

飼料添加物の基準の見直し

(二ギ酸カリウムの対象飼料拡大)

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 12 月 25 日付け 5 消安第 5492 号をもって諮問された二ギ酸カリウムを含む飼料の基準の改正について、飼料添加物効果安全性小委員会において検討した。その概要は次のとおりである。

1. 基準を改正する飼料添加物

飼料添加物名：二ギ酸カリウム

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 12 月 25 日 諮問

令和 5 年 12 月 25 日 飼料添加物効果安全性小委員会

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. 2～37 のとおり）

基準を作成した（資料 P. 38 のとおり）。

飼料添加物の効果安全性について（案）

二ギ酸カリウム

令和6年3月12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	3
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	3
3	効果に関する事項	4
3-1	効果を裏付ける基礎的試験 (<i>in vivo</i> 試験)	4
3-1-1	豚	4
3-1-1-1	試験 1	4
3-1-1-2	試験 2	4
3-1-2	豚	5
3-1-3	豚	6
3-1-4	豚	7
3-1-5	豚	9
3-1-6	豚	10
3-1-7	豚	12
3-1-8	豚	13
3-2	効果を裏付ける野外応用による試験	14
3-2-1	豚	14
3-2-2	豚	15
3-2-3	豚	16
3-2-4	豚	17
3-2-5	豚	18
3-2-6	豚	18
3-2-7	豚	19
3-2-8	豚	20
4	残留性に関する事項	21
4-1	残留性試験	21
4-1-1	豚	21
4-1-2	豚	22
5	安全性に関する事項	23
5-1	毒性試験	23
5-1-1	一般毒性試験	23
5-1-1-1	単回投与毒性試験	23
5-1-1-2	反復投与毒性試験 (短期)	24
5-1-2	特殊毒性試験	27
5-1-2-1	変異原性試験	27
5-1-3	局所毒性試験	27
5-1-3-1	皮膚刺激性試験	27
5-1-3-2	眼粘膜刺激性試験	27
5-1-3-3	吸入毒性試験	28
5-1-3-4	その他の毒性試験	28
5-2	対象家畜等を用いた飼養試験	28
5-2-1	豚	28
5-2-2	豚	29
5-2-3	豚	30
5-2-4	豚	31

5-2-5	豚	32
5-2-6	豚	33
5	審議結果	34
6	参照（参考文献及び参考資料）	35

ニギ酸カリウムに関する効果安全性について

1 名称等

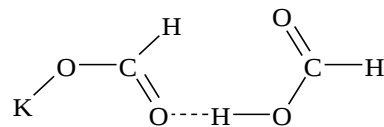
一般名：ニギ酸カリウム (Potassium diformate)

化学名：ニギ酸カリウム

化学式：C₂H₃O₄K (分子量 130.5)

CAS 番号：20642-05-1

化学構造式：



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：

豚用（種豚を除く。）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1.80%以下

種豚用・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1.20%以下

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

ニギ酸カリウムは、ギ酸とギ酸カリウムから合成される結晶性の粉末である。

我が国においては、2008年8月29日に体重がおおむね70kg以内の豚（種豚育成中のものを除く。）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。）に1.8%を上限とした新規飼料添加物として指定された。

本剤は、欧州において、2001年、2002年に評価が実施され（資料1,2）、欧州では2003年に2か月齢未満を対象としては乳期子豚用飼料に0.6%～1.8%、子豚期用並びに肥育期用飼料に0.6%～1.2%の添加量で使用する飼料添加物として登録された（資料3）。また、2005年には、母豚用飼料に0.8%～1.2%の添加量で使用する飼料添加物として登録された（資料4）。2006年、2020年の再評価においても有害性を示す新たな知見は得られず、飼料添加物として推奨される範囲で使用される限りは消費者への有害性はないと評価されている。（資料5,6）その他、現在、オーストラリア、中国、台湾、フィリピン、ベトナムなどでも飼料添加物として使用されている。

3 効果に関する事項

3-1 効果を裏付ける基礎的試験 (*in vivo* 試験)

3-1-1 豚

3-1-1-1 試験 1

(1) 方法

離乳後のほ乳期の子豚（ジャーマンランドレース×ピートレイン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 6.7 kg）に对照飼料と、对照飼料に陽性对照としてギ酸を 0.85% 添加した飼料、对照飼料に二ギ酸カリウムを、0.65、1.30、1.95% 添加した飼料をそれぞれ、42 日間給与した。（1 群 6 頭、2 反復）。

なお、1～21 日はプレスターター飼料、22 日～42 日はスターター飼料を給与した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析において F 値に有意差 ($P<0.05$) があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定：Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。また、对照群との比較については Dunnett 検定で解析した。

(3) 結果

試験の結果を表 1 に示した。

平均増体重について、对照群と比較して 1.95% 添加群で有意な差に増加した。

飼料要求率は各群において对照群と比較して有意な差が見られた。

飼料摂取量については、有意な差が認められなかった。[資料 7]

表 1 ほ乳期子豚の飼料に添加したときの飼養成績

	無添加群	二ギ酸カリウム添加群 (%)			ギ酸添加群
		0.65	1.30	1.95	
飼料摂取量 (g/日)	768	860	780	845	817
平均増体重 (g/日)	476	544	509	555*	523
飼料要求率	1.62 ^a	1.59 ^{ab}	1.53 ^{bc}	1.52 ^c	1.57 ^{bc}

各値は平均値

*:对照群と比較して有意差あり ($p<0.05$)

各項目内の異文字間に有意差あり ($p<0.05$)

3-1-1-2 試験 2

(1) 方法

離乳後のほ乳期の子豚（ジャーマンランドレース×ピートレイン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 33.2kg）に对照飼料と、对照飼料に二ギ酸カリウムを、0.65、1.30、1.95% 添加した飼料をそれぞれ、85 日間給与した。（1 群 12 頭、1 反復）。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析において F 値に有意差 ($P<0.05$) があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定：Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。また、对照群との比較については Dunnett 検定で解析した。

(3) 結果

試験結果について表 2 に示した。

飼料要求率は対照群と比較して、1.95%添加群で有意に改善した。

平均増体重および飼料摂取量については、有意な差が認められなかった。

表 2 豚の飼料に添加したときの飼養成績

	無添加群	二ギ酸カリウム添加群 (%)		
		0.65	1.30	1.95
飼料摂取量 (g/日)	2,179	2,202	2,197	2,186
平均増体重 (g/日)	816	859	844	864
飼料要求率	2.68 ^a	2.57 ^{ab}	2.61 ^{ab}	2.54 ^b

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-1-2 豚

(1) 方法

ほ乳期子豚（ドイツランドレース×ピートレイン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 6.4 kg）を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 1.6%添加した飼料を 42 日間給与した（1 群 24 頭、1 反復）。

43 日目以降は、各群を 2 分割し、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 0.8%添加した飼料を 132 日目まで給与した。（1 群 12 頭、1 反復）。[資料 8]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析において F 値に有意差 (P<0.05) があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定：Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。

(3) 結果

試験結果について、表 3 に示した。

ほ乳期子豚（1 日目～42 日目）では、二ギ酸カリウムの添加により飼料要求率が有意に改善した。

子豚・肥育豚期においては、平均増体重および飼料要求率について無添加群（0、1.6→0%）と比較して、二ギ酸カリウム 0.8%添加群（0→0.8%）で有意に増加、改善した。

全期間を通して、飼料要求率について無添加群（1.6→0%）と比較して、二ギ酸カリウム 0.8%添加群（0→0.8%）で有意な差が見られた。

表 3 豚用飼料に添加したときの飼養成績

ほ乳期子豚（1～42 日間）	無添加群		二ギ酸カリウム 1.6%添加群	
平均増体重（g/日）	471		504	
飼料摂取量（g/日）	733		753	
飼料要求率	1.56 ^a		1.49 ^b	
子豚・肥育豚（43～132 日間）	無添加群	二ギ酸カリウム 0.8%添加群	無添加群	二ギ酸カリウム 0.8%添加群
平均増体重（g/日）	740 ^b	783 ^a	732 ^b	760 ^{ab}
飼料摂取量（g/日）	1,954	1,997	1,983	2,002
飼料要求率	264 ^{ab}	2.55 ^b	2.71 ^a	2.64 ^{ab}
全期間（1～132 日間）	無添加群	二ギ酸カリウム添加群（0→0.8%）	二ギ酸カリウム添加群（1.6→0%）	二ギ酸カリウム添加群（1.6→0.8%）
平均増体重（g/日）	655	683	660	678
飼料摂取量（g/日）	1566	1595	1592	1604
飼料要求率	2.39 ^{ab}	2.33 ^b	2.41 ^a	2.36 ^{ab}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり（ $p<0.05$ ）

