
消化率 (%)	乾物	66.3 ^b	70.1 ^a	70.4 ^a	70.2 ^a	70.9 ^a
	CP	65.6	66.9	67.7	66.6	67.6
	GE	68.5 ^b	71.8 ^{ab}	71.6 ^{ab}	71.7 ^{ab}	73.0 ^a
	AME	2.612 ^b	2.740 ^{ab}	2.732 ^{ab}	2.735 ^{ab}	2.785 ^a
	AMEn	2.595 ^a	2.723 ^{ab}	2.715 ^{ab}	2.718 ^{ab}	2.767 ^a

CP : 粗たん白、GE : 総エネルギー

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-4-3 豚

(1) 方法

肥育豚 (豚種不明、月齢不明、去勢豚、体重 27 kg) に、ライ小麦、ふすま、ライ麦及び大豆粕を主体とした対照飼料 (C 群) 及び AM24 キシラナーゼをそれぞれ 8,000 BXU/kg 飼料 (T1 群) 16,000 BXU/kg 飼料 (T2 群)、24,000 BXU/kg 飼料 (T3 群) 添加した飼料を各々体重が 110 kg になるまで連続給与した。(1 群 4～5 頭、8 反復)

体重が 60 kg になるまでは肥育用飼料を給与し、60 kg から 112kg までは仕上げ用飼料を給与した。

脂肪酸組成については、1 群当たり 15 頭について、屠体の右背部から最長筋を採取して検査した。

消化率においては、体重 50 kg 及び 72 kg の時点で、それぞれ 1 群当たり 10 頭ずつについて実施した。1 頭ずつケージに収容し、1 日 1 回、計 5 日間糞便を採取した。採取した糞便中の栄養成分を測定した。

（２）統計解析

試験結果の解析は、一元配置法により行った。有意差が認められた項目については、Duncan 検定により試験群間の平均値の差の有意性を検討した。有意水準は、1%又は 5%とした。

（３）結果

各項目の試験期間を通しての結果を表 22 及び表 23 に示した。

1 日当たりの被験物質摂取量は、T1 群で 240～382 BXU/kg 体重、T2 群で 480～764 BXU/kg 体重、T3 群で 720～1147 BXU/kg 体重と推定された。

1 日当たりの平均増体重については、C 群と比較して、T2 群及び T3 群で有意な増加が認められた。

112 kg に達するまでの肥育日数においては、C 群と比較して、T3 群で有意に短くなった。

平均飼料摂取量については、各群間で差はなかった。

平均飼料要求率は、C 群と比較して、T3 群は有意に低かった。

枝肉の脂肪酸組成については、C 群及び T1 群と比較して、T2 群で C16:1 含量が有意に高かった。

消化率においては、肥育用飼料給与では、粗繊維の見かけの消化率が C 群と比較して、有意に高まった。仕上げ用飼料給与期間では、乾物及び可溶無窒素物（NFE）について、C 群と比較して、T2 群及び T3 群で有意に高かった。粗脂肪においては、キシラナーゼ添加全群において、C 群と比較して有意に高まった。粗たん白及び粗繊維においては、いずれの群においても有意な差はなかった。【参照 17】

表 22 豚用飼料に添加したときのキシラナーゼ給与効果

			C 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)		
				8,000	16,000	24,000
平均増体重 (g/日)			801 ^{Aa} ±94	813 ^{ABab} ±63	835 ^{ABbc} ±52	851 ^{Bc} ±71
肥育日数 (日)			106 ^b ±11.41	106 ^b ±9.88	102 ^{ab} ±8.60	100 ^a ±9.94
飼料摂取量 (kg/ペン)			1077.6 ±58	1083.1 ±72	1059.8 ±53	1019.2 ±104
飼料要求率			3.23 ^{Bb} ±0.18	3.17 ^{Abb} ±0.17	3.13 ^{Abb} ±0.15	2.92 ^{Aa} ±0.22
消化率	肥育用飼料 給与期間	乾物 (%)	83.7 ±1.94	84.0 ±1.70	84.2 ±1.34	84.7 ±1.34
		粗たん白 (%)	82.2 ±2.35	83.2 ±2.78	83.2 ±1.61	83.8 ±2.77
		粗脂肪 (%)	30.3 ±15.57	34.0 ±14.78	35.7 ±14.09	39.8 ±10.92
		粗繊維 (%)	33.6 ^A ±7.20	38.7 ^{AB} ±4.79	37.6 ^{AB} ±4.72	40.7 ^B ±4.84
		NFE (%)	87.2 ±1.73	87.3 ±1.57	87.7 ±1.18	87.8 ±1.24
	育成用飼料 給与期間	乾物 (%)	85.8 ^{Aa} ±0.89	86.1 ^{ABab} ±0.83	86.8 ^{ABbc} ±0.90	87.0 ^{Bc} ±0.60
		粗たん白 (%)	84.0 ±1.58	84.9 ±1.56	84.5 ±1.72	85.2 ±1.57
		粗脂肪 (%)	38.1 ^{Aa} ±10.21	47.9 ^{ABb} ±10.20	49.0 ^{ABb} ±6.99	51.3 ^{Bb} ±11.57
		粗繊維 (%)	37.6 ±4.63	38.7 ±3.90	40.1 ±4.36	41.1 ±3.71
		NFE (%)	89.6 ^a ±0.56	89.5 ^{ab} ±0.81	90.2 ^b ±0.77	90.2 ^b ±0.58

