

## B 一般試験法

### 1. 亜硫酸塩定量法

亜硫酸塩定量法は、亜硫酸塩類をヨウ素と反応させた後、過量のヨウ素をチオ硫酸ナトリウムで逆滴定し、反応に要したヨウ素の量から亜硫酸塩を定量する方法である。

#### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

別に規定する試料の量を精密に量り、あらかじめ 0.05mol/L ヨウ素溶液 50mL を正確に量って入れた共栓三角フラスコに入れて溶かし、栓をして 5 分間放置した後、塩酸 (2→3) 2mL を加える。次に過量のヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する (指示薬 デンプン試液 1～3 mL)。ただし、デンプン試液は、終点近くで液がうすい黄色になったときに加え、終点は、液の青色が消えた点とする。別に空試験を行う。

### 2. イオンクロマトグラフィー

イオンクロマトグラフィーは、イオン交換体などを固定相としたカラム中に、移動相として溶離液を流すことにより、カラムに注入された混合物をイオン交換能の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、液体試料又は溶液にできる試料に適用でき、確認試験、純度試験、定量法等に用いる。

#### 装 置

通例、移動相送液用ポンプ、試料導入部、カラム、検出器及び記録装置データ処理部からなり、カラムは恒温槽カラム槽等により恒温に保たれる。ポンプは、カラム、及び連結チューブ等の中に一定流量で移動相を一定流量で送液することができるものである。試料導入部は、一定量の試料を再現性よく装置に導入するものである。検出器は、通例、電気伝導度計、紫外吸光光度計等が用いられ、移動相とは異なる性質の成分を検出するものであり、通例、数 µg 以下の物質に対して濃度に比例した信号を出すものである。記録装置は、検出器によって得られる信号の強さを記録するものである。なお、検出器として電気伝導度計を用いる場合、測定するイオン種成分の検出を損なうことなくバックグラウンドとなる電気伝導度を低減するため、サプレッサを電気伝導度計の前に設けてもよい。サプレッサを用いる場合は、溶離液には通例、水酸化カリウム、炭酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等の塩基性溶液を用いるは移動相の電気伝導度を低減し、信号とノイズの比を大きくするためのものである。データ処理部は、クロマトグラム、保持時間、又は成分定量値等を記録あるいは出力させることができる。

#### 操 作 法

装置をあらかじめ調整した後、別に規定する操作条件に移動相、カラム、検出器及び移動相流量を設定し、カラムを規定の温度で平衡にした後、別に規定する方法で調製した検液又は標準液若しくは比較液をマイクロシリンジ又は試料バルブを用いて試料導入部から導入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置データ処理部を用いてクロマトグラムを記録させる。物質の確認は、標準試料と保持時間 (検液を注入してから成分のピークの頂点が現われるまでの時間をいう。以下同じ。) が一致すること又は標準試料を添加しても保持時間が変化せずピークの幅が広がらないことで行う。定量は、ピーク面積高さ又はピーク高さ面積を用いて行い、通例、次のいずれかの方法による。

(1) 内標準法 別に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検成分を段階的に加えた標準液を数種類調製する。標準液を一定量ずつ注入して得られたクロマトグラムから、標準被検成分のピーク高さ又はピーク面積と内標準物質のピーク面積高さ又はピーク高さに対する面積標準被検成分のピーク面積又はピーク高さとの比を求める。この比を縦軸に、標準被検分量、又はと内標準物質質量に対するとの比又は標準被検分量の比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に別に規定する方法で同量の内標準物質を加えた検液を別に規定する方法で調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する被検成分のピーク面積高さ又はピーク高さ面積と内標準物質のピーク高さ又はピーク面積との比を求め、検量線を用いて被検分量を求める定量を行う。

(2) 絶対検量線法 標準被検成分を段階的にとり、標準液を調製し、一定量ずつ正確に、再現性良く注入する。得られたクロマトグラムから求めた標準被検成分のピーク 面積高さ又はピーク 高さ面積を縦軸に、標準被検分量を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に別に規定する方法で検液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク 面積高さ又はピーク 高さ面積を測定し、検量線を用いて被検分量を求める定量を行う。この方法は、注入操作など測定操作のすべてを厳密に一定の条件に保って行う。

なお、水は、イオンクロマトグラフィー用精製水を使用し、特に支障のない限り、陰イオン標準液を調製する場合には、ナトリウム塩又はカリウム塩を、陽イオン標準液を調製する場合には、塩化物又は硝酸塩を使用する。

また、いずれの方法の場合にもピーク 面積高さ又はピーク 高さ面積は、通例、次の方法を用いて測定する。

~~(1) ピーク高さによる場合~~

~~次のいずれかの方法を用いる。~~

- ~~1) ピーク高さ法~~ ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- ~~2) 自動ピーク高さ法~~ 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(1) ピーク面積による場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) 半値幅法 ピーク高さの midpoint におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。
- 2) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置部を用いてピーク面積として測定する。

(2) ピーク高さによる場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- 2) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理部を用いてピーク高さとして測定する。

### 3. 液体クロマトグラフィー

液体クロマトグラフィーは、固定相として適当な溶媒固定相を詰めた用いて作られたカラム中に、移動相として液体をポンプなどで加圧して流すことにより、カラムに注入された混合物を固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、液体試料又は溶液にできる試料に適用でき、確認試験、純度試験、定量法等に用いる。

## 装 置

通例、移動相送液用ポンプ、試料導入部、カラム、検出器及び記録装置データ処理部からなり、必要に応じて移動相組成制御装置、カラム槽、反応試薬送液用ポンプ及び化学反応槽等を用いる。ポンプは、カラム及び連結チューブ等の中に移動相及び反応試薬を一定流量で送ることができるものである。試料導入部は、一定量の試料を再現性よく装置に導入するものである。カラムは、一定の大きさにそろえた液体クロマトグラフィー用充填剤を内面が平滑で不活性な金属などの管に均一に充填したものである。~~カラムは、恒温槽等により恒温に保たれる。ポンプは、カラム、連結チューブ等の中を一定流量で移動相を送液できるものである。~~検出器は、通例、紫外及び又は可視の吸光光度計、示差屈折計、蛍光光度計、フォトダイオードアレイ検出器、質量分析計等が用いられ、移動相とは異なる性質の成分を検出するものであり、通例、数 µg 以下の物質に対して濃度に比例した信号を出すものである。~~記録装置は、検出器によって得られる信号の強さを記録するものである。~~データ処理部は、クロマトグラム、保持時間、又は成分定量値等を記録あるいは出力させることができる。移動相組成制御装置は、段階的制御（ステップワイズ方式）と濃度勾配制御（グラジエント方式）があり、移動相組成を制御できるものである。

## 操 作 法

装置をあらかじめ調整した後、別に規定する操作条件に移動相、カラム、検出器及び移動相流量を設定し、カラムを規定の温度で平衡にした後、別に規定する方法で調製した検液又は標準液若しくは比較液をマイクロシリンジ又は試料バルブを用いて試料導入部から導入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置データ処理部を用いてクロマトグラムを記録させる。分析される成分が検出器で検出されるのに適した吸収、蛍光などの物性を持たない場合は、適当な誘導体化を行い検出する。誘導体化は、通例、プレカラム法又はポストカラム法による。物質の確認は、標準試料と保持時間が一致すること又は標準試料を添加しても保持時間が変化せずピークの幅が広がらないことで行う。定量は、ピーク高さ面積又はピーク面積高さを用いて行い、通例、次のいずれかの方法による。

(1) 内標準法 別に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検成分を段階的に加えた標準液を数種類調製する。標準液を一定量ずつ注入して得られたクロマトグラムから、標準被検成分のピーク高さ又はピーク面積と内標準物質のピーク高さ面積又はピーク面積高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さとの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又はと内標準物質量に対する標準被検成分量との比又は標準被検成分量を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に別に規定する方法で同量の内標準物質を加えた検液を別に規定する方法で調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する被検成分のピーク高さ面積又はピーク面積高さとの比を求め、検量線を用いて定量を行う被検成分量を求める。成分規格・保存基準各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準液及びこれに近い濃度の検液を調製し、各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件で液体クロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。

(2) 絶対検量線法 標準被検成分を段階的にとり、標準液を調製し、一定量ずつ正確に、再現性良

く注入する。得られたクロマトグラムから求めた標準被検成分のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を縦軸に、標準被検成分量を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に別に規定する方法で検液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線を用いて 定量を行う被検成分量を求める。この方法は、注入操作など測定操作のすべてを厳密に一定の条件に保って行う。

なお、いずれの方法の場合にもピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ は、通例、次の方法を用いて測定する。

~~(1) ピーク高さによる場合~~

~~次のいずれかの方法を用いる。~~

- ~~1) ピーク高さ法~~ ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- ~~2) 自動ピーク高さ法~~ 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(2) ピーク面積による場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) 半値幅法 ピーク高さの midpoint におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。
- 2) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置部を用いてピーク面積として測定する。

(2) ピーク高さによる場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- 2) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理部を用いてピーク高さとして測定する。

システム適合性

システム適合性は、食品添加物の試験に使用するシステムが、当該の試験を行うのに適切な性能で稼働していることを確かめることを目的としている。規定された適合要件を満たさない場合には、そのシステムを用いて行った試験の結果を採用してはならない。

システム適合性は、基本的に「システムの性能」及び「システムの再現性」で評価されるが、純度試験においてはこれらに加えて「検出の確認」が求められる場合がある。

(1) 検出の確認

純度試験において、対象とする不純物等のピークがその規格限度値レベルの濃度で確実に検出されることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

(2) システムの性能

被検成分に対する特異性が担保されていることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

定量法では、原則として、被検成分と分離確認用物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度、及び必要な場合には、溶出順で規定する。純度試験では、原則として、被検成分と分離確認用物質との分離度及び溶出順で規定する。また、必要な場合には、シンメトリー係数を併せて規定する。ただし、適当な分離確認用物質がない場合には、被検成分の理論段数やシンメトリー係数で

規定しても差し支えない。

### (3) システムの再現性

標準液あるいはシステム適合性試験用溶液を繰返し注入したときの被検成分のレスポンスのばらつきの程度（精度）が試験の目的にかなうレベルにあることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

システムの再現性の許容限度値は、通常、繰返し注入における被検成分のレスポンスの相対標準偏差（RSD）として規定する。検液の注入を始める前に標準液の注入を繰り返す形だけでなく、標準液の注入を検液の注入の前後に分けて行う形や検液の注入の間に組み込んだ形でシステムの再現性を確認してもよい。

繰返し注入の回数は6回を原則とするが、グラジエント法を用いる場合や試料中に溶出が遅い成分が混在する場合など、1回の分析に時間がかかる場合には、6回注入時とほぼ同等のシステムの再現性が担保されるように、達成すべきばらつきの許容限度値を厳しく規定することにより、繰返し注入の回数を減らしてもよい。

システムの再現性の許容限度値は、当該試験法の適用を検討した際のデータと試験に必要とされる精度を考慮して、適切なレベルに設定する。

成分規格各条の操作条件のうち、カラムの内径及び長さ、充填剤の粒径、カラム温度、移動相の組成比、移動相の緩衝液組成、移動相のpH、移動相のイオン対形成剤濃度、移動相の塩濃度、切替え回数、切替え時間、グラジエントプログラム及びその流量、誘導体化試薬の組成及び流量、移動相の流量並びに反応時間及び化学反応槽温度は、システム適合性の規定に適合する範囲内で一部変更することができる。

