第２のＤのアスペルギルスオリゼの⑶の酵素活性測定法の⑶中「酵素活性測定用アスパラギナーゼ」を「酵素活性測定用アスパラギナーゼ（*A. niger*由来）」に、同⑷の酵素活性測定法の⑴中「アスパラギナーゼ活性試験用次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液」を「アスパラギナーゼ（*A. niger*由来）活性測定用次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液」に、「酵素活性測定用アスパラギナーゼ」を「酵素活性測定用アスパラギナーゼ（*A. niger*由来）」に改め、同⑷の酵素活性測定法の次に次のように加える。

アスパラギナーゼ（*A. oryzae* NZYM-SP株由来）

酵素活性　本品は、１ｇあるいは１ml当たり3,500単位以上の酵素活性を有する。

性　　状　本品は、淡褐色の液体又は白～灰白色の顆粒である。

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　⑴　鉛　Pbとして5.0μg／ｇ以下

本品0.8ｇを量り、以下「アスパラギナーゼ（*A. niger* ASP-72株由来）」の純度試験⑴を準用する。

⑵　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　⑴　基質溶液

Ｌ－アスパラギン１水和物0.25ｇを量り、ＭＯＰＳ緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH7.0）15mlを加え、かくはんして完全に溶かした後、遮光し、これをＡ液とする。β－ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド二ナトリウム水和物（還元型）0.011ｇ、２－ケトグルタル酸二ナトリウム0.063ｇ及び1,680単位以上に対応する量のＬ－グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（ウシ肝臓由来）を量り、Ａ液に加え、かくはんして溶かした後、ＭＯＰＳ緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH7.0）を加えて正確に25mlとする。用時調製する。

⑵　試料溶液

本品約1.0ｇを精密に量り、酢酸緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH5.0、ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル含有）を加えて溶かし、正確に100mlとする。この液を酢酸緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH5.0、ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル含有）で希釈して、１ml中に0.6単位を含む液を調製し、試料溶液とする。

⑶　標準原液

775単位に対応する量の酵素活性測定用アスパラギナーゼ（*A. oryzae*由来）を量り、酢酸緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH5.0、ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル含有）を加えて溶かし、正確に100mlとする。この液を酢酸緩衝液（0.1mol／Ｌ、pH5.0、ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル含有）で８倍、10倍、15倍、20倍及び30倍に希釈して、１ml中に0.9688単位、0.7750単位、0.5167単位、0.3875単位及び0.2583単位を含む５濃度の液を調製し、標準原液とする。

⑷　操作法

試験管に基質溶液4.6mlを量り、37.0±0.5℃で８分間加温した後、試料溶液0.400mlを加えてかくはんし、37.0±0.5℃で90秒間加温した液を検液とする。検液につき、水を対照として、波長340nmにおける吸光度Ａを測定する。別に、基質溶液4.6mlずつを量り、５本の試験管に入れ、37.0±0.5℃で８分間加温し、試料溶液の代わりに、それぞれの試験管に異なる濃度の標準原液0.400mlずつを加えて、以下検液の調製と同様に操作し、標準液とする。標準液につき、水を対照として、波長340nmにおける吸光度を測定する。得られた吸光度と標準原液１ml中の酵素活性（単位／ml）から検量線を作成し、試料溶液中の酵素活性Ｕ（単位／ml）を検量線から求める。次式により、試料の酵素活性を求める。その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、Ｌ－アスパラギンから、１分間にアンモニア１μmolを遊離させる酵素量を１単位とする。

$$\text{酵素活性（単位／ｇ）}=\frac{\text{Ｕ}\times\text{Ｄ}\times100}{\text{試料の採取量（ｇ）}}$$

ただし、Ｕ：試料溶液中の酵素活性（単位／ml）

Ｄ：試料溶液の希釈係数

第２のＤのアセチルヘキサミニダーゼの⑴の次に次の⑵を加える。

亜セレン酸ナトリウム

Sodium Selenite

$Na_2SeO_3\cdot5H_2O$　　分子量　263.01

Disodium selenite pentahydrate　［26970－82－１］

含　　量　本品は、亜セレン酸ナトリウム（$Na_2SeO_3\cdot5H_2O$）98.5～101.5％を含む。

性　　状　本品は、白色の結晶性の粉末である。

確認試験　⑴　本品0.05ｇに水2.5ml及び希塩酸2.5mlを加えて溶かし、沸騰させる。これにＬ－アスコルビン酸0.05ｇを加えるとき、赤色の沈殿を生じ、これを数分間放置するとき、沈殿は赤褐～黒色に変わる。

⑵　本品0.05ｇに水５ml及び希塩酸１mlを加えて溶かし、塩化バリウム溶液（３→50）１mlを加えるとき、沈殿を生じない。

⑶　本品は、ナトリウム塩の反応を呈する。

純度試験　⑴　溶状　無色、澄明（2.0ｇ、二酸化炭素を含まない水20ml）

⑵　液性　pH9.8～10.8（2.0ｇ、二酸化炭素を含まない水20ml）

⑶　塩化物　Clとして0.005％以下

本品2.0ｇを量り、ネスラー管に入れ、水約30mlを加えて溶かし、硝酸４mlを加えて混合し、試料液とする。比較液には0.01mol／Ｌ塩酸0.30mlを用いる。

⑷　硫酸塩　SO_4として0.03％以下（0.8ｇ、比較液　0.005mol／Ｌ硫酸0.50ml）

⑸　鉛　Pbとして2.0μg／ｇ以下

鉛標準原液２mlを正確に量り、硝酸（１→200）を加えて正確に100mlとし、標準液とする。本品1.00ｇを量り、メスフラスコに入れ、硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、検液とする。同様に、本品1.00ｇずつを量り、３本のメスフラスコに入れ、標準液0.5ml、１ml及び２mlを正確に加え、それぞれに硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、標準検液とする。検液及び３濃度の標準検液につき、誘導結合プラズマ発光強度測定法により鉛の発光強度を測定する。横軸に検液及び各標準検液中の添加量（μg）、縦軸に発光強度をとり、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から、試料中の鉛の量を求める。

⑹　鉄　Feとして50μg／ｇ以下

鉄標準原液５mlを正確に量り、硝酸（１→200）を加えて正確に100mlとし、標準液とする。本品1.00ｇを量り、メスフラスコに入れ、硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、検液とする。同様に、本品1.00ｇずつを量り、３本のメスフラスコに入れ、標準液0.5ml、１ml及び２mlを正確に加え、それぞれに硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、標準検液とする。検液及び３濃度の標準検液につき、誘導結合プラズマ発光強度測定法により鉄の発光強度を測定する。横軸に検液及び各標準検液中の添加量（μg）、縦軸に発光強度をとり、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から、試料中の鉄の量を求める。

⑺　ヒ素　As_2O_3として4.0μg／ｇ以下

ヒ素標準原液（誘導結合プラズマ発光強度測定法用）３mlを正確に量り、硝酸（１→200）を加えて正確に100mlとし、標準液とする。本品1.00ｇを量り、メスフラスコに入れ、硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、検液とする。同様に、本品1.00ｇずつを量り、３本のメスフラスコに入れ、標準液0.5ml、１ml及び２mlを正確に加え、それぞれに硝酸（１→200）を加えて溶かして10mlとし、標準検液とする。検液及び３濃度の標準検液につき、誘導結合プラズマ発光強度測定法によりヒ素の発光強度を測定する。横軸に検液及び各標準検液中の添加量（μg）、縦軸に発光強度をとり、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から、試料中のヒ素の量を求める。