3-1-3 豚

（1）方法

ほ乳期子豚（ドイツランドレース×ピートレイン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 7.5kg）を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4、2.8%添加した飼料を 42 日間給与した。（1 群 6 頭、1 反復）。

なお、1～21 日はプレスターター飼料、22 日～42 日はスターター飼料を給与した。

[資料 9]

（2）統計解析

試験結果の解析は、分散分析において F 値に有意差（ $P<0.05$ ）があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定：Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。

（3）結果

試験結果について、表 4 に示した。

平均増体重は、対照飼料と比較して 2.0%添加群で有意に増加した。

飼料要求率については、対照飼料と比較して 2.0、2.4、2.8%添加群で有意に改善した。

飼料摂取量については、各添加群において有意差は認められなかった。

表 4 豚用飼料に添加したときの飼養成績

ほ乳期子豚 (1 ～42 日間)	対照	二ギ酸カリウム添加群 (%)						
		0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	2.4	2.8
平均増体重 (g/日)	483 ^b	518 ^{ab}	509 ^{ab}	535 ^{ab}	559 ^{ab}	589 ^a	543 ^{ab}	557 ^{ab}
飼料摂取量 (g/日)	765	813	792	844	854	881	801	838
飼料要求率	1.59 ^a	1.57 ^{ab}	1.55 ^{abc}	1.58 ^{ab}	1.53 ^{bcd}	1.49 ^d	1.47 ^d	1.50 ^{cd}

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-1-4 豚

(1) 方法

子豚 (ランドレース×ピエトレン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 9.0 kg) を用いて、飼料に二ギ酸カリウムを 2 水準 (無添加、1.8%)、飼料用リジンを 4 水準 (0.875、1.0、1.125、1.25%) の二元配置計 8 区の添加群の飼料をそれぞれ、14 日間給与した。給与期間においては、制限給餌を行った (1 群 3 頭、2 反復)。[資料 10]

(2) 統計解析

試験結果については、分散分析において F 値に有意差 (P<0.05) があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定 : Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。

(3) 結果

試験結果について、表 5 及び表 6 に示した。

窒素出納について、二ギ酸カリウム添加区は対照区に比べて糞中及び尿中の N 排泄量、N 蓄積量及び N 利用率が有意に改善した。またリジンの増加に伴い尿中排泄 N は有意に減少し、N 蓄積量および N 利用率は有意に増加した。

二ギ酸カリウム添加群は粗タンパク質ほかの、見かけの消化率も有意に改善した。

消化率については、リジン添加の影響は認められなかった。

表 5 窒素出納（代謝体重あたり）

	姓名	项目					
		100米	200米	400米	800米	1600米	3200米
男子组	1	12.5	25.0	50.0	1:00.0	2:00.0	4:00.0
	2	13.0	26.0	52.0	1:02.0	2:05.0	4:10.0
	3	13.5	27.0	54.0	1:04.0	2:10.0	4:20.0
女子组	1	15.0	30.0	60.0	1:10.0	2:20.0	4:40.0
	2	16.0	32.0	64.0	1:15.0	2:30.0	4:50.0
	3	17.0	34.0	68.0	1:20.0	2:40.0	5:00.0

*) 直行比較による二ギ酸カリウムの有意な差のある項目 (p<0.05)

各項目内の異文字間に有意差あり ($p<0.05$)

表 6 一般成分及びエネルギーの消化率

*) 直行比較による二ギ酸カリウムの有意な差のある項目 (p<0.05)

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-1-5 豚

(1) 方法

ほ乳期子豚（ランドレース×ピエトレン、週齢不明、平均体重 11 kg）を用いて、飼料に二ギ酸カリウムを 2 水準(無添加、1.8%)、飼料用リジンを 4 水準(0.875%、1.0%、1.125%、1.25%)の二元配置計 8 区の添加群の飼料をそれぞれ、7 日間給与した。飼料は制限給与とし、水は 1 日 3 回の給与とした。(1 群 1 頭、6 反復)。[資料 11]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、代謝体重 1 kg 当たりの乾物摂取量を共変数とした分散分析により分析した。

(3) 結果

結果について、表 7 に示した。

消化率については、P、K、Cu で対照群と二ギ酸カリウム添加群を比較して有意に改善した。

蓄積率については、P、K、Ca、Cu で対照群と二ギ酸カリウム添加群を比較して有意に改善した。

その他の無機物の消化率及び蓄積率については K の蓄積率をのぞいて、増加傾向が見られたが、有意な差は認められなかった。

表 7 各種無機物の消化率及び蓄積率（最小 2 乗平均）

	対照群	二ギ酸カリウム 1.8%添加群
P 消化率 (%)	50.6 ^a	54.7 ^b
P 蓄積率 (%)	50.6 ^a	54.6 ^b
K 消化率 (%)	71.0 ^a	82.0 ^b
K 蓄積率 (%)	28.2 ^b	20.2 ^a
Ca 消化率 (%)	54.5	56.5
Ca 蓄積率 (%)	51.7 ^a	55.1 ^b
Mg 消化率 (%)	26.8	27.5
Mg 蓄積率 (%)	16.9	18.2
Zn 消化率 (%)	17.1	18.7
Zn 蓄積率 (%)	13.7	16.0
Cu 消化率 (%)	8.9 ^a	13.7 ^b
Cu 蓄積率 (%)	8.0 ^a	12.8 ^b
Mn 消化率 (%)	9.0	9.6
Mn 蓄積率 (%)	8.5	9.0

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-1-6 豚

(1) 方法

ほ乳期子豚（ドイツランドレース×ピートレイン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 7.3kg）を用いて、低エネルギー飼料（13.0 MJ ME/kg、CP18.6%）と高エネルギー飼料（14.0MJ ME/kg、CP20.0%）にそれぞれ二ギ酸カリウムを 0、1.8%添加した飼料を 45 日間給与した。（1 群 1 頭、12 反復）。【試験 I】

また、ほ乳期子豚（ドイツランドレース、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 9.1 kg）を用いて、同一の試験設計で試験を行った（1 群 3 頭、6 反復）。【試験 II】

試験報告については、衛生的な環境下での報告が多いことから、【試験 I】については衛生的な試験環境で実施され、【試験 II】については野外環境により実施された。

試験期間中に、週に 1 度体重を測定し、週に 2 度飼料摂取量を記録し、飼料要求率を算出した。

試験期間を通して、下痢の発生頻度を記録した。[資料 12]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、処理群と未処理群（【試験 I】）、反復群、処理群、未処理群（【試験 II】）を用いて、SAS による偏差の解析が行われた。分散分析において F 値に有意差(P<0.05)があった場合、平均値の差の分析を SNK 検定：Student-Newman-Keuls-Test を用いて行った。

(3) 結果

【試験 I】の結果を表 8 に示した。

平均増体重について、低エネルギー飼料と比較して、高エネルギー飼料では有意に高いものとなったが、二ギ酸カリウム添加低エネルギー飼料と無添加高エネルギー飼料では有意な差は認められなかった。

飼料要求率について、低エネルギー飼料で二ギ酸カリウム無添加群と添加群を比較して有意に改善され、高エネルギー飼料では、有意な差は認められなかった。

下痢の発生頻度については、両飼料において二ギ酸カリウム添加群で減少傾向が見られた。

【試験Ⅱ】の結果を表 9 に示した。

平均増体重および飼料要求率については、低エネルギー飼料において、無添加群と添加群で有意に増加した。高エネルギー飼料においては、有意な差は認められなかった。

下痢の発生頻度については、両飼料において二ギ酸カリウム添加群で減少傾向が見られた。

表 8 【試験Ⅰ】の飼養成績

	低エネルギー飼料 (13.0MJ ME/kg、CP18.6%)		高エネルギー飼料 (14.0MJ ME/kg、CP20.0%)	
	無添加群	1.8%添加群	無添加群	1.8%添加群
平均増体重 (g/日)	434 ^b	467 ^{ab}	496 ^a	493 ^a
(相対値)	100	108	114	114
飼料摂取量 (g/日)	696	706	712	688
飼料要求率	1.60 ^a	1.51 ^b	1.44 ^c	1.40 ^c
(相対値)	100	94	90	88
下痢の発生日数 (日)	20/504	3/504	28/504	10/504