### 用語

#### (1) S/N比：次の式で定義する。

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

ただし、H：対象物質のピークの基線（バックグラウンドノイズの中央値）からのピーク高さ

h：対象物質のピークの前後における検液又は溶媒ブランクのクロマトグラムのバックグラウンドノイズの幅

なお、基線及びバックグラウンドノイズは対象物質のピーク高さの midpoint におけるピーク幅の20倍に相当する範囲で測定する。また、溶媒ブランクを用いる場合、対象物質が溶出する位置付近で、上記とほぼ同様の範囲で測定する。

#### (2) シンメトリー係数：クロマトグラム上のピークの対称性の度合いを示すもので、シンメトリー係数Sとして次の式で定義する。

$$S = \frac{W_{0.05h}}{2f}$$

ただし、 $W_{0.05h}$ ：ピークの基線からピーク高さの1/20の高さにおけるピーク幅

f： $W_{0.05h}$ のピーク幅をピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線で二分したときのピークの立ち上がり側の距離

なお、 $W_{0.05h}$ 、f は同じ単位を用いる。

(3) 相対標準偏差：通例，次の式により定義される相対標準偏差（RSD）（%）で規定する。

$$RSD (\%) = \frac{100}{\bar{X}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

ただし， $x_i$ ：測定値

$\bar{X}$ ：測定値の平均値

$n$ ：測定回数

(4) ピークの完全分離：ピークが完全に分離するとは，分離度 1.5 以上を意味する。ベースライン分離ともいう。

(5) ピークバレー比：クロマトグラム上の二つのピークの間でベースライン分離が達成できないときに，それらのピークの間での分離の程度を示す指標となるもので，ピークバレー比  $p/v$  として次の式で定義する。

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

ただし， $H_p$ ：マイナーピークのピークの基線からのピーク高さ

$H_v$ ：マイナーピークとメジャーピークとの分離曲線の最下点（ピークの谷）のピークの基線からの高さ

(6) 分離係数：クロマトグラム上のピーク相互の保持時間の関係を示すもので，分離係数  $\alpha$  として次の式で定義する。分離係数  $\alpha$  は，二つの物質の分配の熱力学的な差の指標で，基本的には，二つの物質の分配平衡係数の比又は二つの物質の分布の比であるが，二つの物質の保持時間の比としてクロマトグラムから求める。

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0}$$

ただし， $t_{R1}$ ， $t_{R2}$ ：分離度測定に用いる二つの物質の保持時間， $t_{R1} < t_{R2}$

$t_0$ ：移動相のカラム通過時間（ $k = 0$  の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間）

(7) 分離度：クロマトグラム上のピーク相互の保持時間とそれぞれのピーク幅との関係を示すもので，分離度  $R_s$  として次の式で定義する。

$$R_s = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}}$$

ただし， $t_{R1}$ ， $t_{R2}$ ：分離度測定に用いる二つの物質の保持時間， $t_{R1} < t_{R2}$

$W_{0.5h1}$ ， $W_{0.5h2}$ ：それぞれのピークの高さの midpoint におけるピーク幅

なお， $t_{R1}$ ， $t_{R2}$ ， $W_{0.5h1}$ ， $W_{0.5h2}$  は同じ単位を用いる。

(8) 理論段数：カラム中における物質のバンドの広がりの度合いを示すもので，通例，理論段数  $N$  として次の式で定義する。

$$t_R^2$$

$$N = 5.54 \times \frac{\text{---}}{W_{0.5h}^2}$$

ただし、 $t_R$ ：物質の保持時間

$W_{0.5h}$ ：ピーク高さの midpoint におけるピーク幅

なお、 $t_R$ 、 $W_{0.5h}$  は同じ単位を用いる。

### 注意

試験に用いる試薬及び試液は測定の影響となる物質を含まないものを用いる。

## 4. 塩化物試験法

塩化物試験法は、試料中に混在する塩化物の許容限量を試験する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「C1 として 0.041% 以下 (0.30 g, 比較液 0.01mol/L 塩酸 0.35mL)」とあるのは、本品 0.30 g を量り、試料とし、比較液には、0.01mol/L 塩酸 0.35mL を用い、試験を行うとき、塩化物が、C1 として 0.041% 以下であることを示す。

### 操作法

#### (1) 検液及び比較液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料の量のみを規定する場合は、規定する量の試料を量り、ネスラー管に入れ、水約 30mL を加えて溶かし、液がアルカリ性の場合は、硝酸 (1→10) を加えて中和する。更に硝酸 (1→10) 6 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。また、試料液を調製する場合は、試料液をネスラー管に入れ、硝酸 (1→10) 6 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別のネスラー管に別に規定する量の 0.01mol/L 塩酸を量って入れ、硝酸 (1→10) 6 mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。検液が澄明でない場合は、両液を同じ条件でろ過する。

#### (2) 試験

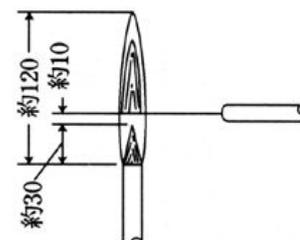
別に規定するもののほか、検液及び比較液に硝酸銀溶液 (1→50) 1 mL ずつを加えてよく混和し、直射日光を避け、5 分間放置した後、両ネスラー管を黒色を背景とし、側方及び上方から観察して濁度を比較するとき、検液の呈する濁度は、比較液の呈する濁度より濃くない。

## 5. 炎色反応試験法

炎色反応試験法は、ある種の元素がブンゼンバーナーの無色炎をそれぞれ固有の色に染める性質を利用して、その元素の定性を行う方法である。

### 操作法

試験に用いる白金線は、径約 0.8mm で、先端は直線のままで用いる。試料が固体の場合は、塩酸少量を加えてかゆ状とし、その少量を白金線先端から約 5 mm までの部分に付け、直ちに図に示すように、ほとんど水平に保って無色炎中に入れて試験する。また、試料が液体の場合は、白金線先端を試料中に約 5 mm 浸し、静かに引き上げて、以下固体の場合



(単位mm)

合と同様に試験する。

炎色反応が持続するとは、その反応が約4秒間持続することをいう。

## 6. 灰分及び酸不溶性灰分試験法

### 1. 灰 分

灰分試験法は、試料を規定された条件で強熱するとき、残留する物質の量を測定する方法である。

#### 操 作 法

あらかじめ白金製、石英製又は磁製のるつぼを500～550℃で1時間強熱し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。別に規定するもののほか、**分析用**試料2～4gを**採取し**、先のるつぼに入れ、その質量を精密に量る。必要ならば**るつぼのふたをとり、又はずらし、緩くふたをして**初めは弱く加熱し、徐々に温度を上げて**炭化する。更に電気炉に入れ**、500～550℃で4時間以上強熱して、**炭化物が残らなくなるまで**灰化し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。再び残留物を恒量になるまで**灰化強熱**し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。

この方法で、なお炭化物が残り、恒量にならないときには、熱湯を加えて浸出し、定量分析用ろ紙を用いてろ過し、残留物はろ紙及びろ紙上の不溶物とともに加熱して**炭化し、更に電気炉に入れ**、炭化物がなくなるまで500～550℃で強熱する。これにろ液を加えた後、蒸発乾固し、500～550℃で強熱し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。この方法でも炭化物が残るときは、エタノール**(95)**少量を加えて潤し、ガラス棒で炭化物を砕き、ガラス棒をエタノール**(95)**少量で洗い、エタノールを注意して蒸発**させ**た後、前と同様に操作して質量を精密に量る。

### 2. 酸不溶性灰分

酸不溶性灰分試験法は、塩酸(1→4)に不溶の灰分の量を測定する方法である。

#### 操 作 法

灰分に塩酸(1→4)25**mL**を注意して加え、5分間穏やかに煮沸し、不溶物を定量分析用ろ紙を用いてろ取し、熱湯でよく洗い、残留物をろ紙とともに乾燥した後、灰分の項と同様に操作した質量既知の白金製、石英製又は磁製のるつぼ**中に入れ、加熱して炭化し、更に電気炉に入れ**、3時間強熱し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。得られた値が規定の値より大きい場合は、恒量になるまで強熱する。

## 7. 核磁気共鳴スペクトル測定法

核磁気共鳴(以下「NMR」という。)スペクトル測定法は、静磁場に置かれた物質の構成原子核がその核に特有の周波数のラジオ波に共鳴して低エネルギーの核スピン状態から高エネルギーの核スピン状態に遷移することに伴ってラジオ波を吸収する現象を利用したスペクトル測定法であり、得られる化学シフト、スピンスピン結合定数、シグナル面積強度、緩和時間のパラメーターを利用し、確認試験、純度試験、定量法等に用いる。なお、測定対象とする核は主に $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{19}\text{F}$ 、 $^{31}\text{P}$ 等で

ある。

本試験法における化学シフト ( $\delta$ ) は、次の通りとする。

$$\delta = \frac{\nu_S - \nu_R}{\nu_R} + \delta_R$$

ただし、 $\nu_S$ ：試料核の共鳴周波数

$\nu_R$ ：基準核の共鳴周波数

$\delta_R$ ：基準核の化学シフト (0でない場合)

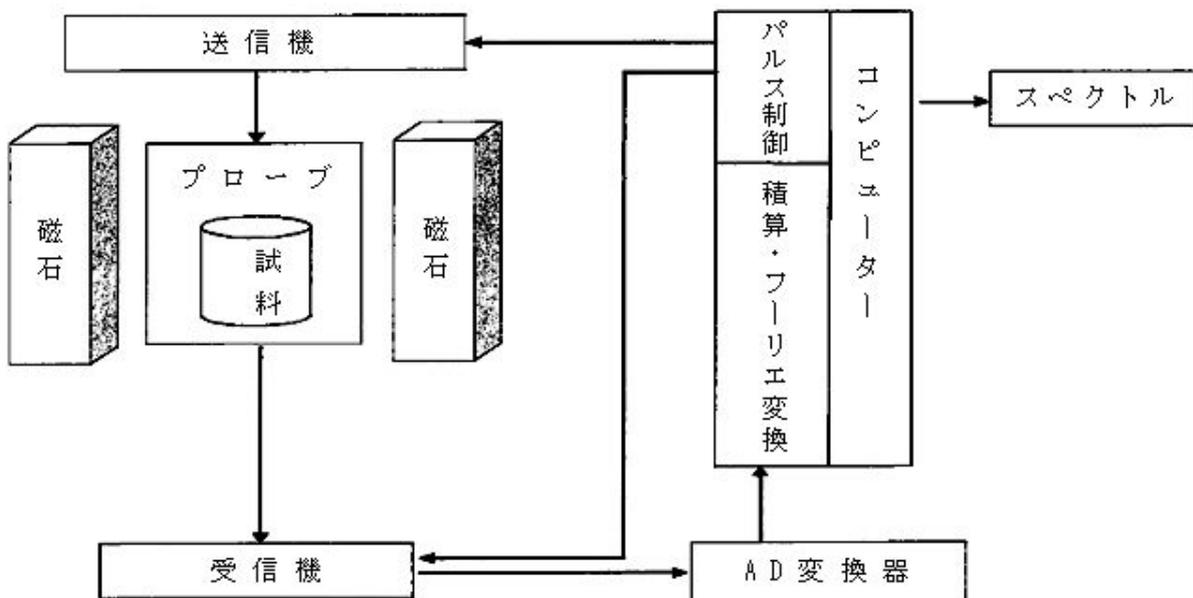
通例、化学シフトは、基準物質 (基準核) のシグナルの位置を 0 とした ppm 単位で表す。

## 装 置

~~NMR スペクトルの測定は次のいずれかの装置による。~~

~~(1) パルスフーリエ変換 NMR (FT-NMR) スペクトル測定装置を用いる。~~

概略は、[次の図 1](#)による。



[図 1](#)