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (大文字 : $p<0.01$ 、小文字 : $p<0.05$)

表 23 豚用飼料にキシラナーゼを添加したときの不飽和脂肪酸組成

		C 群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)		
			8,000	16,000	24,000
不飽和脂肪酸組成 (%)	C16:1	2.978 ^a	2.839 ^a	2.464 ^b	3.207 ^{ab}
	C18:1	39.11	39.27	37.83	38.94
	C18:2	12.25	12.17	11.82	12.22
	C18:3	0.590	0.606	0.591	0.585
	γ -C18:3	0.168	0.175	0.162	0.151
	C20:4	4.699	5.116	4.811	4.996
	C22:1	0.161	0.156	0.154	0.165
	CLA	1.868	1.777	1.689	1.372
	EPA	0.283	0.296	0.306	0.264
	DHA	0.237	0.225	0.230	0.199

CLA：共役リノール酸、EPA：エイコペンタエン酸、DHA：ドコサヘキサエン酸

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり（大文字： $p < 0.01$ 、小文字： $p < 0.05$ ）

4 安全性に関する事項

4-1 毒性試験

4-1-1 一般毒性試験

4-1-1-1 反復投与毒性試験（短期）

（1）方法

ラット（SD 系、雌雄各 40 匹、5 週齢、平均体重 134～146 g（雄）、107～124 g（雌））を用いて、13 日間の順化期間後に AM24 キシラナーゼ（キシラナーゼ活性：4100,000 BXU/g）を 0、250、500、1,000 mg/kg 体重/日となるように滅菌水に溶解し、それぞれ強制経口投与にて 91 日間給与した（1 群雌雄各 10 匹）。試験期間中は、水と飼料は自由摂取とした。

一般臨床観察（死亡例の観察）、詳細機能観察、体重、飼料摂取量、摂水量、眼検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、血液凝固検査、剖検、病理組織学的検査について、観察及び検査した。

体重は 1 週間毎に記録した。

（2）統計解析

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査については、均一性を F-max 検定で確認した。群の分散が均一である場合、パラメトリック ANOVA を用い、Fisher の LSD 検定を用いた対応のある Student の t 検定を実施した。群の分散が均一でない場合は、対数又は平方根変換して、均一性を確認した。それでも群の均一性が認められない場合は、ノンパラメトリック検定として Kruskal-Wallis ANOVA 検定を行い、ノンパラメトリックで Student の t 検定に当たる z 検定を介したカイ二乗検定を実施した。

（3）結果

各項目の結果を表 24 に示した。

一般症状においては、雄の全ての被験物質投与群、雌の 500、1,000 mg/kg 体重/日投与群で軟便が認められたが、いずれも 12 週目には認められなくなった。死亡例については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で 1 例、250 mg/kg 体重/日投与群の雌で 1 例確認された。雄の死亡例の病理所見は胸膜炎等の炎症所見であり、雌の死亡例の病理所見は急性肺炎だった。

詳細機能観察においては、異常な所見は認められなかった。

体重については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄において、21 日目までの期間で対照群と比較して有意に低かったが、それ以降の期間では有意な差が認められなかった。その他の試験群においては、対照群と比較して有意な差はなかった。

飼料摂取量については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄において、対照群と比較して 35 日目まで及び 77 日目の測定では有意に低かったが、その他の時点では有意な差はなかった。雌では、全ての被験物質投与群において、対照群と比較して 14 日目までの測定では有意に低かったが、その他の時点では有意な差がなかった。

