第２のＣの１のクエン酸緩衝液（pH７・０）の目の次に次の１目を加える。

クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）　クエン酸１水和物21ｇを量り，水500mlを加えて溶かし，水酸化ナトリウム試液（２mol／Ｌ）でpH5.0に調整し，水を加えて1,000mlとする。

第２のＣの１のグリホルムの目の次に次の１目を加える。

酵素活性測定用アスパラギナーゼ　アスパラギナーゼ，酵素活性測定用を見よ。

第２のＣの１の次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液の目の次に次の１目を加える。

次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液，アスパラギナーゼ活性試験用　次亜塩素酸ナトリウム試液2.5mlに水を加えて10mlとする。この液の採取量を３mlとし，以下「次亜塩素酸ナトリウム」の定量法に準じて標定し，0.32～0.38mol／Ｌ次亜塩素酸ナトリウムになるように調製した後，適当な濃度の水酸化ナトリウム溶液を用いてpH12.5に調整する。この液３mlに水85mlを加え，適当な濃度の水酸化ナトリウム溶液を用いてpH12.5に調整した後，水を加えて100mlとする。冷暗所に保存する。

第２のＣの１の水酸化ナトリウム試液の目の次に次の１目を加える。

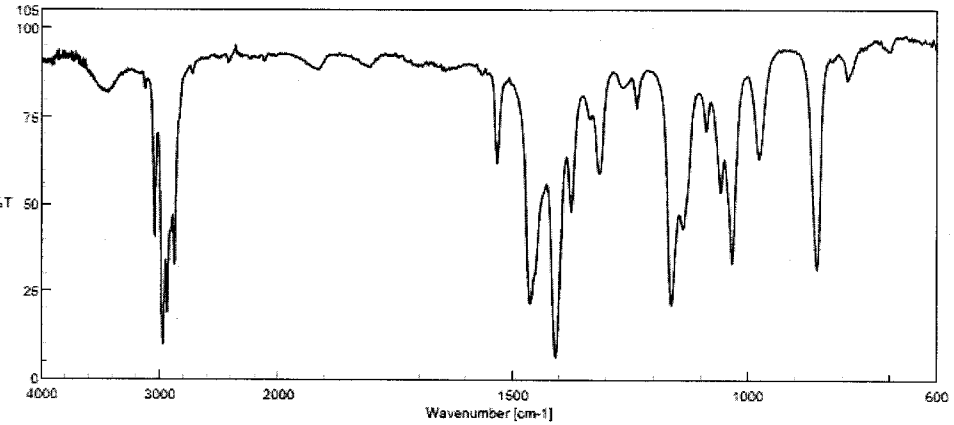
水酸化ナトリウム試液（２mol／Ｌ）　水酸化ナトリウム80ｇを量り，水を加えて溶かし，1,000mlとする。

第２のＣの１のフェノールの目の次に次の１目を加える。

フェノール・ニトロプルシド試液，塩基性　水酸化ナトリウム溶液（13→50）８～10mlをとり，ニトロプルシドナトリウム溶液（１→100）0.1mlを加えてかくはんし，フェノール・エタノール溶液（５→８）10mlを加えた後，水を加えて50mlとする。用時調製する。

第２のＣの11のサリチル酸メチルの目の次に次の１目を加える。

２，３―ジエチルピラジン



第２のＤのＬ―アスコルビン酸パルミチン酸エステルの目の次に次の１目を加える。

アスパラギナーゼ

Asparaginase

定　　義　本品は，糸状菌（*Aspergillus niger*に限る。）が本来有するアスパラギナーゼ遺伝子を増幅させて生産性を向上させた糸状菌（*A. niger* ASP-72株に限る。）より得られた，アスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素である。グリセリン，マルトデキストリン又は小麦粉を含むことがある。

酵素活性　本品は，１ｇあるいは１ml当たり2,375単位以上の酵素活性を有する。

性　　状　本品は，黄～褐色の澄明な液体又はごくうすい灰色若しくはごくうすい黄色を帯びた白色の顆粒である。

確認試験　本品は，酵素活性測定法により試験を行うとき，活性を示す。

純度試験　(1)　鉛　Pbとして5.0μｇ／ｇ以下

本品0.8ｇを量り，白金製，石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れる。硫酸（１→４）を加えて試料全体を潤した後，徐々に温度を上げ，試料が炭化し，硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸（１→４）を更に加え，試料がほとんど炭化するまで加熱する。なお，液体試料及び炭化しにくい試料の場合には，硫酸（１→４）の代わりに硫酸を用いてもよい。試料が炭化した後，必要があれば容器に緩くふたをして電気炉に入れ，徐々に温度を上げて450～600℃で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は，必要があればガラス棒で炭化物を砕き，硫酸（１→４）１ml及び硝酸１mlで潤し，白煙が発生しなくなるまで加熱した後，電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸（１→４）10mlを入れ，水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に少量の硝酸（１→100）を加え，加温して溶かし，冷後，更に硝酸（１→100）を加えて正確に10mlとし，検液とする。なお，500℃以下で灰化操作を行う場合には，耐熱ガラス製のビーカーを使用することができる。別に，鉛標準原液１mlを正確に量り，水を加えて正確に100mlとする。この液４mlを正確に量り，硝酸（１→100）を加えて正確に10mlとし，比較液とする。検液及び比較液につき，鉛試験法第１法により試験を行う。

(2)　ヒ素　As_2O_3として4.0μｇ／ｇ以下（0.50ｇ，第３法，装置Ｂ）

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，細菌数は50,000以下である。また，大腸菌及びサルモネラは認めない。なお，サルモネラの試験は，「ナイシン」の微生物限度試験を準用する。

酵素活性測定法　(1)　基質溶液

Ｌ―アスパラギン１水和物1.50ｇを量り，クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）を加え，かくはんして完全に溶かした後，更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）を加えて正確に100mlとする。用時調製する。

(2)　試料溶液

本品約2.5ｇを精密に量り，クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）20mlを加えて溶かし，更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）を加えて正確に25mlとする。この液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）で希釈して，１ml中に６単位を含む液を調製し，試料溶液とする。

(3)　比較原液

4,000単位に対応する量の酵素活性測定用アスパラギナーゼを量り，クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）20mlを加えて溶かし，更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）を加えて正確に25mlとする。この液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）で希釈して，１ml中に６単位を含む液を調製し，比較原液とする。

(4)　硫酸アンモニウム標準液

硫酸アンモニウム約3.9ｇを精密に量り，クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）40mlを加えて15分間かくはんする。更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）を加えて50mlとし，標準原液とする。標準原液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH5.0）で４倍，６倍，10倍，30倍及び60倍に希釈し，硫酸アンモニウム標準液とする。

(5)　操作法

２本の試験管に，基質溶液2.0mlずつを入れ，37℃で10分間加温する。１本の試験管に試料溶液0.100mlを，もう１本の試験管に比較原液0.100mlを加えて混和する。これらの試験管を37℃で正確に30分間加温した後，トリクロロ酢酸溶液（１→４）0.400mlを加えて混和し，更に水2.5mlを加えて混和する。２本の試験管からそれぞれ0.100mlを量り，水4.0mlに加え，塩基性フェノール・ニトロプルシド試液0.850mlを加えて混合し，アスパラギナーゼ活性試験用次亜塩素酸ナト