~~(2) 連続波 NMR (CW-NMR) スペクトル測定装置~~

~~概略は、[図 2](#)による。~~

~~画像 6 (20KB)~~

[図 2](#)

## 操作 法

装置の感度及び分解能を~~エチルベンゼン、1, 2-ジクロロベンゼン又はアセトアルデヒドの NMR 測定用重水素化溶媒溶液等を用いて~~至適条件に調整した後、通例、次の方法でスペクトルを測定する。

- (1) 試料を溶媒に溶かし、少量の基準物質を加え、その溶液を NMR 試料管に注入する内部基準法、又は基準物質の溶液を封入した細管を別に規定する検液とともに NMR 試料管に入れる外部基準法のいずれかの方法で用意した試料管を NMR プローブに設置してスペクトルを測定する。検液は完

全に均一な溶液であることが望ましい。特に、固形の異物の混入があると良いスペクトルが得られない。測定溶媒としては、通例NMR測定用重水素化溶媒を用いる。溶媒の選択に当たっては、(i) 試料のシグナルと重なるシグナルを示さないこと、(ii) 試料をよく溶かすこと、(iii) 試料と反応しないこと等を考慮する必要がある。ただし、溶媒の種類、溶液の濃度、重水素イオン濃度等により化学シフトが変化することがある。また、試料溶液検液の粘度が高い場合には、分解能が低下するので注意する。

(2) 基準物質としては、~~NMR測定用試薬を用いる。通例、 $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ のいずれも測定溶媒として有機溶媒を用いた場合はテトラメチルシラン（TMS）等を、重水を用いた場合は3-トリメチルシリルプロパンスルホン酸ナトリウム(DSS)又は3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム= $d_4$ (TSP) DSS- $d_6$ 、1,4-BTMSB- $d_4$ 等を用いる。その他の核では、 $^{15}\text{N}$ はニトロメタン、 $^{19}\text{F}$ はトリクロロフルオロメタン、 $^{31}\text{P}$ はリン酸等を用いる。~~また、基準物質を入れずに、重水素化溶媒中の残留プロトンや測定溶媒の $^{13}\text{C}$ の化学シフトを用いることもできる。

なお、基準物質のシグナル位置が0とできない場合は、その基準物質のあらかじめ定められている化学シフトを用いて補正する。

### 装置及び測定条件の記載

測定条件の違いによりスペクトルは異なるので、スペクトルの比較などを適切に行うために、測定に用いた装置名、装置の周波数、測定溶媒、測定温度、試料濃度、基準物質、測定手法等の測定条件を記載する。

## 8. ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラフィーは、適当な固定相を用いて作られたカラムに、移動相として気体（キャリアガス）を流すことにより、カラムに注入された混合物を気体状態で展開させ、固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、気体、液体又は気化できる試料に適用でき、確認試験、純度試験、定量法などに用いる。

### 装 置

通例、キャリアガス導入部流量制御部、試料導入部、恒温槽に内蔵されたカラム、カラム槽、検出器及び記録装置データ処理部からなり、必要ならば燃焼ガス、助燃ガス、付加ガスなど等の導入装置及び流量制御装置部や、気体・液体試料導入部あるいはヘッドスペース用試料導入装置などサンプラー等を用いる。キャリアガス導入部流量制御部は、キャリアガスを一定流量でカラム中へ送るもので、通例、調圧弁、流量調節弁、圧力計等で構成される。試料導入部は、試料をキャリアガス流路中に導入するための部分で、使用するカラムによって、キャピラリーカラム用と充填カラム用に大別される。なお、キャピラリーカラム用試料導入方法には、分割導入方式（スプリット）と非分割導入方式（スプリットレス）等がある。カラム槽は、必要な長さのカラムを収容できる容積があり、カラムを必要な温度に保つための温度制御機構を持つものである。検出器は、通例、熱伝導度検出器、水素炎イオン化検出器、電子捕獲検出器、窒素リン検出器、炎光光度検出器、質量分析計等が用いられ、キャリアガスとは異なる性質の成分を検出するものである。記録装置は、検出器によって得られる信号の強さを記録するものである。データ処理部は、クロマトグラム、保持時間、又は成分定量値等を記録あるいは出力させることができる。

## 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

装置をあらかじめ調整した後、別に規定する操作条件に検出器、カラム、温度及びキャリアーガス流量を設定し、別に規定する方法で調製した検液又は標準液若しくは比較液を~~マイクロシリンジを用いて~~試料導入部から導入する。分離された成分を検出器により検出し、~~記録装置~~データ処理部を用いてクロマトグラムを記録させる。物質の確認は、標準試料と保持時間が一致すること又は標準試料を添加しても保持時間が変化せずピークの幅も広がらないことで行う。

定量は、ピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を用いて行い、通例、次のいずれかの方法による。

- (1) 内標準法 別に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検成分を段階的に加えた標準液を数種類調製する。標準液を一定量ずつ注入して得られたクロマトグラムから、標準被検成分のピーク高さ又はピーク面積と内標準物質のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ に対する 標準被検成分のピーク面積又はピーク高さとの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又はと内標準物質量に対する との比又は標準被検成分量の 比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に 別に規定する方法で同量の内標準物質を加えた検液を 別に規定する方法で調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する被検成分のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さと内標準物質の ピーク高さ又はピーク面積との比を求め、検量線を用いて 定量を行う。成分規格・保存基準各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準液及びこれに近い濃度の検液を調製し、各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。
- (2) 絶対検量線法 標準被検成分を段階的にとり、標準液を調製し、一定量ずつ 正確に、再現性良く 注入する。得られたクロマトグラムから求めた標準被検成分のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を縦軸に、標準被検成分量を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に別に規定する方法で検液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線を用いて 被検成分量を求める 定量を行う。この方法は、注入操作など測定操作のすべてを厳密に一定の条件に保って行う。
- (3) 標準添加法 試料の溶液から4個以上の一定量の液を正確にとる。このうちの1個を除き、採取した液に被検成分の標準液を被検成分の濃度が段階的に異なるように正確に加える。これらの液及び先に除いた1個の液をそれぞれ正確に一定量に希釈し、それぞれ検液とする。検液をそれぞれ一定量ずつ 正確に 再現性よく注入して得られたクロマトグラムから、それぞれのピーク面積 又は ピーク高さ を求める。それぞれの検液に加えられた被検成分の濃度を算出し、横軸に標準液の添加による被検成分の増加量を 横軸に、縦軸にピーク面積 又は 高さを 縦軸にをとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、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被検成分量を求める。~~通例、標準液などの規定量を繰り返し注入し、得られたそれぞれのクロマトグラムから標準被検成分のピーク面積を求め、その相対標準偏差（変動係数）を求めて再現性を確かめる。~~なお、本法は、絶対検量線法で被検成分の検量線を作成するとき、検量線が、原点を通る直線であるときに適用できる。また、全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。

なお、いずれの方法の場合にもピーク 面積高さ 又はピーク 高さ面積 は、通例、次の方法を用いて測定

する。

~~(1) ピーク高さによる場合~~

~~次のいずれかの方法を用いる。~~

- ~~1) ピーク高さ法~~ ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- ~~2) 自動ピーク高さ法~~ 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(2) ピーク面積による場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) 半値幅法 ピーク高さの midpoint におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。
- 2) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置部を用いてピーク面積として測定する。

(2) ピーク高さによる場合

次のいずれかの方法を用いる。

- 1) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。
- 2) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理装置部を用いてピーク高さとして測定する。

注意：試験に用いる試薬及び試液は測定の妨げとなる物質を含まないものを用いる。

システム適合性

3. 液体クロマトグラフィーのシステム適合性の規定を準用する。

成分規格各条の操作条件のうち、カラムの内径及び長さ、充填剤の粒径、固定相の濃度又は厚さ、カラム温度、昇温速度、キャリアーガスの種類及び流量、スプリット比は、システム適合性の規定に適合する範囲内で一部変更することができる。また、ヘッドスペースサンプラー及びその操作条件は、規定の方法以上の真度及び精度が得られる範囲内で変更することができる。

用語

3. 液体クロマトグラフィーの用語の定義を準用する。

注意

試験に用いる試薬及び試液は測定の妨げとなる物質を含まないものを用いる。

## 9. カルシウム塩定量法

カルシウム塩定量法は、カルシウム塩類の含量を、~~エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA)~~  
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウムを用いて定量する方法で、~~EDTA~~エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液による直接滴定法（第1法）と、過量の EDTAエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液を加えた後、酢酸亜鉛溶液で滴定する逆滴定法（第2法）がある。

### 操作法

別に規定するもののほか、次のいずれかの方法による。

第1法 別に規定する検液 10mL を正確に量り、水 50mL を加え、水酸化カリウム溶液（1→10）10mL を加えて約1分間放置した後、NN指示薬約0.1gを加え、直ちに 0.05mol/L ~~EDTA~~エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液で滴定する。終点は、液の赤紫色が完全に消失して青色となるときとする。

第2法 別に規定する検液  $20\text{mL}$  を正確に量り、 $0.02\text{mol/L}$  EDTA-エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム 溶液  $25\text{mL}$  を正確に量って加え、次に水  $50\text{mL}$  及び アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液 (pH10.7) アンモニウム緩衝液 (pH10.7)  $5\text{mL}$  を加えて約1分間放置した後、エリオクロムブラックT・塩化ナトリウム指示薬  $0.025\text{g}$   $25\text{mg}$  を加え、直ちに過量の EDTA-エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム を  $0.02\text{mol/L}$  酢酸亜鉛溶液で滴定する。終点は、液の青色が青紫色となるときとする。別に空試験を行う。

## 10. 乾燥減量試験法

乾燥減量試験法は、試料を規定された条件で乾燥するとき失われる水分及び揮発性物質の量を測定する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「 $0.50\%$ 以下 ( $105^\circ\text{C}$ , 3時間)」とあるのは、試料  $1\sim 2\text{g}$  を精密に量り、 $105^\circ\text{C}$  で3時間乾燥するとき、その減量が試料の採取量に対して  $0.50\%$  以下であることを示し、また、「 $0.505.0\%$ 以下 (減圧  $0.5\text{g}$ ,  $1.3\text{kPa}$  以下, 24時間)」とあるのは、試料 約  $1\sim 20.5\text{g}$  を精密に量り、シリカゲルを乾燥剤としたデシケーターに入れ、 $2.0\pm 0.3\text{kPa}$  以下の減圧下で24時間乾燥するとき、その減量が試料の採取量に対して  $0.505.0\%$  以下であることを示す。

### 操作法

あらかじめ ひょう量秤量瓶 を別に規定する乾燥条件に準じて 約30分間以上 乾燥し、加熱した場合はデシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。試料が大きな結晶又は塊の場合は、速やかに粉碎して径約  $2\text{mm}$  以下の大きさとし、別に規定するもののほか、その  $1\sim 2\text{g}$  を先の ひょう量秤量瓶 に入れ、厚さ  $5\text{mm}$  以下の層となるように広げた後、その質量を精密に量る。次に、乾燥温度を規定する場合は、秤量瓶これを乾燥器に入れ、特に規定しない場合はシリカゲルを乾燥剤としたデシケーターに入れ、栓をとってそばに置き、別に規定する条件で乾燥した後、栓をして乾燥器又はデシケーターから取り出してその質量を精密に量る。 加熱した場合は、別に規定するもののほか、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。なお、試料が規定の乾燥温度より低い温度で融解する場合は、その融解温度より  $5\sim 10^\circ\text{C}$  低い温度で  $1\sim 2$  時間乾燥した後、別に規定する乾燥条件で乾燥する。