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 9 【試験Ⅱ】の飼養成績

	低エネルギー飼料 (13.0MJ ME/kg、CP18.6%)		高エネルギー飼料 (14.0MJ ME/kg、CP20.0%)	
	無添加群	1.8%添加群	無添加群	1.8%添加群
平均増体重 (g/日)	423 ^a	498 ^b	460 ^{ab}	466 ^{ab}
(相対値)	100	118	109	110
飼料摂取量 (g/日)	758	821	740	748
飼料要求率	1.75 ^a	1.64 ^b	1.56 ^c	1.58 ^c
(相対値)	100	94	89	90
下痢の発生日数 (日)	330/756	236/756	362/756	317/756

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-1-7 豚

（１）方法

ほ乳期子豚〔(ラージホワイト×ランドレース) × (ハンプシャー×ラージホワイト)、雄雌、21 日齢、平均体重 6.0～6.1 kg〕を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 1.8%添加した飼料、陽性対照として対照飼料に、タイロシンを 40 ppm 添加した飼料を 14 日間（1～7 日：予備飼育期間）給与した（1 群 5 頭、1 反復）。

試験開始後、8,9 日目に病原性 *E.coli*（O149、K89、K88ac）を 10^9 個投与し、育成成績と下痢の発生について測定した。[資料 13]

（２）統計解析

試験結果の解析は、分散分析により評価した。

（３）結果

結果について、表 10 に示した。

予備飼育期間中に飼料摂取量が不良であった 2 個体（二ギ酸カリウム添加群並びにタイロシン添加群で各 1 頭）を試験から除外した。

平均増体重、増体日量について、無添加群と比較して、二ギ酸カリウム添加群とタイロシン添加群で、増加傾向が見られたが、有意な差は認められなかった。

飼料摂取量と飼料要求率については、無添加群と比較して改善傾向が見られたが、有意な差は認められなかった。

下痢の発生について、無添加群では、下痢が 3 頭、軟便が 4 頭、二ギ酸カリウム添加群では下痢が 1 頭、軟便が 2 頭、タイロシン添加群では下痢は認められず、軟便が 2 頭確認された。この下痢及び軟便は投与した大腸菌性の下痢であると考えられた。

表 10 病原性 E.coli を投与した豚における各添加群飼養成績

		無添加群		二ギ酸カリウム 1.8%添加群		タイロシン 40ppm 添加群	
平均増体重 (kg/14 日間)		3.8		3.9		4.0	
増体日量 (g/日)		271		279		286	
平均飼料摂取量 (g/14 日間)		5870		5658		5690	
飼料摂取日量 (g/日)		417		404		406	
飼料要求率		1.54		1.45		1.42	
飼料要求率 (個体別平均)		1.57		1.71		1.47	
個体別糞 便性状 (発症 日)		下痢	軟便	下痢	軟便	下痢	軟便
	個体 1	9,10,11	12,13,14,15	-	14,15	-	9
	個体 2	-	-	-	7,8,9	-	9,10
	個体 3	-	6,10,12,13,14	14	-	-	-
	個体 4	12	13,14,15				
	個体 5	10	11				

各値は平均値

3-1-8 豚

(1) 方法

離乳後子豚（品種不明、週齢不明、平均体重 7.6 kg）を用いて、通常飼料と低タンパク飼料に二ギ酸カリウムを添加した飼料、抗生物質（アビラマイシン又はタイロシン）を 40 ppm 添加した飼料を試験期間前半（離乳後 0～2 週目）と試験期間後半（離乳後 2～7 週目）で添加量及び添加物質を変え、それぞれ 7 週間給与した。

試験期間前半（離乳後 0～2 週目）では、通常飼料と低タンパク飼料（通常飼料比較 95%CP）に二ギ酸カリウムを 1.8%添加した飼料とアビラマイシンを 40 ppm 添加した飼料を給与した。

試験期間後半（離乳後 2～7 週目）では、通常飼料と低タンパク飼料（通常飼料比較 95%CP）に二ギ酸カリウムを 1.2%添加した飼料とタイロシンを 40 ppm 添加した飼料を給与した。[資料 14]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析により評価した。

(3) 結果

試験結果について、表 11、表 12 に示した。

飼料要求率について、全期間の抗生物質添加群と二ギ酸カリウム添加群を比較して有意に改善された。

平均増体重および飼料摂取量については、抗生物質添加群と二ギ酸カリウム添加群で有意な差は認められず、同等以上の成績を示した。

表 11 各試験期間における飼養成績

	抗生物質添加群	二ギ酸カリウム添加群 (通常飼料)	二ギ酸カリウム添加群 (低タンパク飼料)
0～2 週目	アビラマイシン 40ppm	1.8%	1.8%
CP% (設計値/測定値)	20.2/19.3	20.3/19.6	19.3/18.3
平均増体重 (g/日)	220	230	225
平均飼料摂取量 (kg/日)	0.31	0.30	0.30
飼料要求率	1.41 ^a	1.29 ^b	1.33 ^{ab}
2～7 週目	タイロシン 40ppm	1.2%	1.2%
CP% (設計値/測定値)	20.4/19.9	20.4/19.9	19.4/18.9
平均増体重 (g/日)	599	626	621
平均飼料摂取量 (g/日)	1.03	1.01	1.01
飼料要求率	1.67	1.62	1.62

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 12 全期間における飼養成績

	抗生物質添加群	二ギ酸カリウム添加群 (通常飼料)	二ギ酸カリウム添加群 (低タンパク飼料)
平均増体重 (g/日)	483	505	500
平均飼料摂取量 (kg/日)	0.81	0.79	0.79
飼料要求率	1.63 ^a	1.57 ^b	1.58 ^{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)

3-2 効果を裏付ける野外応用試験

3-2-1 豚

(1) 方法

離乳子豚 (LWD 種、雌及び去勢雄、21～24 日齢、平均体重 7.3kg) を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 1.0、1.8、2.6% 添加した飼料と陽性対照としてフ

マル酸を 2.0%添加した飼料をそれぞれ 6 週間連続給与した。(1 群 6 頭、4 反復)。^[資料 15]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、2 元配置分散分析を行い、有意差を検定した。有意差 ($P \leq 0.05$) が認められた場合は、Tukey の法により多重比較を行った。

(3) 結果

結果について、表 13 に示した。

平均増体重、飼料摂取量、平均飼料摂取量については、無添加群と比較して良好な結果を示した。

飼料要求率については、無添加群及びフマル酸添加群と比較して、二ギ酸カリウム 2.6%添加群で有意に改善した。

表 13 豚用飼料に添加した際の飼養成績

	無添加群	二ギ酸カリウム添加群 (%)			フマル酸添加群 (%)
		1.0	1.8	2.6	
平均増体重 (kg/頭)	21.1	21.2	22.9	23.6	23.5
平均飼料摂取量 (kg/頭)	39.28	38.20	39.88	39.31	42.98
平均増体重 (g/日)	502	505	545	562	560
(相対値)	100	100	109	112	111
平均飼料摂取量 (g/日)	935	910	950	936	1023
(相対値)	100	97	102	100	109
飼料要求率	1.88 ^a	1.81 ^{ab}	1.74 ^{ab}	1.67 ^b	1.84 ^a
(相対値)	100	96	93	89	98

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり ($p \leq 0.05$)

3-2-2 豚

(1) 方法

子豚 (LW・D 種、67~76 日齢、去勢雄及び雌、平均体重 30.0 kg) を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 0.6、1.2、1.8%添加した飼料と陽性対照として対照飼料にフマル酸を 2.0%添加した飼料をそれぞれ 6 週間連続給与した (1 群 7 頭、4 反復)。^[資料 16]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、2 元配置分散分析を行い、有意差 ($P \leq 0.05$) が認められた場合は、Tukey の法により多重比較を行った。