摂水量については、雌雄ともにいずれの試験群においても有意な差はなかった。

眼科的検査については、対照群において角膜混濁が雄 2 匹と雌 1 匹に認められたが、被験物質投与群には認められなかった。

血液学的検査については、雌の 250 mg/kg 体重及び 500 mg/kg 体重投与群において、対照群と比較して LUC (large unclassified cells) が有意に低かった。それ以外の項目については、雌雄いずれの試験群においても有意な差は認められなかった。

血液生化学検査については、対照群と比較して、雌の 500 mg/kg 体重投与群でアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) が有意に低く、雌の 1,000 mg/kg 体重投与群では無機りんが有意に高かった。その他の項目においては、雌雄ともにいずれの試験群においても有意な差はなかった。

尿検査においては、500 mg/kg 体重投与群の雌で、比重が対照群に対して有意に高く、雄の尿の pH が全ての被験物質投与群において、対照群と比較して有意に低かった。

血液凝固検査においては、雌の 1,000 mg/kg 体重投与群で対照群と比較して有意に低かった。

剖検における器官重量測定において、250 mg/kg 体重投与群の雄で、腎臓の絶対重量の有意な高値が見られた。その他の器官では、雌雄共に被験物質投与群と対照群の間で有意な差はなかった。

各臓器の病理組織学的検査においては、異常は認められなかった。

これらの結果から、AM24 キシラナーゼの NOAEL は 1,000 mg/kg 体重 (キシラナーゼとして 4100,000 BXU/kg 体重) であると推測された。[参照 18]

表 24 キシラナーゼの反復投与毒性試験の結果

			対照群	キシラナーゼ投与群 (mg/kg 体重/日)		
				250	500	1,000
雄	平均増体重 (g/日)		325 ±53	321 ±38	301 ±47	311 ±43
	飼料摂取量 (g/日)		29.2 ±2.3	29.7 ±2.6	27.4 ±2.3	27.5 ±2.5
	血液学的 検査	LUC ($\times 10^9/\mu\text{L}$)	0.13 ±0.05	0.12 ±0.06	0.09 ±0.04	0.12 ±0.01
	血液生化学的 検査	ALT (U/L)	54 ±5	57 ±11	56 ±11	55 ±4
		無機りん (mmol/L)	1.80 ±0.18	1.86 ±0.13	1.96 ±0.13	1.90 ±0.11
	尿検査	比重	1.046 ±0.013	1.055 ±0.017	1.053 ±0.017	1.054 ±0.021
		pH	7.9 ±0.9 ^{aA}	6.6 ±1.0 ^b	6.8 ±1.0 ^b	6.5 ±1.1 ^B
	臓器重量	腎臓 (g)	3.49 ±0.07 ^a	3.70 ±0.07 ^b	3.40 ±0.07	3.61 ±0.07
雌	平均増体重 (g/日)		125 ±15	108 ±15	116 ±17	110 ±12
	飼料摂取量 (g/日)		19.7 ±1.8	18.7 ±1.7	19.2 ±3.0	18.8 ±2.2
	血液学的 検査	LUC ($\times 10^9/\mu\text{L}$)	0.12 ±0.04 ^a	0.08 ±0.02 ^b	0.08 ±0.03 ^b	0.12 ±0.08
	血液生化学的 検査	ALT (U/L)	61 ±15 ^A	63 ±33	44 ±11 ^B	51 ±7
		無機りん (mmol/L)	1.49 ±0.18 ^a	1.70 ±0.09	1.56 ±0.19	1.64 ±0.09 ^b
	尿検査	比重	1.031 ±0.009 ^a	1.033 ±0.012	1.045 ±0.014 ^b	1.029 ±0.011
		pH	8.3 ±1.0	8.6 ±0.9	8.4 ±1.3	7.9 ±1.1
	臓器重量	腎臓 (g)	1.98 ±0.07	1.98 ±0.04	1.99 ±0.03	1.99 ±0.03

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり（大文字：p<0.01、小文字：p<0.05）

4-1-2 特殊毒性試験

4-1-2-1 変異原性試験

変異原性試験の結果を表 25 に示した。

in vitro 系で細菌を用いた復帰突然変異試験とチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた染色体異常試験が実施された。結果は、いずれの試験も陰性だった。