## 11. 凝固点測定法

凝固点は、次の方法で測定する。

### 装置

概略は、第1図による。

- A: ガラス製円筒 (内外の壁に曇り止めのためシリコン油を塗る。)
- B: 試料容器 (硬質ガラス製試験管で、必要があれば壁に曇り止めのためシリコン油を塗る。ただし、内壁の試料に接する部分には塗らない。A中に差し込み、コルク栓で固定する。)
- C: 標線
- D: ガラス製又はプラスチック製冷却浴
- E: ガラス製又はステンレス製かき混ぜ棒 (径  $3\text{mm}$ , 下端を外径  $18\text{mm}$  の輪状にしたもの)

F：浸線付温度計（棒状）

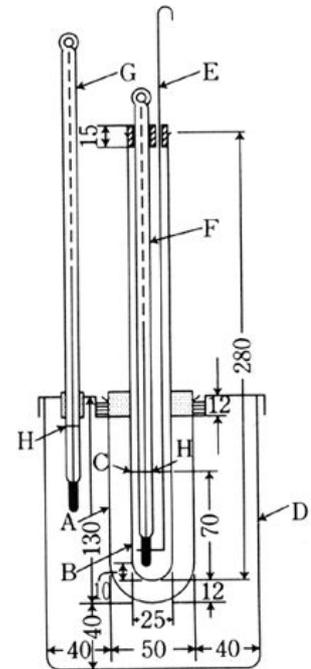
G：補助温度計

H：浸線

### 操作法

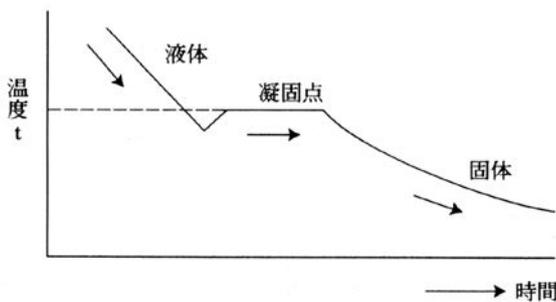
ガラス製又はプラスチック製冷却浴Dに予想される凝固点よりも5℃低い温度の水をほぼ全満する。試料が常温で液体の場合は、Dの水を予想した凝固点より10～15℃低くする。試料を試料容器Bの標線Cまで入れる。試料が固体の場合は、予想される凝固点よりも20℃以上高くないように注意して加温して溶かし、Bに入れる。Bをガラス製円筒A中に差し込み、浸線付温度計Fの浸線Hを試料のメニスカスに合わせた後、試料の温度が予想される凝固点よりも5℃高い温度まで冷却されたとき、かき混ぜ棒Eを毎分60～80回の割合で上下に動かし、30秒間ごとに温度を読む。温度は、徐々に下がるが、結晶が析出し始めて温度が一定になるか、又はやや上がり始めたとき、かき混ぜをやめる。

通例、温度は、上昇の後にしばらく一定になる。この維持された最高温度（Fの示度）を読み取る（第2図）。温度上昇の起こらない場合は、しばらく静止した温度を読み取る（第3図）。連続4回以上の読み取り温度の範囲が0.2℃以内のとき、その平均値をとり、凝固点とする。なお試料中に混在する不純物が多い場合は、凝固点曲線は、第2図のようにはならず、第3図、第4図又は第5図のようになる。第4図と第5図の場合は、固相と液相の延長線の交点をグラフから求めて凝固点とし、第3図の場合は、第2図に準ずる。

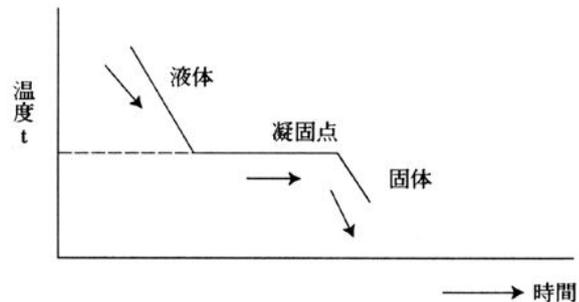


(単位mm)

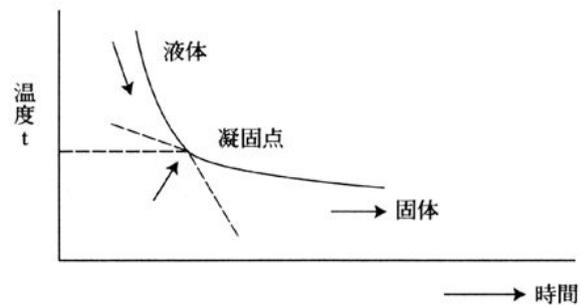
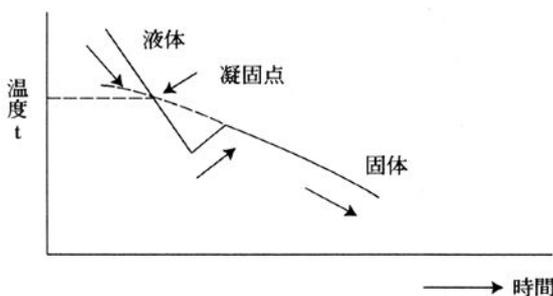
第1図



第2図



第3図



#### 第4図

#### 第5図

注意：過冷の状態が予想される場合は、Bの内壁をこするか、温度が予想される凝固点に近づいたとき、固体試料の小片を投入して凝固を促進させる。

### 12. 強熱減量試験法

強熱減量試験法は、試料を規定された条件で強熱するとき失われる水分その他の混在物の量を測定する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「18.0～24.0%」とあるのは、試料1～2 gを精密に量り、450～550℃で3時間強熱するとき、その減量が試料の採取量に対して18.0～24.0%であることを示す。「10%以下 (0.5 g, 1,000℃, 30分間)」とあるのは、試料約0.5 gを精密に量り、1,000℃で30分間強熱するとき、その減量が試料の採取量の10%以下であることを示す。また、成分規格・保存基準各条において乾燥物とある場合は、それぞれの成分規格・保存基準各条において規定する乾燥減量の条件で乾燥したものを試料として試験を行う。

#### 操作法

あらかじめ白金製、石英製又は磁製のるつぼを別に規定する強熱条件に準じて約30分間以上強熱し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。

試料が大きな結晶又は塊の場合は、速やかに粉碎して径約2 mm以下の大きさとし、別に規定するもののほか、その1～2 gを先のるつぼに入れ、その質量を精密に量る。これを電気炉に入れ、別に規定するもののほか、450～550℃で3時間強熱し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。

### 13. 強熱残分試験法

強熱残分試験法は、試料に硫酸を加えて強熱するとき残留する物質の量を測定する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「~~0.10.5~~%以下」とあるのは、試料1～2 gを精密に量り、次の操作法によるとき硫酸を加え、~~450～550℃で3時間強熱するとき~~、その残分が試料の採取量に対して~~0.10.5~~%以下であることを示す。「~~7.00.02~~%以下 (~~3.5~~ g, ~~800~~850℃, ~~1530~~分間, 乾燥物換算)」とあるのは、試料約~~3.5~~ gを精密に量り、次の方法により操作し硫酸を加え、~~800~~850℃で~~1530~~分間強熱するとき、その残分が乾燥物換算した試料の採取量に対して~~0.027.0~~%以下であることを示す。また、成分規格・保存基準各条において乾燥物とある場合は、それぞれの成分規格・保存基準各条において規定する乾燥減量の条件で乾燥したものを試料として試験を行う。

#### 操作法

あらかじめ白金製、石英製又は磁製のるつぼを 600±50℃又は別に規定する強熱条件に準じて約30分間以上強熱し、デシケーター中で放冷した後、その質量を精密に量る。

試料が大きな結晶又は塊の場合は、速やかに粉碎して径約2 mm以下の大きさとする。別に規定するもののほか、その1～2 gを先のるつぼに入れ、その質量を精密に量り、硫酸少量、通例、1 mLを加えて潤し、徐々に加熱してできるだけ低温でほとんど灰化炭化した後、放冷する。更に硫酸 1 mLを加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど白煙が発生しなくなった後、電気炉に入れ、別に規定す

るもののほか、~~600±50~~~~450~~～~~550~~°Cで3時間強熱する。次にるつぼをデシケーター中で放冷し、その質量を精密に量る。ただし、得られた値が規定値に適合していない場合は、~~残留物が恒量になるまで強熱する。~~別に規定するもののほか、更に上記と同様の硫酸による湿潤、加熱及び30分間の強熱操作を繰り返す、前後の秤量差が0.5mg以下になるか、又は規格値以下になったときに試験を終了する。

#### 14. 屈折率測定法

屈折率測定法は、空気中から試料中に光が進むときにその界面で生じる屈折現象における入射角  $i$  の正弦と屈折角  $r$  の正弦との比、すなわち試料の空気に対する屈折率を測定する方法である。 空気中とは大気圧の空気の存在する場所であり、測定用の光はナトリウムスペクトルのD線を用いる。 屈折率は、投射される光の波長と温度によって変化するので  $n_D^t$  で表す。  $t$  は測定温度 (°C) であり、 $D$  はD線を示す。 等方性の物質の場合、光の波長、温度及び圧力が一定のとき、屈折率は、物質に固有の定数である。~~り、したがって、物質の純度の試験に用いる。~~

~~屈折率  $n_D^t$  とは、光線としてナトリウムスペクトル中のD線を用い、温度  $t$ °C で測定したときの空気に対する屈折率を意味する。~~ 屈折率の測定には、屈折率の測定範囲が 1.300～1.700 で、0.0001 のけたまで読み取ることのできる屈折計別に規定するもののほか、通例、アッペ屈折計を用い、規定温度の±0.2°Cの範囲内で行う。

#### 15. 原子吸光光度法

原子吸光光度法は、光が原子蒸気層を通過するとき、基底状態の原子が特有波長の光を吸収する現象を利用し、試料中の被検元素量（濃度）を測定する方法である。

##### 装 置

通例、光源部、試料原子化部、分光部、測光部及び表示記録部からなる。また、バックグラウンド補正部を備えたものもある。光源部には中空陰極ランプ又は放電ランプ等を用いる。試料原子化部はフレーム方式、電気加熱方式及び冷蒸気方式があり、冷蒸気方式は、試料中の水銀を原子蒸気化するためのもので、更に還元気化法及び加熱気化法に分けられる。フレーム方式は、バーナー及びガス流量調節器、電気加熱方式は、電気加熱炉及び電源部、冷蒸気方式は、還元気化器や加熱気化器等の水銀発生部及び吸収セルからなる。分光部には回折格子又は干渉フィルターを用いる。測光部は、検出器及び信号処理系からなる。表示記録部には、ディスプレイ、記録装置等がある。バックグラウンド補正部はバックグラウンドを補正するためのもので、方式には連続スペクトル光源方式、ゼーマン方式、非共鳴近接線方式、自己反転方式がある。

その他の特殊な装置として、水素化物発生装置及び加熱吸収セルがあり、ヒ素やセレンなどの分析に用いることができる。 水素化物発生装置には、貯留式又は連続式があり、加熱吸収セルには、フレームによる加熱用又は電気炉による加熱用のものがある。