(3) 結果

結果について、表 14 に示した。

平均増体重（g/頭）について、無添加群と各添加群を比較して有意な差は認められなかった。二ギ酸カリウム 1.8%添加群とフマル酸 2.0%添加群では、二ギ酸カリウム 1.8%添加群で有意に減少した。

平均増体重（g/日）について、無添加群と比較して、二ギ酸カリウム 0.6、1.2%添加群で良好な傾向を示した。しかし、二ギ酸カリウム 1.8%添加群とフマル酸 2.0%添加群を比較した場合、二ギ酸カリウム 1.8%添加群で有意に減少した。

平均飼料摂取量及び飼料要求率については、陽性対照であるフマル酸添加群を含めすべての添加群で有意な差は認められなかった。

表 14 豚用飼料に添加した際の飼養成績

	無添加群	二ギ酸カリウム添加群 (%)			フマル酸添加群 (%)
		0.6	1.2	1.8	2.0
平均増体重 (kg/頭)	41.7 ^{ab}	43.2 ^{ab}	43.9 ^{ab}	40.3 ^b	45.0 ^a
平均飼料摂取量 (kg/頭)	107.9	105.7	108.0	97.5	110.0
平均増体重 (g/日)	993 ^{ab}	1029 ^{ab}	1045 ^{ab}	960 ^b	1071 ^a
(相対値)	100	104	105	97	108
平均飼料摂取量 (g/日)	2569	2517	2571	2321	2619
(相対値)	100	98	100	90	102
飼料要求率	2.59	2.44	2.46	2.42	2.44
(相対値)	100	94	95	93	94

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり ($p \leq 0.05$)

3-2-3 豚

(1) 方法

子豚（ジャーマン・ランドレース×ピエトレン、雌及び去勢雄、週齢不明、平均体重 33.2kg）を用いて、対照飼料と、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0.65、1.30、1.95%（430、870、1,260 mg/kgBW/日）添加した飼料を 85 日間給与した（1 群 12 頭、1 反復（去勢雄 7 頭、雌 5 頭））。

試験開始から 6 週間（65 kg まで）は子豚用飼料、その後 6 週間（65 kg からと殺まで）は肥育用飼料を給与した。飼料給与期間において飼料は体重に応じた 1 日 2 回の制限給与とした。

試験開始時から 1 週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。[資料 17]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析において F 値に有意差 ($P < 0.05$) があった場合、平均値の差の分析を、SNK 検定を用いて行った。

(3) 結果

各項目の結果を表 15 に示した。

日増体重については、対照群と比較して、二ギ酸カリウム添加全群で良好な結果が見られた。

飼料摂取量については、全ての群で有意差はなかった。

飼料要求率については、対照群と比較して、二ギ酸カリウム添加全群で有意に改善した。

表 15 豚用飼料に添加した際の給与効果

	二ギ酸カリウム添加群 (%)			
	0	0.65	1.30	1.95
平均増体重 (g/日)	816±53	859±53	844±57	864±70
平均飼料摂取量 (g/日)	2179±83	2202±83	2197±85	2186±126
平均飼料要求率 (飼料/増体重)	2.68±0.11 ^a	2.57±0.09 ^b	2.61±0.12 ^b	2.54±0.11 ^c

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-2-4 豚

(1) 方法

子豚 ([ランドレース×ヨークシャー] × [ランドレース×デュロック]、雄雌、週齢不明、平均体重 27.1 kg) を用いて対照飼料と、対照飼料に 0.6、1.2% (540、1,100mg/kgBW/日) をそれぞれ添加した飼料を出荷体重である 104 kg まで給与した。飼料給与期間において飼料は 1 日 2 回の制限給与とした。(1 群 3 頭、32 反復)。[資料 18]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用い、平均値の差は、最小有意差(LSD)検定によって解析した。

(3) 結果

試験の結果を表 16 に示した。

平均増体重および飼料摂取量について、対照群、0.6%添加群と比較して 1.2%添加群で有意に増加した。

飼養期間についても、対照群、0.6%添加群と比較して 1.2%添加群で有意に改善した。

表 16 豚用飼料に添加した際の給与効果

	二ギ酸カリウム添加群 (%)		
	0	0.6	1.2
平均増体重 (g/日)	863 ^a	886 ^a	915 ^b
平均飼料摂取量 (g/日)	2410 ^a	2450 ^a	2490 ^b
平均飼料要求率 (飼料/増体重)	2.80	2.78	2.73
飼養期間 (日)	89.4 ^a	87.1 ^a	84.6 ^b

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

豚 (ノルウェー・ランドレース×ヨークシャー、月齢不明、未経産豚及び去勢豚、体重 23.0kg) を用いて、2 種類の給餌方式(制限給餌および半無制限給餌)と 3 種類の飼料(陰性対照、ギ酸 Na/Ca0.5%、二ギ酸カリウム 0.5%(500 mg/kgBW/日))の 2×3 要因配置で群分けし、各々体重が 105 kg になるまで給与した (1 群 5~6 頭、4 反復)。

[資料 19]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用い、平均値の差は、最小有意差(LSD)検定によって解析した。

(3) 結果

各項目の試験結果を表 17 に示した。

非制限給餌と制限給餌に差は生じなかったため、それらをまとめた結果を示す。

二ギ酸カリウム添加群は陰性対照群と比較して、全期間で 1 日平均増体重が有意に増加した。

表 17 豚用飼料に添加した際の給与効果

	試験群 (%)		
	陰性対照群	ギ酸 Na/Ca	二ギ酸カリウム
	0	0.5	0.5
平均増体重 (g/日)	917 ^a	911 ^a	942 ^b
平均飼料摂取量 (g/日)	2260	2280	2300
飼料要求率 (飼料/増体重)	2.47	2.51	2.45

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-2-6 豚

(1) 方法

母豚（デンマーク・ランドレース×ヨークシャー、週齢不明、雌、平均体重 79.4 kg）を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 1.0%（240 mg/kgBW/日）添加した飼料をそれぞれ、分娩予定日の 1 週間前から、子豚が離乳する生後 4 週目まで給与した。授乳期間中には、1 日 2 回の半量ずつ給与とした（1 群約 12 頭、3 反復）。[資料 20]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用い、平均値の差は、最小有意差(LSD)検定によって解析した。

(3) 結果

試験結果について、表 18 に示した。

平均飼料摂取量及び平均一腹増体重について、対照群と比較して有意に増加した。

離乳時平均体重およびへい死率については有意な差は認められなかった。

表 18 豚用飼料に添加した際の給与効果

		二ギ酸カリウム添加群 (%)	
		0	1.0
母豚	平均一腹増体重 (g/日)	2,335 ^a	2,534 ^b
	平均飼料摂取量 (kg/日)	5.76 ^a	6.04 ^b
子豚	離乳時体重 (kg)	7.00	7.35
	へい死率	4.4	4.0

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-2-7 豚

(1) 方法

母豚（デンマーク・ランドレース×ヨークシャー、週齢不明、経産雌、平均体重 266.9 kg）を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを 0.8%（180 mg/kgBW/日）を添加した飼料をそれぞれ、分娩 1 週間前から離乳するまでの期間給与した。（1 群 5～6 頭、6 反復）。[資料 21]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用いて解析した。分析は、分散分析モデルを用いて行い、差がある場合は各群を分散分析モデルの共分散として用いた。

(3) 結果

試験結果について表 19 に示した。

平均一腹増体重について、対照群と比較して二ギ酸カリウム添加群で有意に増加した。

子豚の離乳時体重とへい死率については改善傾向を示したが、有意な差は認められなかった。

表 19 豚用飼料に添加した際の給与効果

		二ギ酸カリウム添加群 (%)	
		0	0.8
母豚	平均一腹増体重 (g/日)	2,364 ^a	2,479 ^b
	平均飼料摂取量 (kg/日)	5.76	5.91
子豚	離乳時体重 (kg)	6.90	7.04
	へい死率 (%)	4.7	4.0

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

3-2-8 豚

(1) 方法

母豚（Dutch×スカンジナビア・ランドレース、週齢不明、雌、平均体重不明）を用いて、対照飼料と、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0.8、1.2%（それぞれ 170、280 mg/kgBW/日）添加した飼料を、2 つの繁殖サイクル(妊娠期間、授乳期間、それに続く離乳から交配までのインターバル)を通して給与した。