したがって、AM24 キシラナーゼに変異原性は認められないと判断された。

表 25 キシラナーゼの変異原性試験結果

分類	試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA98、TA100、 TA1535、TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2 _{uvrA}	17、50、167、500、1,667、5,000 μg/plate (+/-S9)	陰性	参照 19
	染色体異常試験	チャイニーズハムスターV79 細胞	20、39、78、156、313、625、 1,250、2,500、5,000 μg/mL (+/-S9) 6 h 処理後、14 h 培養	陰性	参照 20
			625、1,250、2,500、5,000 μg/mL (+S9) 6 h 処理後、16 h 培養		
			313、625、1,250、2,500、5,000 μg/mL (-S9) 22 h 処理、培養なし		
			313、625、1,250、2,500、5,000 μg/mL (-S9) 22 h 培養後、24 h 処理		

4-2 対象家畜等を用いた飼養試験

4-2-1 鶏（肉用鶏）

(1) 方法

ブロイラー（Ross308 種、雄雌、70 日齢、平均体重 44.8 g）を用いて、小麦と大豆粕を主体とした対照飼料（C 群）、対照飼料に AM24 キシラナーゼをそれぞれ 24,000（T1 群）、240,000 BXU/kg 飼料（T2 群）を添加した飼料、アジアで市販流通している別製品のキシラナーゼ（AM24 キシラナーゼとは異なるキシラナーゼ + β-グルカナーゼ）を陽性対照としてそれぞれ 24,000（T3 群）、240,000 BXU/kg 飼料（T4 群）を添加した飼料をそれぞれ 33 日間連続給与した（1 群 140 羽、8 反復）。

なお、1～14 日齢にはスターター用飼料を、15～29 日齢には肥育用飼料を、30～33 日齢には仕上げ用飼料をいずれも粉末状で給与した。

試験期間中の体重（試験開始時、14 日齢及び試験終了時）、飼料摂取量、死亡数及びと体について調査し、1 羽当たりの飼料摂取量、増体重、と体重量及び腹部脂肪率につ

いて計算した。

（２）統計解析

試験結果の解析は、各データの正規分布性を確認した後、死亡率は Kruskal-Wallis 検定で解析し、その他のデータは一元配置の分散分析で解析した。

（３）結果

各項目の結果を表 26 に示した。

1 日体重当たりの AM24 キシラナーゼ摂取量は、T1 群で 1,075 BXU/kg 体重/日、T2 群で 10,616 BXU/kg 体重/日だった。

平均増体重については、T2 群は C 群及び T1 群よりも有意に増加した。

平均飼料摂取量については、各群間で有意な差はなかった。

平均飼料要求率は、T2 群で C 群と比較して有意に低かった。

試験終了時の生体重及び死亡率については、各群間において有意な差はみられなかった。

と体重量においては、C 群と比較して、全キシラナーゼ添加群で有意に増加した。腹部脂肪率については、T1 群及び T2 群において有意に増加した。[参照 21]

表 26 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼの安全性（肉用鶏）

	対照飼料群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)		別製品のキシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	
		24,000	240,000	24,000	240,000
平均増体重 (g/日)	49.8 ^c	50.8 ^c	52.3 ^a	50.8 ^{bc}	52.0 ^{ab}
平均飼料摂取量 (g/羽)	2760	2770	2796	2736	2777
飼料要求率	1.631 ^a	1.605 ^{ab}	1.574 ^{bc}	1.583 ^{bc}	1.571 ^c
死亡率 (%)	1.92	1.71	2.66	2.40	2.24
試験終了時生体重 (g)	1697	1766	1806	1774	1849
と体重量 (%)	63.2 ^b	64.3 ^a	65.0 ^a	64.5 ^a	65.1 ^a
腹部脂肪 (%)	0.76 ^c	0.92 ^b	1.04 ^{ab}	0.87 ^c	0.99 ^{ab}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

4-2-2 鶏（産卵鶏）

（１）方法

産卵鶏（Hi-Line 種、17 週齢、平均体重不明）を用いて、小麦・大麦及びライ麦主体の陰性対照飼料（C 群）、陰性対照飼料に AM24 キシラナーゼを 12,000 BXU/kg 飼料（T1 群）、240,000 BXU/kg 飼料（T2 群）添加した飼料をそれぞれ 168 日間給与した（1 群 15 羽、16 反復）。

なお、最初の2週間は、2倍量のビタミン含有飼料を給与し、21週までは大麦及び小麦を主体とした産卵前用飼料を給与した。その後、産卵鶏推奨エネルギーより5%減じた陰性対照飼料を給与した。