##### 操 作 法

別に規定するもののほか、次のいずれかの方法による。

- (1) フレーム方式 別に規定する光源ランプを装てん~~ん~~填し、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に別に規定する支燃性ガス及び可燃性ガスを用い、これらの混合ガスに点火してガス流量及び圧力を調節し、溶媒をフレーム中に噴霧してゼロ合わせを行う。別に規定する方法で調製した検液又は標準液若しくは比較液をフレーム中に噴霧し、その吸光度を測定する。
- (2) 電気加熱方式 別に規定する光源ランプを装てん~~ん~~填し、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に別に規定する方法で調製した検液又は標準液若しくは比較液の一定量を電気加熱炉に注入し、適当な流量のフローガスを流し、~~適当な~~温度、時間、加熱モードを~~適当に設定して~~で、乾燥~~させ~~、灰化~~させ~~、原子化~~を行い~~させ、その吸光度を測定する。
- (3) 冷蒸気方式 ~~別に規定する光源~~低圧水銀ランプを装てん~~ん~~填し、測光部に通電する。光源ランプを点灯し、分光器を別に規定する分析線波長に合わせた後、適当な電流値とスリット幅に設定する。次に還元気化法では検液又は標準液若しくは比較液を密閉容器にとり、適当な還元剤を加えて元素になるまで還元した後、気化させる。また、加熱気化法では試料を加熱して気化させる。これらの方法によって生じた原子蒸気の吸光度を測定する。

定量は、通例、次のいずれかの方法による。なお、定量に際しては、干渉及びバックグラウンドを考慮する必要がある。

- (1) 検量線法 3種以上の濃度の異なる標準液を調製し、それぞれの標準液につき、その吸光度を測定し、得られた値から検量線を作成する。次に測定可能な濃度範囲に調製した検液の吸光度を測定した後、検量線から被検元素量（濃度）を求める。
- (2) 標準添加法 同量の検液3個以上をとり、それぞれに被検元素が段階的に含まれるように標準液を添加し、更に溶媒を加えて一定容量とする。それぞれの溶液につき、吸光度を測定し、横軸に添加した標準被検元素量（濃度）、縦軸に吸光度をとり、グラフにそれぞれの値をプロットする。プロットから得られた回帰線を延長し、横軸との交点と原点との距離から被検元素量（濃度）を求める。ただし、この方法は、(1) による検量線が原点を通る直線の場合のみに適用できる。
- (3) 内標準法 内標準元素の一定量に対して標準被検元素の~~既知量~~を~~それぞれ~~段階的に加え、~~を~~標準液を~~数種類~~調製する。それぞれの~~溶液~~につき、各元素の分析線波長で標準被検元素による吸光度及び内標準元素による吸光度を同一条件で測定し、標準被検元素による吸光度と内標準元素による吸光度との比を求める。横軸に標準被検元素量（濃度）、縦軸に吸光度の比をとり、検量線を作成する。次に標準液の場合と同量の内標準元素を加えた検液を調製し、検量線を作成したときと同一条件で得た被検元素による吸光度と内標準元素による吸光度との比を求め、検量線から被検元素量（濃度）を求める。

注意：試験に用いる試薬、~~試液~~及びガスは、測定の妨げとならないものを用いる。

## 16. 香料試験法

### 1. アルコール類含量

アルコール類含量とは、試料中に含まれるアルコール類の含量である。

## 操作法

別に規定するもののほか、次のいずれかの方法による。

### 第1法

~~試料10mlを正確に量り、100mlのフラスコに入れ、無水酢酸10ml及び無水酢酸ナトリウム1gを加え、空気冷却器を付けてホットプレートで1時間穏やかに煮沸する。次に15分間放冷した後、水50mlを加え、時々振り混ぜながら水浴中で15分間加熱する。冷後、内容物を分液漏斗に移し、水層を分離する。油層は、無水炭酸ナトリウム溶液(1→8)で洗液がアルカリ性となるまで洗い、更に塩化ナトリウム溶液(1→10)で洗液が中性となるまで洗い、乾燥した容器に入れ、無水硫酸ナトリウム約2gを加えてよく振り混ぜ、約30分間放置した後、ろ過する。ここに得たアセチル化油について別に規定する量を精密に量り、香料試験法中のエステル価の試験を行う。このエステル価をアセチル価と呼び、次式により求める。~~

~~アセチル価 =  $(a - b) \times 28.05$  / アセチル化油の採取量 (g)~~

~~アルコール類含量 =  $(\text{アルコールの分子量} \times (a - b) \times 0.5) / \{ \text{アセチル化油の採取量 (g)} - 0.02102 - (a - b) \} \times 1,000$  (%) =  $(\text{アセチル価} \times \text{アルコールの分子量}) / (561.1 - (0.4204 \times \text{アセチル価}))$  (%)~~

~~ただし、a : 空試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (ml)~~

~~b : 本試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (ml)~~

### 第2法

別に規定する量の試料を精密に量り、200mlの共栓三角フラスコに入れ、無水酢酸・ピリジン試液5mlを正確に量って加える。すり合せの部分に2～3滴のピリジンでぬらし、軽く栓をして水浴中で1時間加熱する。冷後、栓及びフラスコの内壁を洗うように水10mlを加える。栓をしてよく振り混ぜた後、常温まで冷却し、中和エタノールエタノール(中和)5mlですり合せ部分及びフラスコの内壁を洗い込み、0.5mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液0.5mol/L水酸化カリウム・エタノール溶液で滴定する(指示薬 クレゾールレッド・チモールブルー試液2～3滴)か、又は電位差計を用いて確認する。別に空試験を行う。

アルコールの分子量  $\times (a - b) \times 0.5$

アルコール類含量 (%) =  $\frac{\text{アルコールの分子量} \times (a - b) \times 0.5}{\text{試料の採取量 (g)} \times 1000} \times 100$

ただし、a : 空試験における 0.5mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液0.5mol/L水酸化カリウム・エタノール溶液の消費量 (ml)

b : 本試験における 0.5mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液0.5mol/L水酸化カリウム・エタノール溶液の消費量 (ml)

## 2. アルデヒド類又はケトン類含量

アルデヒド類又はケトン類含量は、アルデヒド又はケトンがヒドロキシルアミン(NH<sub>2</sub>OH)と反応する性質を利用し、求める。

## 操作法

別に規定するもののほか、次のいずれかの方法による。

### 第1法

別に規定する量の試料を精密に量り、0.5mol/L塩酸ヒドロキシルアミン溶液0.5mol/L塩化

ヒドロキシルアンモニウム溶液 50mL を正確に量って加え、よく振り混ぜた後、別に規定する時間放置するか、又は還流冷却器を付けて水浴中で別に規定する時間穏やかに加熱煮沸し、室温まで冷却する。次に遊離した酸を ~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 で滴定する。終点は、電位差計を用いるか、又は液が緑黄色となるときとする。別に空試験を行い補正し、次式により含量を求める。

$$\text{アルデヒド類又はケトン類含量 (\%)} = \frac{\text{アルデヒド又はケトンの分子量} \times (a - b) \times 0.5}{\text{試料の採取量 (g)} \times 1000} \times 100$$

—(%)—

ただし、a : 本試験における ~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 の消費量 (mL)

b : 空試験における ~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 の消費量 (mL)

## 第2法

別に規定する量の試料を精密に量り、ヒドロキシルアミン試液 75mL を正確に量って加え、よく振り混ぜた後、別に規定する時間放置するか、又は還流冷却器を付けて水浴中で別に規定する時間穏やかに加熱煮沸し、室温まで冷却する。次に、過量のヒドロキシルアミンを 0.5mol/L 塩酸で滴定する。終点は、電位差計を用いるか、又は液の紫色が緑黄色となるときとする。別に空試験を行い、次式により含量を求める。

$$\text{アルデヒド類又はケトン類含量 (\%)} = \frac{\text{アルデヒド又はケトンの分子量} \times (a - b) \times 0.5}{\text{試料の採取量 (g)} \times 1000} \times 100$$

—(%)—

ただし、a : 空試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

b : 本試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

## 3. エステル価

エステル価とは、試料 1 g 中に含まれるエステルのけん化に要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「3.0 以下 (5 g, 香料試験法)」とあるのは、本品約 5 g を量り、次の方法によるとき、エステル価が、3.0 以下であることを示す。

### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

別に規定する量の試料を精密に量り、200mL のフラスコに入れ、エタノール (95) 10mL 及びフェノールフタレイン試液 3 滴を加え、水酸化カリウム溶液 (1→250) で中和し、~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 25mL を正確に量って加え、還流冷却器を付けて水浴中で 1 時間穏やかに煮沸加熱する。冷後、過量の水酸化カリウムを 0.5mol/L 塩酸で滴定する (指示薬 フェノールフタレイン試液 2～3 滴) か、又は電位差計を用いて滴定する。別に空試験を行い、次式によりエステル価を求める。

$$\text{エステル価} = \frac{(a - b) \times 28.05}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

ただし、a：空試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

b：本試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

#### 4. エステル含量

一塩基性酸のエステルの含量は、香料試験法中のエステル価の試験を行い、次式により求める。

$$\text{エステル含量 (\%)} = \frac{\text{エステルの分子量} \times (a - b) \times 0.5}{\text{試料の採取量 (g)} \times 1000} \times 100 = \frac{\text{エステル価} \times \text{エステルの分子量}}{561.1}$$

ただし、a 及び b は、エステル価の a 及び b を用いる。

#### 5. ハロゲン化合物

~~ハロゲン化銅の炎色反応を利用し、ハロゲン化合物の有無を試験する。~~

##### 操作法

~~幅 1.5cm、長さ 5cm、網目約 1mm の銅網を先端に巻きつけた銅線を用いる。この銅網をバーナーの無色炎中で炎に緑色を認めなくなるまでよく焼いた後、放冷し、更にこの操作を数回繰り返す。冷後、この銅網に試料 2 滴を付けて燃やし、この操作を 3 回繰り返した後、この銅網を約 4cm の高さに調整した無色炎の外縁で焼く。このとき炎は、緑色を呈さない。~~

#### 65. けん化価

けん化価とは、試料 1 g 中に含まれるエステルのけん化及び遊離酸の中和に要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

##### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

別に規定する量の試料を精密に量り、200mL のフラスコに入れ、~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 25mL を正確に量って加え、還流冷却器を付けて水浴中で 1 時間穏やかに加熱煮沸する。冷後、過量のアルカリを 0.5mol/L 塩酸で滴定する (指示薬 フェノールフタレイン試液 1 mL) か、又は電位差計を用いて滴定する。別に空試験を行い、次式によりけん化価を求める。

$$\text{けん化価} = \frac{(a - b) \times 28.05}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

ただし、a：空試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

b：本試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

#### 76. 酸価

酸価とは、試料 1 g を中和するのに要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、6.0 以下 (香料試験法) と規定する場合は、次の方法によるとき、酸価が、6.0 以下であることを示す。

##### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料約 10 g を精密に量り、~~中和エタノール~~エタノール (中和) 約 50mL を加え、必要があれば加温して溶かし、フェノールフタレイン試液数滴を加え、しばしば振り混ぜながら、0.1mol/L 水酸化カリウム溶液でマイクロビュレットを用い、30 秒間持続する淡紅色を呈するまで滴定し、又は電位差計を用いて滴定する。

$$0.1\text{mol/L 水酸化カリウム溶液の消費量 (mL)} \times 5.611$$

酸価 =  $\frac{\text{消費量 (mL)} \times 5.611}{\text{試料の採取量 (g)}}$

試料の採取量 (g)

## 8. ~~フェノール類~~類含量

~~フェノール類含量は、試料中に含まれる水酸化アルカリ可溶物の含量である。~~

### ~~操作法~~

~~別に規定するもののほか、次の方法による。~~

~~試料 10ml を正確に量り、150ml のカシアフラスコに入れ、よく振り混ぜながら 1mol/L 水酸化カリウム溶液 75ml を 3 回に分けて加え、更に 5 分間よく振り混ぜる。30 分間放置した後、1mol/L 水酸化カリウム溶液を徐々に加え、不溶性の油分をカシアフラスコの日盛部に上昇させ、1 時間放置した後、その油量 (ml) を測定し、次式により含量を求める。~~

$$\text{フェノール類含量 (vol\%)} = 10 \times [10 - \text{不溶性の油量 (ml)}] \text{ (vol\%)} \text{ ~~を~~$$