妊娠期間及び授乳開始 9 日目までは制限給餌とし、授乳開始から 10 日目以降は不断給餌とした。[資料 22]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、分散分析によって解析した。また、処理の平均値を最小有意差 (LSD) 検定によって比較した。

(3) 結果

結果について、表 20 に示した。

妊娠期間中の母豚の背脂肪厚について、対照群と比較して、有意に増加した。その他、妊娠期間中の体重については増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。

飼料摂取量について、授乳期間中で 0.8%添加群と 1.2%添加群で有意な差が認められた。

子豚の離乳時体重について、対照群と比較して有意に増加した。その他、出生時体重、へい死率については有意差は認められなかった。

表 20 豚用飼料に添加した際の給与効果

		二ギ酸カリウム添加群 (%)		
		0	0.8	1.2
母豚	平均一腹増体重 (g/日)	2.52	2.62	2.59
	妊娠期間の増体重	75	78	76
	妊娠期間の平均飼料摂取量 (g/日)	2.84	2.83	2.87
	妊娠期間の背脂肪厚の増加量 (mm)	4.8 ^{a*}	5.3 ^{a*}	5.5 ^{b*}
	授乳期間の平均飼料摂取量 (g/日)	5.52 ^{ab**}	5.45 ^{a**}	5.75 ^{b**}
子豚	離乳時体重 (kg)	7.98 ^{a*}	8.26 ^{a*}	8.32 ^{b*}
	へい死率 (%)	6.4	5.8	7.4

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05) * (p<0.1) **

4 残留性に関する事項

4-1 残留性試験

4-1-1 豚

(1) 方法

子豚 [(ヨークシャー×デンマークランドレース) ×デュロック、雌、週齢不明、体重 27~33 kg、6 頭] を用いて、二ギ酸カリウム 1,000 mg/kgBW を経口給与し、給与時間に相関して、採血を実施し、ギ酸の分析を行った。

なお、6 頭中 2 頭について、被験物質摂取量が給与開始後 40 分で 80%未満であったため、試験から除外した。[資料 23]

(2) 結果

結果について表 21 に示す。

経口給与後、4-5 時間で血中濃度が最高に達し、12-24 時間後には検出限界未満となった。

表 21 豚での生物学的半減期 (T1/2)、血漿中濃度曲線下面積 (AUC) および血漿中最高濃度 (Cmax)

	用量 (mg/kgBW)	T1/2 (時)	AUC (mg×時間/L)	Cmax (mg/L)
個体 No.1	1,000	3.90	4803.7	497.0
個体 No.2	1,000	2.07	2449.0	396.5
個体 No.4	1,000	2.50	2307.8	346.5
個体 No.5	1,000	2.47	1778.0	305.8
平均	-	2.73	2834.6	386.4
標準偏差	-	0.80	1344.1	82.5

4-1-2 豚

(1) 方法

豚 [(ノルウェーランドレース×ヨークシャー) ×ノルウェーランドレース]、週齢不明、平均体重 22.4 kg) を用いて、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、1.2、2.4、6.0%添加した飼料をそれぞれ 90 日間連続給与した (1 群 2 頭、3 反復)。

その後、血中、肝臓、腎臓、筋肉中のギ酸濃度を測定した。[資料 24]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用いて解析した。また、処理の平均値を最小有意差(LSD)検定によって比較し、データの分散は平均値の標準誤差で示した。

(2) 結果

測定の結果を表 22 に示した。

1.2%添加群における、各組織ごとの濃度は無添加対照群と差は認められなかった。

表 22 各組織のギ酸イオン濃度、平均値±標準誤差 (μg/g)

		対照区	二ギ酸カリウム添加群		
			1.2%	2.4%	6.0%
30 日後	ロース	<20	<20	21.3±0.4	151.3±1.9
	肝臓	42.2±5.4	49.1±2.4	45.9±9.4	113.6±15.9
	腎臓	26.1±5.7	46.5±12.9	57.0±4.2	355.5±59.8
60 日後	血清	106.0	99.5±14.9	153.5±60.1	305.5±57.3
	ロース	25.0±15.6	59.5±2.1	56.5±3.5	66.5±26.2
	肝臓	54.4±7.3	40.0±8.8	63.9±15.0	62.2±9.7
	腎臓	48.8±8.1	49.6±4.8	81.4±8.7	111.4±5.7
	心臓	23.8±2.2	39.3±7.4	54.7±4.8	72.6±22.3
90 日後	血清	34.2±17.0	49.8±14.0	188.8±23.1	321.1±157.1
	ロース	<20	<20	22.8±12.0	37.4±4.8
	肝臓	<20	25.2±5.7	21.2±15.3	27.3±9.1
	腎臓	25.8±10.3	34.7±5.6	45.5±21.5	103.0±17.7
	肺	31.3±6.0	44.9±23.6	46.3±30.8	83.2±5.8
	心臓	28.6±2.8	30.7±10.1	53.5±1.4	97.1±5.6

各値は平均値

5 安全性に関する事項

5-1 毒性試験

5-1-1 一般毒性試験

5-1-1-1 単回投与毒性試験

5-1-1-1-1 ラット

(1) 方法

ラット (CrI:CD.BR 系、雌雄各 5 匹、4~6 週齢、体重 144~162 g (雄)、135~152 g (雌)) を用いて、二ギ酸カリウム 2000mg/kgBW を強制経口投与し、2 週間観察し、15 日目に全頭の剖検を行った。[資料 25]

(2) 結果

試験期間中の死亡例は認められず、剖検による肉眼的変化は認められなかった。
本試験における LD50 は、2000 mg/kgBW を超える用量としている。

5-1-1-1-2 マウス

(1) 方法

マウス (CrI:CD-1 (ICR) .BR 系統、雌雄各 5 匹、5~7 週齢、体重 32~34 g (雄)、23~26 g (雌)) を用いて、二ギ酸カリウム 2,000 mg/kgBW の量を強制経口投与し、2 週間観察し、15 日目に全頭の剖検を行った。

本試験において、雌マウスが 2 匹死亡したため、LD50 を算出するため、二ギ酸カリウム 1480、2700、3645 mg/kgBW の量を強制経口投与し、2 週間観察し、15 日目に全頭の剖検を行った (1 群雌各 5 匹)。[資料 26]

(2) 結果

試験期間中に死亡したマウスの剖検では、胃腸管の膨満、盲腸の拡張、下顎リンパ節の腫脹、十二指腸粘膜の肥厚等が認められた。

15 日目に行った剖検では、一部のマウスに肉眼的変化が認められたが、処置による所見とは認められなかった。

本試験における LD50 は、雄マウスにあつては 2000 mg/kgBW 以上、雌マウスにあつては 2988 mg/kgBW としている。

5-1-1-2 反復投与毒性試験（短期）

（１）方法

ラット（CrI:CDBR 系統、雌雄、6 週齢、雄体重 166.1～208.3 g、雌体重 135.8～172.6 g）を用いて、二ギ酸カリウムを、0、600、1200、3000 mg/kgBW/日でそれぞれ強制経口投与にて、13 週間給与した。（1 群雌雄各 10 匹）。

対照群及び 3000 mg/kgBW 群には投与後の 4 週間の休薬期間まで継続する区を設け、また高用量群では血漿サンプルを採取するために平行投与群を設けた。

体重、飼料摂取量、飼料要求率、一般症状、死亡率を測定し、血液学的検査、臨床科学的検査、眼科的検査、尿検査、剖検、病理組織学的検査について、観察及び検査した。[資料 27]

（２）結果

結果について表 23 に示した。

（A）死亡率

投与に起因する影響は認められなかった。眼窩採血に起因する死亡例が 3 匹、対照群の雌雄各一匹が眼球の状態を考慮し除外、採血のための麻酔による死亡例が高用量群で 1 匹あった。これは麻酔/採血手順に関連するものと考えられた。

（B）一般症状

投与に起因する影響は認められなかった。

（C）体重

被験物質を投与した 3 群すべての雄で用量依存性の増体重の低下が認められ、統計的に有意であった。3000 mg/kgBW の雌でも増体重が有意に減少したが、600、1200 mg/kgBW では認められなかった。これは被験物質の嗜好性によるものと考えられた。また、休薬期間中の増体重は対照群と同等であった。