試験期間中の体重（開始時及び終了時）、飼料摂取量、死亡個体数、産卵率、卵重について調査し、平均増体重、平均飼料摂取量及び卵重に対する平均飼料要求率を計算した。

（2）統計解析

試験結果のデータの解析は、完全乱塊法により行った。データの比較は、ブロックの位置を考慮した二元配置の分散分析及び各反復を試験単位とする GLM モデルを用いて、有意水準5%で実施した。群間の差は Duncan の多重範囲検定で確認した。

（3）結果

各項目の結果を表 27 に示した。

1日体重当たりの被験物質摂取量は、T1群で6,815 BXU/kg 体重/日、T2群で134,163 BXU/kg 体重/日と推定された。

平均増体重、平均産卵率及び平均卵重については、いずれの試験群においても有意な差はなかった。

平均飼料摂取量については、C群と比較して T2群では有意に少なかった。

死亡個体数については、C群で事故死1羽、T1群で卵塞症による1羽、T2群で卵塞症と原因不明の2羽が確認されたが、各群間の死亡率に有意な差はなかった。[参照 22]

表 27 鶏用飼料に添加したときのキシラナーゼの安全性（産卵鶏）

	陰性対照群	キシラナーゼ添加群（BXU/kg 飼料）	
		12,000	2,400,000
平均増体重（g）	87	114	101
平均産卵率（%）	87.1	86.6	85.7
平均卵重（g/個）	61.0	60.9	60.5
平均飼料摂取日量（g/日）	99.0 ^a	97.8 ^a	95.2 ^b
へい死数（羽）	1	1	2
へい死率（%）	0.42	0.42	0.83

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり（ $p < 0.05$ ）

4-2-3 豚

（1）方法

離乳子豚（ランドレース Pietrain 種、雌雄、週齢不明、平均体重 7.127～7.135 kg）を用いて、小麦及び大麦主体の対照飼料（C 群）とし、AM24 キシラナーゼを 24,000 BXU/kg 飼料（T1 群）及び 480,000 BXU/kg 飼料（T2 群）を対照飼料に添加した飼料をそれぞれ離乳後に連続給与した（1 群 4 頭、12 反復）。

本試験において、飼料摂取量が異常に高く、食べこぼしが原因と考えられたこと、感

感染症の発生によって死亡頭数が多かったことから、各群 6 頭について実施した血液検査及び剖検を除いて同じ条件で再試験を行った。

供試した対照飼料は、プレスターター飼料（ME 3180 kcal、リジン 1.40 %）及びプレスターター飼料（ME 3100 kcal、リジン 1.20 %）で、いずれも粉末のものをそれぞれ 14 日間及び 27 日間給与した。

体重及び飼料摂取量を試験開始時、試験開始後 14 日目及び試験終了時に測定した。試験期間を通して死亡頭数を確認し、下痢症状を呈した個体には治療を行い、記録した。

（２）結果の解析

体重、配置及び試験群に対応する 12 ブロックについて、二元配置の分散分析を有意水準 10% で実施した。直交線形対比を用いて以下の比較を行った。

添加酵素の効果：C 群と添加群（T1 群及び T2 群）間

安全性：T1 群と T2 群間

（３）結果

試験①の各項目の結果を表 28 に示した。

1 日体重当たりの平均被験物質摂取量は、試験①では T1 群で 959～2,994 BXU/kg 体重/日、T2 群で 18,135～37,178 BXU/kg 体重/日だった。試験②では T1 群で 617～1,711 BXU/kg 体重/日、T2 群で 12,480～35,925 BXU/kg 体重/日と推定された。

平均増体重、平均飼料摂取量及び平均飼料要求率試験については、試験②の各期間及び全期間を通して、対照群と添加各群間に有意差は認められなかった。

へい死数及び淘汰数については、試験①では肺炎、大腸菌症等により 16 頭が死亡し、2 頭が淘汰された。試験②では、肺炎、大腸菌症により 6 頭が死亡し、1 頭が淘汰された。

試験①で行った血液学的検査において、赤血球数及び白血球数は、T1 群が T2 群よりも有意に高かったが、キシラナーゼ添加群間と C 群の間に有意な差はなかった。

血液生化学的検査においては、アラニン・アミノトランスフェラーゼ（AST、GOT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ALT、GPT）は、C 群と比較してキシラナーゼ添加群で有意に低かった。いずれの所見も正常値範囲内の変動であった。

剖検においては、胃粘膜のわずかなうっ血がみられたが、この所見は全群でみられた。
[参照 23]