## 97. 香料のガスクロマトグラフィー

### 装置

一般試験法の項 78. ガスクロマトグラフィーに準拠する。

### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。なお、試料が固体の場合、別に規定する溶媒に溶解した後、同様に操作する。

### 面積百分率法

この方法は、保存により不揮発成分等を生成せず、すべての成分が溶出し、かつ被検成分と不純物がクロマトグラム上で分離することが明らかな試料に用いる。検液注入後、~~0~40 分の間測定時間内~~に現れるすべての成分のピーク面積の総和を 100 とし、それに対する被検成分のピーク面積百分率を求め、含量とする。ただし、試料が固体で溶媒に溶解する場合は、別に、溶媒によりで同様に試験を行い、溶媒由来のピークを確認後、溶媒由来のピークを除いたピーク面積の総和を 100 とする。

### 操作条件 (1)

沸点が 150°C 以上 200°C 未満 の試料に適用する。

検出器 水素炎イオン化検出器又は熱伝導度検出器

カラム 内径 0.25~0.53mm、長さ 30~60m の ~~ケイ酸ガラス製の細管~~フューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサン又はガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコールを 0.25~1 μm の厚さで被覆したもの。

カラム温度 50°C ~~から~~で注入し、毎分 5°C で 230°C まで 昇温し、230°C ~~に到達後~~を 4 分間保持する。

注入口温度 225~275°C

検出器温度 250~300°C

~~注入方式 スプリット (30:1~250:1)。ただし、いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。~~

キャリアーガス ヘリウム又は窒素

流量 被検成分のピークが5~20分の間に見えるように調整する。

注入方式 スプリット

スプリット比 1:30~1:250 (いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。)

測定時間 40分

操作条件 (2)

沸点が150℃未満の試料に適用する。

~~検出器、~~水素炎イオン化検出器又は熱伝導度検出器カラム ~~内径0.25~0.53mm、長さ30~60mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィ用ジメチルポリシロキサン又はポリエチレングリコールを0.25~1µmの厚さで被覆したもの。~~、 注入口温度、検出器温度、キャリアーガス、流量、注入方式、スプリット比及び測定時間は操作条件 (1) を準用する。

カラム温度 50℃で注入し、5分間保持した~~、その後、~~ 毎分5℃で、230℃まで昇温する。

~~注入口温度 125~175℃~~

~~検出器温度 250~300℃~~

~~注入方式 スプリット (30:1~250:1)。ただし、いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。~~

~~キャリアーガス~~ヘリウム又は窒素

~~流量 被検成分のピークが5~20分の間に見えるように調整する。~~

操作条件 (3)

沸点が150℃未満で被検成分に比べ、想定される不純物の沸点が高い試料に適用する。

検出器、カラム、注入口温度、検出器温度、キャリアーガス、注入方式及びスプリット比は操作条件 (1) を準用する。

カラム温度 50℃で注入し、5分間保持した後、毎分5℃で230℃まで昇温し、230℃を19分間保持する。

流量 被検成分のピークが5~10分の間に見えるように調整する。

測定時間 60分

操作条件 (4)

沸点が200℃以上の試料に適用する。

検出器、カラム、注入口温度、検出器温度、キャリアーガス、注入方式及びスプリット比は操作条件 (1) を準用する。

カラム温度 100℃以上で注入し、毎分5℃で230℃まで昇温し、230℃を分析時間終了まで保持する。なお、被検成分が5~20分の間に見えるように初期温度と流量を設定する。

測定時間 60分

## 17. 紫外可視吸光度測定法

紫外可視吸光度測定法は、通例、波長200nmから800nmまでの範囲の光が、物質により吸収される

度合いを測定し、物質の確認、純度の試験及び定量などを行う方法である。ただし、原子吸光光度計を用いる方法は、別に規定する方法による。~~試料が一定の狭い波長範囲の光を吸収する度合いを測定する方法である。~~物質の溶液の紫外・可視及び紫外吸収スペクトルは、その物質の化学構造によって定まる。したがって種々の波長における吸収を測定して物質を確認することができる。通例、吸収の極大波長（ $\lambda_{\max}$ ）又は極小波長（ $\lambda_{\min}$ ）における一定濃度の溶液の吸光度を測定して、確認試験、純度試験及び定量法に用いる。

単色光が、ある物質の溶液を通過するとき、透過光の強さ（ $I$ ）のと入射光の強さ（ $I_0$ ）に対するとの比率を透過度（ $T$ ）といい、これを百分率で表したものを透過率 $T$ という。また、透過度の逆数の常用対数を吸光度（ $A$ ）という。

$$t = \frac{I}{I_0} \quad T = \frac{I}{I_0} \times 100 = 100t \quad A = \log(I_0/I)$$

吸光度（ $A$ ）は、液の濃度（ $c$ ）及び層長液層の長さ（ $l$ ）に比例する。なお、層長（測定した溶液層の長さ）は、光路長あるいはセル長という場合もある。

$$A = kcl \quad (k \text{ は定数})$$

$l$  を 1 cm,  $c$  を 吸光物質の濃度  $1 \text{ w/v} \%$  溶液に換算したときの吸光度を比吸光度（ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ）,  $l$  を 1 cm,  $c$  を 吸光物質の濃度  $1 \text{ mol/L}$  溶液に換算したときの吸光度をモル分子吸光係数（ $\epsilon$ ）という。吸収極大波長における分子吸光係数は、 $\epsilon_{\max}$  で表す。

~~紫外可視吸光度測定は、規定の溶媒を用いた液について行う。~~

~~液の濃度は、測定で得た吸光度が 0.2～0.7 の範囲となるものが適当で、液の吸光度がこれより高い値を示す場合は、適当な濃度まで溶媒で薄めた後、測定する。~~

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$  又は  $\epsilon$  を求める場合は、次式による。

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{a}{c(\%) \times l} \quad \epsilon = \frac{a}{c(\text{モル}) \times l}$$

ただし、

$l$  : 液層の長さ層長 (cm)

$a$  : 測定で得た吸光度

$c(\%)$  : 溶液の濃度 ( $\text{w/v} \%$ )

$c(\text{モル})$  : 溶液の濃度 ( $\text{mol/L}$ )

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}(265\text{nm}) = 445 \sim 485$  と規定する場合は、波長 265nm において別に規定する方法により、吸光度を測定するとき、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  が 445～485 であることを示す。

### 装置及び調整操作法

測定装置として光電分光光度計又は光電光度計を用いる。~~光電分光光度計は、モノクロメーターと光電光度計を備えたもので、光源としては、可視吸収測定にはタンダステンランプ、紫外吸収測定には重水素放電管を用いる。セルは、可視吸収測定にはガラス製又は石英製、紫外吸収測定には石英製を用い、別に規定するもののほか、層長は、1cmのものを用いる。~~測光方式には単光束（シングルビーム）と複光束（ダブルビーム）がある。単光束型の装置の場合、対照、試料の順に測定を行う。複光束型の装置では通例、対照、試料を各々の光路に置き、同時に測定する。

~~通例、まず波長目盛りを別に規定する測定波長に合わせ、対照液を光路に入れ、調整して吸光度 0 を示すようにする。対照液には、別に規定するもののほか、測定する液の溶媒を用いる。次に測定する液を光路に入れ換えて、このとき示す吸光度を読み取る。あらかじめ分光光度計又は光電光度計に添付されている操作方法により装置を調整した後、波長及び透過率が以下の試験に適合することを確認する。~~

#### ~~波長及び吸光度目盛りの校正~~

~~波長目盛りは、通例、石英水銀アーク灯若しくはガラス水銀アーク灯の 239.95nm、253.65nm、302.15nm、313.16nm、334.15nm、365.48nm、404.66nm、435.83nm、546.10nm の波長又は重水素放電管の 486.00nm、656.10nm の波長を用いて校正する。~~

~~吸光度目盛りは、重クロム酸カリウム(標準試薬)を粉末とし、100～110℃で3～4時間乾燥した後、その約 0.06g を精密に量り、0.005mol/L 硫酸を加えて溶かし、正確に 1,000ml とした液を用いて校正する。この液の  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  は、波長 235nm(極小)、257nm(極大)、313nm(極小)及び 350nm(極大)において、それぞれ 122.9～126.2(基準値 124.5)、142.4～145.7(基準値 144.0)、47.0～50.3(基準値 48.6)及び 104.9～108.2(基準値 106.6)である。~~

~~波長は、波長校正用光学フィルターを用い、それぞれのフィルターに添付された試験成績書の試験条件で試験成績書に示される基準値の波長付近における透過率を測定し、透過率が極小値を示す波長を読み取る試験を行うとき、その測定波長と基準値の波長のずれは±0.5nm 以内で、測定を3回繰り返して行うとき、測定値はいずれも平均値±0.2nm 以内である。なお、重水素放電管の 486.00nm、656.10nm 又は低圧水銀ランプの 253.65nm、365.02nm、435.84nm、546.07nm の輝線を用いて試験を行うことができる。このときの測定波長と輝線の波長とのずれは±0.3nm 以内で、測定を3回繰り返して行うとき、測定値はいずれも平均値±0.2nm 以内である。~~

~~透過率又は吸光度は、透過率校正用光学フィルターを用い、それぞれのフィルターに添付された試験成績書の試験条件で試験成績書に示される基準値の波長における透過率を読み取る試験を行うとき、その測定透過率と基準透過率のずれは試験成績書に示された相対精度の上限値及び下限値にそれぞれ 1% を加えた値以内で、測定を3回繰り返して行うとき、吸光度の測定値(あるいは透過率の測定値を吸光度に換算した値)は、吸光度が 0.500 以下のとき、いずれも平均値±0.002 以内にあり、吸光度が 0.500 を超えるとき、いずれも平均値±0.004 以内にある。なお、同一波長において透過率の異なる透過率校正用光学フィルターの複数枚を用い、透過率の直線性の確認を行うことが望ましい。~~

#### ~~操作法~~

~~あらかじめ装置及び調整法の項に規定する方法により調整した装置を用い、光源、検出器、装置の測定モード、測定波長又は測定波長範囲、スペクトル幅及び波長走査速度などを選択し、設定する。装置を作動させ一定時間放置し、装置が安定に作動することを確認する。次に、通例、試料光路にシャッターを入れて光を遮り、測定波長又は測定波長範囲での透過率の指示値がゼロ%になるように調整する。更にシャッターを除き、測定波長又は測定波長範囲での透過率の指示値が 100% (又は吸光度がゼロ) になるように調整する。~~

~~通例、試料測定に先だつてブランク(対照液を入れたセル等)を光路に置き、透過率の指示値を 100% (又は吸光度をゼロ) に調整する。対照液には、別に規定するもののほか、試験に用いた溶媒を用いる。~~

~~次に測定しようとする溶液を入れたセルを光路に置き、目的とする測定波長における吸光度又は目~~

的とする測定波長範囲における吸収スペクトルを測定する。

なお、セルは、通例、紫外部の吸収測定には石英製、可視部の吸収測定にはガラス製又は石英製のセルを用い、別に規定するもののほか、層長は、1 cm とする。また紫外部の吸収測定に用いる溶媒の吸収については特に考慮し、測定の妨げにならないものを用いる。