（D）飼料摂取量

被験物質を投与した 3 群すべての雄で、飼料摂取量の減少が見られたが、有意な差はなかった。

（E）飼料要求率

投与に起因する影響は認められなかった。

（F）血液学的検査及び臨床科学的検査

3000 mg/kgBW 群の雌雄について、有意な変化が見られた。しかし、明らかな標的臓器毒性が認められないため、高用量群における成長遅延に関連するもので、毒性学的に重要な徴候ではないと見なされた。

（G）眼科的検査

眼底検査を投与から 12 週後に実施したが、被験物質による影響は認められなかった。

（H）尿検査

対照群と比較して、1200、3000 mg/kgBW の雌雄でアルカリ性に傾く傾向が見られたが、この傾向は休薬期間終了時には認められなかった。

（I）剖検

用量依存的に胃の肥厚が認められた。

(J) 臓器重量

投与に起因する影響は認められなかった。

(K) 病理学的検査

各処置群で用量依存的に扁平上皮過形成が認められた。前胃部の扁平上皮の瀰漫性肥厚を特徴とし、角質化亢進を伴っており、これらは境界縁を含む胃の肥厚と相関があった。しかし、軽症の動物では、肥厚は境界縁に限定されていた。

高用量群の休薬期間終了時では、雄 4 匹及び雌 3 匹の前胃部に軽微な扁平上皮過形成を認めたが、その発生率と症状の程度は著しく低下しており、可逆性が示された。これらの胃の変化は、標的臓器毒性ではなく刺激性による変化と考察された。全身毒性を裏付けるデータは認められなかった。

表 23 反復投与毒性試験（短期）結果

試験群及び投与量 (mg/kgBW)		雄				雌			
		0	600	1,200	3,000	0	600	1,200	3,000
平均増体重 (g/匹) (A)		295.2	251.1*	233.0* *	187.3***	107.8	106.1	104.7	88.6**
飼料	平均飼料 摂取量 (g/匹/ 週)	182.6	172.0	162.7	152.6	131.0	132.0	130.3	127.7
	(g/匹) (B)	2373.8	2236	2115.1	1983.8	1703	1716	1693.9	1636.7
	平均飼料 要求率 (B/A)	8.0	8.9	9.1	10.6	15.8	16.2	16.2	18.5
臨床 検査 所見	血液学的 検査	異常なし	異常なし	異常なし	RBCC 増加* MCV 減少*** MCH 減少** Plat 増加*** TWCC 減少* 単球減少*	異常なし	異常なし	MCV 減少	MCV 減少*** MCH 減少* MCHC 増加** Plat 増加
	生化学的 検査	異常なし	異常なし	異常なし	K 減少*** Cre 減少*** Glo 低下* A/G 比**	異常なし	Cr 増加* Ure 増加* TC 増加*	Ure 増加 TC 増加*	TB 減少* TP 減少* Ca 減少* Cre 減少* Glo 低下**
	尿検査	異常なし	異常なし	異常なし	アルカリ性 度上昇	異常なし	異常なし	異常なし	アルカリ 性度上昇
病理 学的 検査 所見	肉眼的観 察	異常なし	胃の肥 厚 1 匹	胃の肥 厚 3 匹	胃の肥厚 7 匹	異常なし	異常なし	胃の肥 厚 2 匹	胃の肥厚 5 匹
	器官の重 量	異常なし	異常なし	異常なし	肝臓重量増 加**	異常なし	異常なし	異常なし	副腎重量 減少*
	組織学的 検査	異常なし	扁平上 皮過形 成 微細：2 匹 軽度：2 匹	扁平上 皮過形 成 微細：6 匹 軽度：3 匹	扁平上皮過 形成 微細：4 匹 軽度：5 匹 中程度：1 匹	異常なし	扁平上 皮過形 成 微細：4 匹	扁平上 皮過形 成 微細：6 匹 軽度：2 匹	扁平上皮 過形成 微細：5 匹 軽度 3 匹 中程度：2 匹

*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

RBCC: 赤血球数、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、TWCC: 総白血球数、Plat: 血小板、

TB: 総ビリルビン、TP: 総タンパク、K: カリウム、Ca: カルシウム、Cre: クレアチニン

A/G 比: アルブミン/グロブリン比、Ure: 尿素、TC: 総コレステロール、Glo: グロブリン

5-1-2 特殊毒性試験

5-1-2-1 変異原性試験

変異原性試験の結果を表 24 に示した。

in vitro 系で細菌を用いた復帰突然変異試験、マウス細胞を用いた遺伝子変異試験、培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、および *in vivo* 系でラットを用いた小核試験が実施された。結果は、いずれの試験も陰性だった。

したがって、二ギ酸カリウムに変異原性は認められないと判断された。

表 24 二ギ酸カリウム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 および <i>E.coli</i> WP2uvrA	0～5000 µg/plate (+/-S9)	陰性	参照 28
	遺伝子変異試験	マウスリンフォーマ細胞における tk 遺伝子座	0～1302 µg/mL (+/-S9)	陰性	参照 29
	染色体異常試験	培養ヒト末梢血リンパ球	0～975.8 µg/ml, 20hr 連続処理 (-S9) 0～1301 µg/ml, 3hr 処理 17hr 回復培養 (+S9) 0, 975.8 µg/ml, 44hr 連続処理 (-S9) 0, 1301 µg/ml, 3hr 処理+41hr 回復培養 (+S9) 0, 1301 µg/ml, 3hr 処理 17hr 回復培養 (-S9)	陰性	参照 30
<i>in vivo</i>	小核試験	ラット (各処理群雌雄各 5 匹)	0～50mg/kg 体重/日 2 日間静脈投与後、24 及び 48 時間後にサンプリング	陰性	参照 31

5-1-3 局所毒性試験

5-1-3-1 皮膚刺激性試験

ウサギ (New Zealand White 種) の背部を 30×20 mm に剪毛した皮膚に 500 mg を単回(4 時間)、半閉塞的に塗布し、処置後から 3 日間、皮膚の反応を評価したが異常は認められなかった。[資料 32]

5-1-3-2 眼粘膜刺激性試験

ウサギ (CrI:NZW/Kbl.BR 系統 New Zealand White 種) の左側結膜嚢に 72.6 mg (0.1ml) を点眼した結果、顕著な 1 次性刺激反応 (角膜表面全体の混濁、下眼瞼の結膜嚢の火傷/腐食状態) が認められた。[資料 33]

5-1-3-3 吸入毒性試験

ラット (CrI: [WI] WU BR 系統) に投与限界量 $5.16 \pm 0.19 \text{ g/m}^3$ を鼻部のみに 4 時間単回暴露させ、暴露後 14 日間観察した結果、死亡例は認められなかった。

臨床症状としては、曝露後の呼吸パターンの異常、立毛・頭部の湿潤等の臨床徴候、眼瞼痙攣、増体重の減少が認められた。[資料 34]

本試験における 4 時間 LC50 値は、雌雄ともに 5.16 g/m^3 以上としている。

5-1-3-4 その他の毒性試験（皮膚感作性試験）

モルモット (Dunkin-Hartley 種、雌、6~11 週齢、体重 428~773 g) に皮内注射 (精製水中 0.5% m/V)、局所塗布 (ワセリン中 15% m/m)、惹起のための塗布 (ワセリン中 10% 及び 5% m/m) した結果、皮膚感作性 (遅延型接触過敏性反応) を示す陽性反応は誘発されなかった。[資料 35]

5-2 対象家畜等を用いた飼養試験

5-2-1 豚

(1) 方法

豚 [(ノルウェーランドレース×ヨークシャー) ×ノルウェーランドレース]、週齢不明、平均体重 22.4 kg) を用いて、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、1.2、2.4、6.0% 添加した飼料をそれぞれ 90 日間連続給与した (1 群 2 頭、3 反復)。[資料 24]

(2) 結果

(A) 臨床症状

投与に起因する症状は認められなかった。

(B) 体重

二ギ酸化カリウム投与群において、6.0% 添加した場合でも豚の体重に負の影響は認められなかった。

(C) 便の性状

便の性状に差は認められなかった。

(D) 血液学的検査・生化学的検査

血清尿素値および結成クレアチニン値について、二ギ酸カリウム添加量含量と有意な用量相関が認められた。血清尿素値については、増体重の増加によるタンパク質の沈着が原因と考えられ、血清代謝物、血清酵素に有意差が認められないため、肝異常が生じていないとされた。