表 28 豚用飼料に添加したときのキシラナーゼの安全性

			陰性対照群	キシラナーゼ添加群 (BXU/kg 飼料)	
				24,000	480,000
試験 ①	平均増体重 (g/日)		385	369	365
	平均飼料摂取量 (g/日)		719	849*	835*
	平均飼料要求率		1.87	2.34*	2.34*
	へい死数 (頭)		2	7	7
	淘汰数 (頭)		—	2	—
試験 ②	平均増体重 (g/日)		394	362	384
	平均飼料摂取量 (g/日)		635	582	612
	平均飼料要求率		1.62	1.62	1.60
	へい死数 (頭)		2	1	3
	淘汰数 (頭)		1	—	—
試験 ①	血液学的検査	赤血球数 (10 ⁶ /mm ³)	6.72	7.12 ^a	6.58 ^b
		ヘマトクリット値 (%)	38.4	40.3	37.4
		ヘモグロビン (g/100mL)	11.7	12.2	11.4
		MCV (fL)	57.0	56.6	56.9
		MCH (pg)	17.4	17.2	17.3
		MCHC (g/100mL)	30.5	30.4	30.4
		血小板 (10 ⁹ /L)	568	530	650
		白血球数 (10 ³ /mm ³)	10.2	12.6 ^a	9.4 ^b
		好酸球 (%)	1.60	1.83	1.83
	血液学的検査	好塩基球 (%)	0	0	0
		桿状核球 (%)	1.40	1.33 ^a	0.67 ^b
		分葉核好中球 (%)	53.4	48.8	53.0
		リンパ球 (%)	42.0	46.7	43.3
		単球 (%)	1.60	1.33	1.17
	血液生化学的検査	アルブミン (g/100mL)	3.47	3.48	3.31
		タンパク質 (g/100mL)	5.10	5.20	5.02
		AST (U/L)	65.8 ^a	47.7 ^b	47.5 ^b
		ALT (U/L)	49.7 ^a	38.2 ^b	42.7 ^b

MCV：平均赤血球容積、MCH：平均赤血球ヘモグロビン量、MCHC：平均赤血球ヘモグロビン濃度
各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.1)

*対照群と比較して有意に高い値となり、それに伴って飼料要求率も有意に高い値となったが、添加群間での有意差は認められなかった。

5 審議結果

AM24 キシラナーゼの効果安全性について審議した。

「飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進」を本剤の効果とし、飼料に添加することは適当であると判断された。

①本剤の効果：飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進

②給与対象：鶏、うずら、豚

6 参照（参考文献及び参考資料）

1. Serena, A.; Jorgensen, H.; Bach Knudsen, K. E. Digestion of carbohydrates and utilization of energy in sows fed diets with contrasting levels and physicochemical properties of dietary fiber, *J. Anim. Sci.*, **2008**, *86*, 2208-2216.
2. Van Lunen, T. A.; Schulze, H. Influence of *Trichoderma longibranchiatum* xylanase supplementation of wheat and corn based diets on growing performance pigs, *Can. J. Anim.Sci.*, **1996**, *76*, 271-273.
3. Diebold, G.; Mosenthin, R.; Piepho, H.-P.; Sauer, W.C. Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and feces, *J. Anim. Sci.*, **2004**, *82*, 2647-2656.
4. Meng, X.; Slominski, B.A.; Nyachot, C.M.; Campbell, L.D.; Guenter, W. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance, *Poult. Sci.*, **2005**, *84*, 37-47.
5. EC No. 902/2009.
6. EC No. 1110/2011.
7. AB Enzymes, Research report no.: 204160（社内資料）
8. AB Enzymes, Research report no.: 206382a（社内資料）
9. AB Enzymes, The Efficacy of xylanase in broiler chickens fed a wheat-rye-triticale based diet（社内資料）
10. Effect dietary supplementation of enzyme (ECONASE XT) on broiler chickens performance and nutrient digestibility（社内資料）
11. AB Vista, The effects of xylanase on the performance laying hens（社内資料）
12. AB Enzymes, The effect of ECONASE®XT supplementation on the ileal and faecal digestibility of nutrients in growing pigs（社内資料）
13. Poznan University of Life Science で実施した試験（社内資料）
14. Final report from the research on: The efficacy of 2 xylanases in weaned piglet feeding（社内資料）
15. AB Enzymes, Effect of 2 enzymes (a NEW XYLANASE and ECONASE WHEAT P PLUS) in wheat rich diets on the zootechnical performance of broilers（社内資料）
16. New xylanase in laying hens: Efficacy trial（社内資料）
17. Final report of the experiment on Efficacy of xylanase in diet for fattening pigs (trial code XT 18)（社内資料）
18. Xylanase 13 week toxicity study incorporating neurotoxicity screen in rats with administration by gavage report number 24445（社内資料）
19. Xylanase testing for Mutagenic Activity with *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA1537, TA98 and TA100 and *Escherichia coli* WP2uvrA report number 24411