溶液の濃度は、単光束吸光光度法で測定を行う場合は、測定で得た吸光度が0.2～0.7の範囲、複光束吸光光度法で測定を行う場合は、0.4～1.4の範囲となるものが適当で、液の吸光度がこれより高い値を示す場合は、適当な濃度まで溶媒で薄めた後、測定する。

## 18. 色価測定法

色価測定法は、紫外可視吸光度測定法により吸光度を測定しることにより、着色料中の色素濃度（色価）を測定する方法である。通例、色価は、着色料溶液の可視部での極大吸収波長における吸光度を測定し、10w/v %溶液の吸光度に換算した数値（ $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ）で表す。

### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。~~ただし、吸光度の測定には、検液の吸光度が、0.3～0.7の範囲に入るように調整したものをを用いる。~~

~~別に規定するもののほか、~~表示された色価により、表に示される試料の量を精密に量り、メスフラスコに入れ、別に規定する溶媒約10mLを加えて溶かし、更に溶媒を加えて正確に100mLとし、必要があれば遠心分離又はろ過し、試料溶液とする。この試料溶液を吸光度測定用の検液とする。ただし、吸光度の測定には、検液の吸光度が、単光束吸光光度法で測定を行う場合は、0.2～0.7の範囲、複光束吸光光度法で測定を行う場合は、0.4～1.4の範囲に入るように、~~し、~~必要があれば表に示される希釈倍率に従って試料液を正確に希釈し、検液とする。

~~別に規定するもののほか、~~検液を調製した溶媒を対照とし、別に規定する波長で液層の長さ層長1 cmでの吸光度Aを測定し、次式により色価を求める。色価の測定は、調製後の退色による影響を避けるため、検液の調製後、速やかに行うものとする。

$$10 \times A \times F$$

色価 =  $\frac{10 \times A \times F}{\text{試料の採取量 (g)}}$

試料の採取量 (g)

ただし、F：測定吸光度が、適切な0.3～0.7の範囲に入るように調整するための希釈倍率

色価	測定濃度 (%)	吸光度	希釈方法	試料液全量を希釈したときの液量 (mL)	F
20	0.25	0.5	0.25 g → 100mL	100	1
50	0.10	0.5	0.1 g → 100mL	100	1
100	0.05	0.5	0.5 g → 100mL → 10mL → 100mL	1,000	10
200	0.03	0.6	0.6 g → 100mL → 5 mL → 100mL	2,000	20

400	0.015	0.6	0.3 g → 100mL → 5 mL → 100mL	2,000	20
500	0.01	0.5	0.2 g → 100mL → 5 mL → 100mL	2,000	20
700	0.01	0.7	0.2 g → 100mL → 5 mL → 100mL	2,000	20
800	0.00625	0.5	0.25 g → 100mL → 5 mL → 200mL	4,000	40
900	0.005	0.45	0.2 g → 100mL → 5 mL → 200mL	4,000	40
1,000	0.006	0.6	0.3 g → 100mL → 5 mL → 250mL	5,000	50
1,500	0.003	0.6	0.4 g → 100mL → 5 mL → 50mL → 5 mL → 50mL	10,000	100
2,000	0.003	0.6	0.3 g → 100mL → 5 mL → 50mL → 5 mL → 50mL	10,000	100
2,500	0.002	0.5	0.2 g → 100mL → 5 mL → 50mL → 5 mL → 50mL	10,000	100

備考：表の色価を超える場合は、希釈倍率を調整して測定する。

## 19. 重金属試験法

重金属試験法は、試料中に混在する重金属の許容される限量を試験する方法である。この試験における重金属とは、酸性において硫化ナトリウム試液によって呈色する金属性物質をいい、その量は、鉛 (Pb) の量として表す。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Pb として 20 $\mu$ g/g 以下 (1.0 g, 第1法, 比較液鉛標準液 2.0mL)」とあるのは、本品 1.0 g を量り試料とし、比較液には鉛標準液 2.0mL を用い、第1法により操作し、試験を行うとき、重金属が、Pb として 20 $\mu$ g/g 以下であることを示す。

### 操作法

#### (1) 検液及び比較液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

第1法 別に規定する量の試料を量り、ネスラー管に入れ、水約 40mL を加えて溶かし、酢酸 (1 → 20) 2 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。

別のネスラー管に別に規定する量の鉛標準液を量って入れ、酢酸 (1 → 20) 2 mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。

第2法 別に規定する量の試料を量り、石英製又は磁製のるつぼに入れ、緩くふたをし、弱く加熱して炭化する。冷後、硝酸 2 mL 及び硫酸 5 滴を加え、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、450～550℃で灰化するまで強熱する。冷後、塩酸 2 mL を加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物に塩酸 3 滴を加え、熱湯 10 mL を加えて 2 分間加温する。冷後、フェノールフタレイン試液 1 滴を加え、アンモニア試液を、液がわずかに赤くなるまで加えた後、~~水を用いて定量的に~~ネスラー管に移す。るつぼを水で洗い、洗液をネスラー管に加え、更に酢酸 (1 → 20) 2 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別に、試料の場合と同質のるつぼに硝酸 2 mL、硫酸 5 滴及び塩酸 2 mL を入れ、加熱して蒸発乾固し、残留物に塩酸 3 滴を加え、以下検液の調製の場合と同様に操作して定量的に別のネスラー管に移す。るつぼを水で洗い、洗液をネスラー管に加え、更に別に規定する量の鉛標準液、酢酸 (1 → 20) 2 mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。

ただし、試験に供する検液が澄明でない場合は、検液及び比較液を同一の条件でろ過する。

第3法 別に規定する量の試料を量り、石英製又は磁製のろつぼに入れ、初めは注意して弱く加熱して炭化し、次に強熱して灰化する。冷後、王水 1 mL を加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物を塩酸 3 滴で潤し、熱湯 10 mL を加えて 2 分間加温する。次にフェノールフタレイン試液 1 滴を加え、アンモニア試液を液がわずかに赤くなるまで加えた後、酢酸溶液（1→20） 2 mL を加え、必要がある場合はろ過し、水 10 mL で洗い、ろ液及び洗液をネスラー管に入れ、水を加えて 50 mL とし、検液とする。別に、試料の場合と同質のろつぼに王水 1 mL を入れ、水浴上で蒸発乾固し、以下検液の調製の場合と同様に操作し、ろ液及び洗液をネスラー管に入れ、別に規定する量の鉛標準液及び水を加えて 50 mL とし、比較液とする。

第4法 別に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のろつぼに入れ、~~硝酸マグネシウム~~硝酸マグネシウム六水和物・エタノール（95）溶液（1→10） 10 mL を加えて混和し、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱して炭化する。冷後、硫酸 1 mL を加え、注意して加熱した後、500～600℃で強熱して灰化する。この方法で炭化物が残る場合は、少量の硫酸で潤し、再び強熱して灰化する。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加えて溶かし、水浴上で蒸発乾固し、この残留物を塩酸 3 滴で潤し、水 10 mL を加え、加温して溶かす。次にフェノールフタレイン試液 1 滴を加え、アンモニア試液を、液がわずかに赤くなるまで加えた後、水を用いて定量的にネスラー管に移す。ろつぼを水で洗い、洗液をネスラー管に加え、更に、酢酸（1→20） 2 mL 及び水を加えて 50 mL とし、検液とする。別に、試料の場合と同質のろつぼに~~硝酸マグネシウム~~硝酸マグネシウム六水和物・エタノール（95）溶液（1→10） 10 mL をとり、エタノールに点火して燃焼させる。冷後、硫酸 1 mL を加え、以下検液の調製の場合と同様に操作して定量的に別のネスラー管に移す。ろつぼを水で洗い、洗液をネスラー管に加え、更に、別に規定する量の鉛標準液、酢酸（1→20） 2 mL 及び水を加えて 50 mL とし、比較液とする。

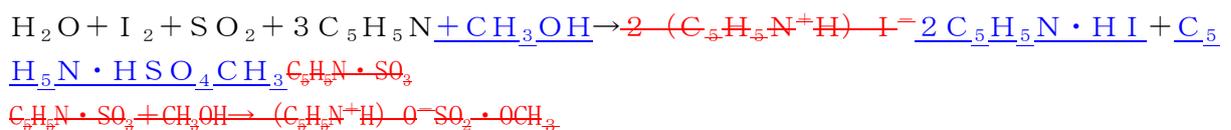
ただし、試験に供する検液が澄明でない場合は、検液及び比較液を同一の条件でろ過する。

## (2) 試験

別に規定するもののほか、検液及び比較液に硫化ナトリウム試液 2 滴ずつを加えて混和し、5 分間放置した後、両ネスラー管を白色の背景を用い、上方側方及び側方上方から観察するとき、検液の呈する色は、比較液の呈する色より濃くない。

## 20. 水分測定法（カールフィッシャー法）

水分測定法は、メタノールなどの低級アルコール及びピリジンなどの有機塩基の存在下で、水がヨウ素及び二酸化硫黄と次の式に示すように定量的に反応することを利用して水分を測定する方法である。



測定法には、容量滴定法と電量滴定法がある。

容量滴定法は、反応に必要なヨウ素を水分測定用試液中に溶解させ、試料中の水と反応して消費されたヨウ素の滴定量より、水分を測定する方法である。

電量滴定法は、ヨウ化物イオンを混合した水分測定用陽極試液を用い、電解によりヨウ素を発生させる。ヨウ素が定量的に水と反応することに基づきから、電解に要した電気量より、に基づき水分を測定する方法である。

以下、本試験を用いる場合において、例えば、「4.0%以下 (0.5 g, 容量滴定法, 逆滴定)」とあるのは、試料約 0.5 g を精密に量り、容量滴定法の逆滴定により試験するとき、その水分が試料の採取量の 4.0% 以下であることを示す。

## 1. 容量滴定法

### 装 置

通例、自動ビュレット、逆滴定フラスコ、かき混ぜ機及び定電圧分極電流滴定装置又は定電流分極電位差滴定装置からなる。

水分測定用試液は、吸湿性が非常に強いので、装置は、外部からの吸湿を防ぐように工夫する。防湿にはシリカゲル又は水分測定用塩化カルシウム等を使用する。

### 操 作 法

水分測定用試液による滴定は、湿気を避けて行い、原則として、これを標定したときの温度と同一の温度で行う。

被滴定液中に一对 2本の白金電極又は双白金電極を浸し、可変抵抗器を適当に調節調整して電極間に微小電圧を加え、水分測定用試液を滴加するとき変化する電流（マイクロアンペア）を測定する（定電圧分極電流滴定法）。滴定の進むにつれて回路中の電流が大きく変化し、数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると、この電流の変化が一定時間（通例、30 秒間又はそれ以上）の間持続する。この状態になったときを滴定の終点とする。

~~また~~又は、電極間に微小電流を流しておき、水分測定用試液を滴加するとき変化する電位差（ミリボルト）を測定する（定電流分極電位差滴定法）。滴定の途中で回路中の電圧計の値が数百ミリボルトの分極状態から急に減少し、消極状態となり、数秒で再び元の状態に戻る。滴定の終点に達すると、消極状態が一定時間持続する（通例、10～30 秒間又はそれ以上）持続する。この状態になったときを滴定の終点とする。

ただし、逆滴定により定電圧分極電流滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に残存する間は、電流計の針が振り切れ、終点に達すると急に元の位置に戻る。定電流分極電位差滴定法を用いる場合は水分測定用試液が過量に存在する間は、電圧計ミリボルトメータの値が元の位置にあり、終点に達すると一定の電圧がかかる。