30 日目に 6.0% 添加群で高カルシウム血症を発現したが、60 日目 90 日目には、全ての処理群で血清 K 値、血清 Na 値は正常な値であったため、馴化する可能性が示唆された。

(E) 肉眼的検査

60 日目に 6.0% 添加群で食道部に前段階的な角質増症が認められた。また試験群全体で、腸リンパに中程度の腫脹が観察された。

90 日目に対照群の 1 頭で、食道部にきわめて中程度の角質増症が確認され、6.0%

添加群の2頭で食道部に中程度かつびらん性の角質増症が確認され、4頭で腸リンパに中程度の腫脹が確認されたが、正常範囲内の大きさであった。

3頭で上腕骨の内側顆に病変又は肥厚した白い関節軟骨が確認されたが、添加とは無関係とされた。

以上の肉眼的変化は、二ギ酸カリウムの添加と因果関係が確認されず、豚の健康に影響はないとされた。

(F) 臓器重量

臓器重量に有意差は無く、被験物質投与の影響は確認されなかった。

(G) 病理学的検査

90日目の6.0%添加群で腎指標の増大が確認されたが、これは高カルシウム血症によるストレスに起因するものとされた。

(H) まとめ

被験物質の投与に関連する臓器重量の違い、肉眼的所見は確認されなかったことから、二ギ酸カリウムを6.0%まで添加した飼料を90日間投与された場合豚の全般的な健康状態に影響はないと結論付けられた。

5-2-2 豚

(1) 方法

離乳子豚（LWD 種、雌及び去勢雄、21～24日齢、平均体重7.3 kg）を用いて、対照飼料と対照飼料に二ギ酸カリウムを1.8、2.6、5.4%添加した飼料と陽性対照としてフマル酸を2.0%添加した飼料をそれぞれ6週間連続給与した。（1群6頭、4反復）。

[資料15]

(2) 結果

(A) 臨床症状

試験期間中、全ての試験群で泥状、水溶性便の排泄が散発的に認められたが、程度頻度については群間に差は認められなかった。その他の一般状態には特に異常は認められなかった。

(B) 体重

被験物質の添加による有意な差は認められなかった。

(C) 飼料摂取量

二ギ酸カリウム5.4%添加群では、無添加群と比較して有意に減少した。これは、添加による嗜好性の低下が原因とされた。

(D) 血液学的検査・生化学的検査

二ギ酸カリウム2.6%添加群でヘマトクリット値及びアルブミンについて有意な差が認められたが、いずれも軽度でかつ用量依存性も認められなかったことから偶発的な原因と見なされた。その他の点については被験物質の投与に起因する影響は認められなかった。

(E) 肉眼的検査

被験物質の投与に起因する所見は認められなかった。

(F) 臓器重量

被験物質の投与に関連する影響は認められなかった。

(G) 病理学的検査

幹細胞の空胞化、腎髄質の尿細管上皮の空胞化及び炎症細胞浸潤が認められたが、いずれも軽度であり、発育低下のため剖検した無添加群の個体でも同様の所見が認められているため被験物質の投与に起因するものとはされなかった。その他投与に起因する所見は認められなかった。

(H) まとめ

5,4%添加群における嗜好性の低下による飼料摂取量の低下とそれに伴う発育の低下以外の臨床症状及び病理学的所見に投与に起因する所見は認められなかったため、子豚に対する安全性に影響はないと結論付けられた。

5-2-3 豚

(1) 方法

豚 [(ノルウェーランドレース×ヨークシャー) ×ノルウェージャンランドレース]、週齢不明、平均体重 22.4kg) を用いて、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、1.2、2.4、6.0% (それぞれ 0、1140、2400、5740 mg/kgBW/日) 添加した飼料をそれぞれ 90 日間連続給与した (1 群 2 頭、3 反復)。[資料 36]

試験期間中 0、28、58、88 日目に採血し、各群から 2 頭ずつを 30、60、90 日目に剖検した。

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1990)の GLM プロシジャを用いて解析した。また、処理の平均値を最小有意差(LSD)検定によって比較した。

(3) 結果

各項目の結果を表 25 に示した。

二ギ酸カリウムの添加量を 6.0%まで増量しても、血液検査、病理検査および組織学的検査でも異常は認められなかった。

表 25 豚用飼料に添加したときの二ギ酸カリウムの安全性

	飼養期間 (60 日間)					飼養期間 (90 日間)			
	添加量 (%)				pooled SE	添加量 (%)			
	0	1.2	2.4	6.0		0	1.2	2.4	6.0
平均増 体重 (g/ 日)	795	884	886	853	2	905	959	976	935
平均飼 料摂取 量 (kg/ 日)	1.81	1.90	1.90	1.83	0.03	2.06	2.17	2.27	2.11
飼料要 求率	2.25	2.15	2.15	2.14	0.01	2.28	2.26	2.32	2.26

各値は平均値

5-2-4 豚

(1) 方法

豚 (大ヨークシャー×ランドレース種、7.5～10 か月齢、体重 146～190 kg) を用いて、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、1.2、3.0、6.0% (それぞれ 190、480、920 mg/kgBW/日) 添加した飼料を分娩後それぞれ制限給餌で給与し、初回交配から離乳までを試験期間とした。

試験群について、1 群 6 匹以上となるように、授精の順序に基づき無作為に割り振りを行った。

試験開始時、交配後 8 週目と 15 週目、分娩後 1 日目と 21 日目に測定し、増体重を計算した。

試験期間中、妊娠 15 週目、分娩 21 日目に採血し、離乳後剖検した。[資料 37]

(2) 統計解析

母豚の体重と体重変化、子豚の体重、生存率と離乳率、血液検査、生化学検査および尿分析は一元配置分散分析を用い、臨床病理学的パラメータについては、クラスカル=ウォリス検定を用いた。

(3) 結果

(A) 臨床症状

投与に起因する胃の変形等の症状は認められなかった。

(B) 体重

(a) 母豚

対照群と二ギ酸カリウム投与群において、投与による影響は認められなかった。

(b) 子豚

二ギ酸カリウム投与群において、体重の増加傾向が見られ、これは雌豚の乳生産量の増加によるものと考えられた。

(C) 尿検査

健康上の問題を示唆するような異常は認められなかった。交配後 15 週目及び離乳時で

の二ギ酸カリウム投与群において、尿タンパク、カリウムナトリウム及び pH に有意差が認められたが、これは腸管からのカリウム摂取量の増加による、細胞外液の浸透圧の上昇に起因するもので、臨床的に重大であるとはみなされなかった。

(D) 血液学的検査・生化学的検査

赤血球数とヘモグロビン濃度が交配後 15 週目で有意に低下していたが、この症状については、尿と同様の体液のイオンと浸透圧のバランスの維持に起因するもので、健康上の問題を示唆するような異常とは認められなかった。

(E) 子豚生存率

二ギ酸カリウム投与による影響は認められなかった。

(F) 肉眼的検査

試験項目に関連する所見は認められなかった。観察された全体的な所見は、一般的に観察される性質の偶発的なものであり、無添加群と投与群ですべてに分布しているため、二ギ酸カリウムの投与とは無関係であると見なされました。

(G) 病理学的検査

ほとんどの組織病理学的所見は、この系統と年齢の豚では一般的とされた。

前胃部胃炎及び前胃びらん、潰瘍がすべての群で認められたが、潰瘍形成は豚の背景所見とされ、二ギ酸カリウムの毒性とは関連していないとされた。

(H) まとめ

二ギ酸カリウムの添加により、母豚の体重、子豚の体重・事故率に異常は認められず、二ギ酸カリウムの 6.0%までの母豚飼料への添加は母豚の健康、子豚の発育に負の影響が無いと判断された。

5-2-5 豚

(1) 方法

母豚 [(ノルウェー・ランドレース×ヨークシャー) ×ノルウェー・ランドレース、雌、週齢不明、平均体重 173.4 kg) を用いて、対照飼料に二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、1.2、3.6% (それぞれ 0、370、1190 mg/kgBW/日) 添加した飼料を計 300 日間 (期間 1: 初回交配から授乳まで、期間 2: 2 回目妊娠から授乳まで) 給与した。(1 群 7~8 頭、1 反復) [資料 38]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、SAS(1998)の GLM プロシジャを用いて解析した。また、処理の平均値を最小有意差(LSD)検定によって比較した。