(社内資料)

20. AB Enzymes, Xylanase Chromosomal Aberrations Assay with Chinese Hamster Ovary Cell Cultures In Vitro (社内資料)
21. Efficacy of NSP enzymes in poultry Report V 0303 (社内資料)
22. Effect ECONASE XT on performance of laying hens when applied at recommended and overdosed level (社内資料)
23. Efficacy and tolerance assessment of xylanase in piglets fed a basal diet based on wheat (社内資料)

キシラナーゼ（その２）の成分規格等（案）

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

飼料一般の製造方法の基準

キシラナーゼ（その２）は、豚、鶏、うずらを対象とする飼料（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。

2. 各飼料添加物の成分規格及び製造の方法等の基準

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、1 g 中に 30,000 キシラン糖化力単位以上を含む。

物理的・化学的性質

- ① 本品は、茶褐色の液体で、特異な臭いを有する。
- ② 本品の水溶液（1→100）の pH は、3.5～4.5 である。
- ③ 本品は、pH6.0～6.5 において最大の酵素活性を有する。

純度試験

- ① 鉛 本品 1.0g (0.95～1.04g) を量り、重金属試験法第 2 法により試料溶液を調製し、鉛標準液 5.0mL を用いて比較液を調製して重金属の試験を行うとき、試料溶液の呈する色は、比較液の呈する色より濃くてはならない(50μg/g 以下)。
- ② ヒ素 キシラナーゼ（その１）製造用原体の純度試験②を準用する。
- ③ 抗菌活性 キシラナーゼ（その１）製造用原体の純度試験③を準用する。

強熱残分 10.0%以下 (1.0g)

酵素力試験 キシラン糖化力試験法第 2 法により試験を行う。

試料溶液の調製 キシラナーゼ約 7,500 キシラン糖化力単位を含む本品を有効数字 3 桁まで量り、その数値を記録し、25mL 全量フラスコに入れ、クエン酸ナトリウム緩衝液（0.05mol/L、pH5.3）を標線まで加えて 25mL とする。この溶液を試験反応溶液と試験対照溶液の吸光度差が 0.2～0.4 の範囲になるように同緩衝液で正確に希釈し、試料溶液とする。

(4) 製造の方法の基準

Trichoderma reesei に属する菌株を宿主としたキシラナ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、さらに遠心分離してからその上清をろ過し、菌体を除去して製造すること。

(5) 保存の方法の基準

遮光した密閉容器に保存すること。

(2) 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 液状）

(7) 成分規格

本品は、キシラナーゼ（その 2）製造用原体にソルビトール、安息香酸ナトリウム及び水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、表示キシラン糖化力単位の 85～170%を含む。

酵素力試験 キシラン糖化力試験法第 2 法により試験を行う。

試料溶液の調製 キシラナーゼ（その 2）製造用原体の酵素力試験を準用する。

(4) 保存の方法の基準

キシラナーゼ（その 2）製造用原体の保存の方法の基準を準用する。

(5) 表示の基準

キシラナーゼ（その 2）製造用原体の表示の基準を準用する。

ウ 製剤（その 2）

(7) 成分規格

本品は、キシラナーゼ（その 2）製造用原体に、賦形物質を混和した粉末である。

酵素力単位 本品は、酵素力試験を行うとき、表示キシラン糖化力単位の 85～170%を含む。

酵素力試験 キシラン糖化力試験法第 2 法により試験を行う。

試料溶液の調製 キシラナーゼ約 9,300 キシラン糖化力単位を含む本品を有効数字 3 桁まで量り、その数値を記録し、クエン酸ナトリウム緩衝液（0.05mol/L、pH5.3）を加えて溶かし、室温で 20 分間攪拌した後、50mL 全量フラスコに入れ、同緩衝液を標線まで加えて 50mL とする。この溶液を試験反応溶液と試験対照溶液の吸光度差が 0.2～0.4 の範囲になるように同緩衝液で正確に希釈し、試料溶液とする。