(3) 結果

試験結果について表 26 に示した。

各試験期間の各群において、母豚の体重変化、飼料摂取量、子豚の生存数、体重変化に二ギ酸カリウム投与の影響は認められなかった。

死産数については、期間 1 では対照群と 1.2%添加群で有意に増加し、期間 2 では対照群と 1.2%添加群で有意に減少した。これは、母豚による圧死が原因とされ、二ギ酸カリウムの投与に起因するものではないとされた。

表 26 豚用飼料に添加したときの二ギ酸カリウムの安全性

		陰性対照群	二ギ酸カリウム添加群 (%)	
			1.2	3.6
期間 1	平均増体重 (母豚) (kg/日)	42.7	40.9	45.0
	平均飼料摂取量 (kg/日)	2.28	2.28	2.27
	生存産子数 (頭)	13.14	12.88	13.50
	死産数 (頭)	0.29 ^a	1.38 ^b	0.25 ^a
	平均増体重 (子豚) (g/日)	263.4	272.5	272.9
期間 2	平均増体重 (母豚) (kg/日)	30.1	30.2	20.7
	平均飼料摂取量 (kg/日)	2.78	2.82	2.75
	生存産子数 (頭)	10.71	12.38	14.75
	死産数 (頭)	0.86 ^b	0.38 ^a	1.25 ^b
	平均増体重 (子豚) (g/日)	317.5	313.6	316.7

各値は平均値

各項目内の異文字間に有意差あり (p<0.05)

5-2-6 豚

(1) 方法

母豚 (ランドレース、雌、週齢不明、体重不明) を用いて、二ギ酸カリウムをそれぞれ 0、0.8、1.2、3.6、6.0% (それぞれ 0、80、120、350、590 mg/kgBW/日) で添加した飼料を交配後、妊娠が確定してから次回交配までの間給与した。(1群 14~16頭、1反復)。[資料 39]

(2) 統計解析

試験結果の解析は、共分散分析によって評価した。

(3) 結果

結果について表 27 に示す。

各群間において、母豚の平均増体重、妊娠期間並びに授乳期間における平均飼料摂取量、生存産子数、死産数、子豚の平均増体重に有意差は認められなかった。

このことから、二ギ酸カリウムの 6.0%までの母豚飼料への添加は母豚の健康、子豚の発育に負の影響が無いと判断された。

表 27 豚用飼料に添加したときの二ギ酸カリウムの安全性

	陰性対照群	二ギ酸カリウム添加群 (%)			
		0.8	1.2	3.6	6.0
平均増体重 (母豚) (kg/日)	33.1	35.7	28.3	30.8	28.8
妊娠期間の平均飼料摂取量 (kg/日)	2.50	2.46	2.43	2.40	2.45
授乳期間の平均飼料摂取量 (kg/日)	6.32	6.46	6.38	6.16	5.55
生存産子数 (頭)	10.2	12.1	11.1	12.1	11.1
死産数 (頭)	1.30	0.61	1.07	0.81	1.33
平均増体重 (子豚) (g/日)	265	247	265	256	246

各値は平均値

5 審議結果

二ギ酸カリウム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、添加上限値（豚（種豚を除く。）用飼料に 1.8%、種豚用飼料に 1.2%）までの濃度で飼料へ添加することは適当であると判断された。

なお、豚（種豚を除く。）用飼料への添加量については、試験 3－2－3 及び 3－2－4 の結果を元に、要望者からの要望のあった 1.8%を添加上限値とすることは妥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対象家畜：豚

③添加上限値：豚（種豚を除く。）用飼料に 1.8%
種豚用飼料に 1.2%

6 参照（参考文献及び参考資料）

1. EC_Report of potassium diformate as a feed additive for weaned piglets and pigs for fattening_2001.
2. EC_Revision of potassium diformate as a feed additive for weaned piglets and pigs for fattening_2002
3. EU_authorisation of a new additive in feedingstuffs_2003
4. EU_authorisation of new use additive in feedingstuffs_2005
5. EFSA_Safety and Efficacy of potassium diformate as a feed additive for weaned piglets and pigs for fattening_2006
6. EFSA_Safety of potassium diformate as a feed additive for sows_2020
7. Nutritive Use of Feed Additives Based on Diformates in the Rearing and Fattening of pigs and Their Effects on Performance(1996)
8. Effects of supplementations of diformate complexsx(FormiTMLHS) on growth and carcass performance of piglets and fattening pigs in response to application time (1997)))
9. Dose Effects of Potassium Diformate(FormiTMLHS) on the performance of Growing Piglets.(1996))
10. [REDACTED]
11. Mineral metabolism(P,K,Ca,Mg,Zn,Mn,Cu) of piglrts supplied with potassium difomate.(1998)
12. Experimental report on the effects of Formi-LHS in low and high energy feeds of weaned piglets kept under different housing conditions.(1997)
13. Effect of FormiTMLHS in a challenge trial using newly weaned pigs.(1996)
14. Forsogsrapport_smagrise(1997)
15. 2 ギ酸カリウムの離乳子豚における有効性および飼養試験（2002）
16. 2 ギ酸カリウムの体重 30kg の子豚における野外応用試験(2002)
17. Effect on carcass performance(1995)
18. Effect on growth, mircroflora, stomach.(1999)
19. Effect on growing-finishing pigs(1995-1996)
20. EFFECT OF K-DIFORMATE IN THE DIET FOR LACTATING SOWS ON PRODUCTION PERFORMANCE(2001)
21. THE EFFECT OF K-DIFORMATE ON THE PERFORMANCE OF SOWS AND THE SUCKLING PIGLETS(2001)
22. The effect of Formi in the diet of pregnant and lactating sows on digestibility, production performance, health, and milk composition(2003)
23. FormiTMLHS-pharmacokinetics after single oral dosing in pigs.(1998)
24. Tolerance study in pigs. Effects of increasing levels of FormiTMLHS in diets on health status and performance of pigs.(1997)

25. FormiTMLHS:acute oral toxicity study in the rat.(1998)
26. FormiTMLHS:acute oral toxicity study in the mouse.(1998)
27. Formi LHS:13 week Oral(Dietary Administration)Toxicity Study in the Rat with a 4 Week Treatment-free Period.(1998)
28. Formi LHS:Reverse Mutation in four Histidine requiring strains of *Salmonella typhimurium* and one Tryptophan-requiring strain of *Escherichia coli*.(1998)
29. Formi LHS:Mutation at the Thymidine Kinase(*tk*) Locus of Mouse Lymphoma L5178Y cells(MLA) using the Microtitre^R Fluctuation Technique.(1998)
30. Formi LHS:Inducation of Chromosome Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes.(1998)
31. FormiTMLHS:Inducation of Micronuclei in the Bone Marrow of Treated Rats.(1998)
32. FormiTMLHS:skin irritation study in the rabbit.(1998)
33. FormiTMLHS:eye irritation study in the rabbit.(1998)
34. Acute(4-hour) inhalation toxicity study with FormiTM LHS in rats.(1997)
35. FormiTMLHS:Skin Sensitisation Study in the Guinea Pig.(1998)
36. Effect of increasing levels of FormiTMLHS in dietson health status and performance of pigs.(1997)
37. Formi LHS: Target species safety study in the farrowing pig.(2004)
38. FORMITM LHS – Effect of pre-mating administration of Formi on ovulation/Fertility of Breeding Sows.(2003)
39. The effect of different levels of and tolerance for Formi on sows.(2008)

二ギ酸カリウムの基準及び規格（案）

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

(1) 飼料一般の成分規格

チ 二ギ酸カリウムの飼料（飼料を製造するための原料又は材料を除く。以下チにおいて同じ。）中の含有量は、豚（種豚を除く。）を対象とする飼料にあつては、二ギ酸カリウムとして1.8%以下、種豚を対象とする飼料にあつては、二ギ酸カリウムとして1.2%以下でなければならない。

(2) 飼料一般の製造の方法の基準

ス 二ギ酸カリウムは、豚を対象とする飼料（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。