(4) 保存の方法の基準

キシラナーゼ（その 2）製造用原体の保存の方法の基準を準用する。

(㊦) 表示の基準

キシラナーゼ（その2）製造用原体の表示の基準を準用する。

3. 飼料添加物一般の試験法

(14) 酵素力試験法

① キシラン糖化力試験法

(ii) 第2法

基質溶液の調製

キシラン 1.00 g (0.95~1.04g) を量り、60℃のクエン酸ナトリウム緩衝液 (0.05mol/L、pH5.3) 80mL を加えて攪拌しながら徐々に加えた後、沸点まで熱して溶解し、攪拌しながら室温になるまで徐々に温度を下げる。その後 100mL の全量フラスコに入れ、同緩衝液を標線まで加えて 100mL とする。

保管する場合は-20℃とする。

操作法

試料溶液は、各条で規定する方法で調製する。基質溶液 1.8mL をマイクロピペットを用いて量り、試験管に入れ、50℃の水浴中に5分間放置した後、マイクロピペットを用いて試料溶液 0.2mL を加え、よく振り混ぜ、50℃の水浴中で正確に5分間加熱する。水浴から試験管を取り出し、3,5-ジニトロサリチル酸試液 3.0mL を加え、よく振り混ぜた後、試験管を 100℃の水浴中で正確に5分間加熱し、その後 21℃の水浴中で5分間冷却し、試験反応液とする。この溶液につき、波長 540nm における吸光度 A_T を測定する。

別に、基質溶液 1.8mL をマイクロピペットを用いて量り、試験管に入れ、クエン酸ナトリウム緩衝液 (0.05mol/L、pH5.3) 0.2mL を加え、よく振り混ぜた後、3,5-ジニトロサリチル酸試液 3.0mL を加え、以下試験反応液の調製と同様に操作して得た溶液を試験対照液とし、波長 540nm における吸光度 A_B を測定する。

$$\text{1g 中のキシラン糖化力単位} = \frac{(A_T - A_B) \times F \times V \times Z \times 0.299}{W \times 3}$$

F : 検量線から求めた吸光度差 1 に対応するキシロース濃度 ($\mu\text{mol/mL}$)

V : 試料溶液の定容量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

Z : 希釈倍率

検量線の作成

デシケーター（シリカゲル）中で 24 時間以上乾燥したキシロース 150mg を 0.1mg の桁まで量り、その数値を記録し、クエン酸ナトリウム緩衝液

(0.05mol/L、pH5.3)を加えて溶かし、100mLの全量フラスコに入れ、さらにクエン酸ナトリウム緩衝液(0.05mol/L、pH5.3)を標線まで加えて、100mLとし、標準原液とする。この標準原液1mLは、キシロース($C_5H_{10}O_5$)10 μ molを含む。

標準原液の一定量を試験管に入れ、標準液S1とする。別に、標準原液の一定量をそれぞれ試験管に入れ、クエン酸ナトリウム緩衝液(0.05mol/L、pH5.3)で正確に2倍、3倍、5倍希釈し、標準液S2、S3、S4を調製する。基質溶液1.8mLをマイクロピペットを用いて量り、試験管に入れ、マイクロピペットを用いて各標準液0.2mLをそれぞれ加え、さらに全量ピペットを用いて3,5-ジニトロサリチル酸試液3mLを加え、よく振り混ぜた後、100℃の水浴中で正確に5分間加熱した後、21℃の水浴中で5分間冷却する。これらの溶液につき、波長540nmにおける吸光度 A_{S1} 、 A_{S2} 、 A_{S3} 及び A_{S4} を測定する。

別に、基質溶液1.8mLをマイクロピペットを用いて量り、試験管に入れ、マイクロピペットを用いてクエン酸ナトリウム緩衝液(0.05mol/L、pH5.3)0.2mLをマイクロピペットを用いて加え、さらに全量ピペットを用いて3,5-ジニトロサリチル酸試液3mLを加え、以下同様の方法で操作し、吸光度 A_{S0} を測定する。

吸光度差($A_{S1}-A_{S0}$)、($A_{S2}-A_{S0}$)、($A_{S3}-A_{S0}$)、($A_{S4}-A_{S0}$)を縦軸に、キシロース濃度(μ mol/mL)を横軸にとり、検量線を作成する。

4. 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、容量分析法標準液、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法の規定

(2) 試薬・試液

クエン酸ナトリウム緩衝液(pH2.2)

(略)

クエン酸ナトリウム緩衝液(0.05mol/L、pH5.3)

クエン酸10.5g(10.45~10.54g)に水800mLを加えて溶かし、1mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH5.3に調整した後、水を加えて1000mLとする。