水分測定用試液による滴定は、別に規定するもののほか、次のいずれの方法によってもよい。終点は、通例、逆滴定を行う場合の方が明瞭に判別できる。

(1) 直接滴定 別に規定するもののほか、次の方法による。

水分測定用メタノール適量 25mlを乾燥滴定フラスコに入れ、水分測定用試液を終点まで加えてフラスコ内を無水の状態にしておく。次に、~~別に規定するもののほか、~~水分 5～30~~10～50~~mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら水分測定用試液で終点まで滴定する。試料が溶剤に溶けないときは手早く粉末とし、水分 5～30mg を含むような量の試料その質量を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、湿気を避けて 5～30 分間かき混ぜた後、激しくかき混ぜながら滴定を行う。

~~なお、~~試料が溶剤に溶けないとき、又は試料がカールフィッシャー反応を妨害するときは、水分気化装置を用いて試料を加熱し、乾燥空気又は窒素をキャリアーとして試料中の水分を滴

定フラスコ中に導入することができる。

なお、滴定は湿度の低い雰囲気下で行う必要があるが、滴定に長時間を要するなど雰囲気中の水分の影響が避けられない場合は、試料を測定したときと同様の操作による空試験を行い、補正する。

$$\text{水分 (H}_2\text{O) (\%)} = \frac{\text{水分測定用試液の滴定量 (mL)} \times f}{\text{試料の採取量 (mg)}} \times 100 - (\%)$$

(2) 逆滴定 別に規定するもののほか、次の方法による。

水分測定用メタノール 適量 20mL を乾燥滴定フラスコに入れ、水分測定用試液を 加える終点まで滴加してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に、水分 10～50 5～30mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、過量の水分測定用試液の一定量を加え、湿気を避けて 30 分間 かき混ぜて 溶かした後、激しくかき混ぜながら水・メタノール標準液で滴定を行う。別に、試料が溶剤に溶けないときは手早く粉末とし、水分 5～30mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、過量の水分測定用試液の一定量を加え、湿気を避けて 5～30 分間 かき混ぜた後、激しくかき混ぜながら滴定する。

$$\text{水分 (H}_2\text{O) (\%)} = \frac{(\text{水分測定用試液の量 (mL)} \times f) - (\text{水・メタノール標準液の滴定量 (mL)} \times f')}{\text{試料の採取量 (mg)}} \times 100 - (\%)$$

ただし、f：水分測定用試液の 1 mL に対応する水 (H<sub>2</sub>O) の mg 数

f'：水・メタノール標準液 1 mL 中の水 (H<sub>2</sub>O) の mg 数

## 2. 電量滴定法

### 装 置

通例、ヨウ素発生用電解槽 を備えた滴定フラスコ、かき混ぜ機、~~滴定フラスコ~~ 及び定電流分極電位差滴定装置からなる。

ヨウ素発生用電解槽は、隔壁で隔てられた陽極及び陰極で構成され、陽極は水分測定用陽極液（発生液）中に、陰極は水分測定用陰極液（対極液）中に浸される。通例、両極とも白金網が用いられる。

水分測定用陽極液及び水分測定用陰極液は吸湿性が非常に強いので、装置は外部からの吸湿を防ぐようにする。防湿には、シリカゲル、水分測定用塩化カルシウム等を用いる。

### 水分測定用陽極液及び水分測定用陰極液の調製法

水分測定用陽極液及び水分測定用陰極液は、一組の試薬として、次のいずれかの方法により調製する。なお、同等以上の精度がある場合には、他の調製方法による水分測定用陽極液及び水分測定用陰極液を使用することができる。

#### (1) 調製法 1

水分測定用陽極液 水分測定用イミダゾール 102 g を水分測定用メタノール 900 mL に溶かし、氷冷し、液温を 30℃以下に保ちながら、乾燥した二酸化硫黄を通じ、その増量が 64 g に達したとき、ヨウ素 12 g を加えて溶かし、かき混ぜながら、液の色が褐色から黄色に変わるまで水を滴加し、水分測定用メタノールを加えて 1000 mL とする。

水分測定用陰極液 ~~塩酸ジエタノールアミン~~ 2, 2'-イミノジエタノール塩酸塩 24 g を水分測定用メタノール 100 ml に溶かす。

## (2) 調製法 2

水分測定用陽極液 1, 3-ジ- (4-ピリジル) プロパン 40 g 及びジエタノールアミン 30 g を水分測定用メタノール約 200 ml に溶かし、乾燥した二酸化硫黄を増量が 25 g になるまで通じる。炭酸プロピレン 50 ml を加え、ヨウ素 6 g を溶かした後、水分測定用メタノールを加えて 500 ml とし、液の色が褐色から黄色に変わるまで水を滴加する。

水分測定用陰極液 水分測定用塩化コリン 30 g を水分測定用メタノールに溶かし 100 ml とする。

## (3) 調製法 3

水分測定用陽極液 ジエタノールアミン 100 g を水分測定用メタノール又は水分測定用メタノール/水分測定用クロロホルム混液 (3 : 1) 900 ml に溶かし、冷却しながら、乾燥した二酸化硫黄を通じ、増量が 64 g に達したとき、ヨウ素 20 g を加えて溶かし、液の色が褐色から黄色に変わるまで水を滴加する。

水分測定用陰極液 塩化リチウム 25 g を水分測定用メタノール/ニトロメタン混液 (4 : 1) 1000 ml に溶かす。

## 操作法

滴定フラスコ中に水分測定用陽極液を入れた後、この液中に定電流分極電位差滴定装置の一对の白金電極又は双白金電極を浸す。別に、水分測定用陰極液を満たしたヨウ素発生装置用電解槽を水分測定用陽極液中に浸す。あらかじめ電解電流を流して、滴定フラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分 0.2~5 ~~1~5~~ mg を含むような量の試料を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら終点まで滴定する。試料が陽極液に溶けないときは、手早く粉末とし、水分 0.2~5mg を含むような量の試料その質量を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、湿気を避けて 5~30 分間かき混ぜた後、激しくかき混ぜながら滴定を行う。別に、試料が溶剤に溶けないとき、又は試料がカールフィッシャー反応を妨害するときは、水分気化装置を用いて試料を加熱し、窒素又は乾燥空気をキャリアーとして試料中の水分を滴定フラスコ中に導入することができる。

滴定開始より終点に至るまでのヨウ素の発生に要した電気量 (C) (電流 (A) × 時間 (秒)) を測定し、次の式により試料中の水分 (%) を求める。

~~なお、試料がカールフィッシャー反応を妨害するときは、水分気化装置を用いて試料を加熱し、窒素をキャリアーとして試料中の水分を滴定フラスコ中に導入することができる。~~なお、滴定は湿度の低い雰囲気下で行う必要があるが、滴定に長時間要するなど雰囲気中の水分の影響が避けられない場合は、試料を測定したときと同様の操作により空試験を行い、補正する。

ヨウ素の発生に要した電気量 (C)

$$\text{水分 (H}_2\text{O) } \underline{(\%)} = \frac{\quad}{10.72 \times \text{試料の採取量 (mg)}} \times 100 \underline{-(\%)}$$

## 21. 赤外吸収スペクトル測定法

赤外吸収スペクトル測定法は~~赤外吸収スペクトルが物質の化学構造によって一定である性質を利用~~

~~し、波数 4,000～600cm<sup>-1</sup>の赤外線をが試料に照射して得られる吸収スペクトルにより物質の確認を行う方法である。~~を通過するとき吸収される量を各波数について測定することにより、~~試料を確認又は定量する方法である。~~赤外吸収スペクトルは通例、横軸に波数 (cm<sup>-1</sup>) を、縦軸に透過率 (%) 又は吸光度をとったグラフで示される。

~~別に規定するもののほか、試料による吸収スペクトルを確認しようとする物質の参照スペクトル又は標準品の吸収スペクトルと比較し、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められるとき、互いの同一性が確認される。ただし、固体状態で測定された試料の吸収スペクトルが、参照スペクトル又は標準品の吸収スペクトルと異なるときは、試料と標準品を成分規格・保存基準各条において規定する同一の条件で処理した後、再測定する。~~

~~二つのスペクトルを比較するとき、通例、試料スペクトルと参照スペクトルが測定される装置は異なったものであり、それらの分解能には差がある。装置の分解能の差に基づく波数の変動は 4,000～2,000cm<sup>-1</sup>の波数領域で最大となる。ただし、フーリエ変換形赤外分光光度計の分解能は波数によらず一定であるため、その波数精度は全波数領域において不変である。~~

なお、成分規格・保存基準各条において赤外吸収スペクトル測定法による確認試験が規定される各品目につき、波数 4,000～600cm<sup>-1</sup>における参照スペクトルが、試薬・試液等の項の 11. 参照赤外吸収スペクトルに掲載されている。ただし、吸収波数による確認法が規定された品目を除く。

#### 装置及び操作調整法

分散形赤外分光光度計又はフーリエ変換形赤外分光光度計を用いる。

あらかじめ分光光度計を調整した後、分解能、透過率の再現性及び波数の再現性が以下の試験に適合することを確認する。厚さ約 0.04mm のポリスチレン膜の吸収スペクトルを測定するとき、得られた吸収スペクトルの 2,870cm<sup>-1</sup>付近の極小と 2,850cm<sup>-1</sup>付近の極大における透過率 (%) の差は 18% 以上である。また、1,589cm<sup>-1</sup>付近の極小と 1,583cm<sup>-1</sup>付近の極大の透過率 (%) の差は 12% 以上である。

波数目盛りは、通例、ポリスチレン膜の下記の特性吸収波数 (cm<sup>-1</sup>) のうち、いくつかを用いて補正する。なお、( ) 内の数値はこれらの値の許容範囲を表す。

3060.0 (±1.5)	2849.5 (±1.5)	1942.9 (±1.5)	1601.2 (±1.0)
1583.0 (±1.0)	1154.5 (±1.0)	1028.3 (±1.0)	

ただし、分散形装置を用いる場合の許容範囲は、1,601.2cm<sup>-1</sup>における吸収波数が 1,601.2±2.0cm<sup>-1</sup>、1,028.3cm<sup>-1</sup>における吸収波数が 1,028.3±2.0cm<sup>-1</sup>の範囲内にあることとする。

透過率及び波数の再現性は、ポリスチレン膜の 3,000～1,000cm<sup>-1</sup>における数点の吸収を 2 回繰り返し測定するとき、透過率の差は 0.5% 以内とし、波数の差は 3,000cm<sup>-1</sup>付近で 5 cm<sup>-1</sup> 以内、1,000cm<sup>-1</sup>付近で 1 cm<sup>-1</sup> 以内とする。

#### 測定用試料の調製及び測定

試料は別に規定するもののほか、成分規格・保存基準各条に「乾燥し」とあるときは、乾燥減量の項の条件で乾燥したものをを用いる。測定用試料は最も強い主な吸収帯 (ペースト法における流動パラフィン由来の吸収帯を除く) の透過率が 5～1080% の範囲になるように、次のいずれかの方法によって調製する。窓板は塩化ナトリウム、臭化カリウム又は塩化ナトリウム等などを使用する。対照は、通例、複光束型の装置では補償光路側に置かれて試料と同時に測定され、単光束型の装置では試料と

同一光路に置かれて別に測定される。対照のとり方は試料調製法により異なり、測定雰囲気バックグラウンド吸収が用いられることもある。

成分規格・保存基準各条で特に規定されるもののほか、通例、試料の吸収スペクトルは波数  $4,000 \sim 600\text{cm}^{-1}$  の範囲で測定する。なお、吸収スペクトルの測定は装置の分解能、波数目盛り及び波数精度の確認を行ったときと同一の操作条件の下で行う。

- (1) **臭化カリウム** 錠剤法 固体試料  $1 \sim 2\text{mg}$  をめのう製乳鉢で粉末とし、これに、別に規定するもののほか、希釈剤として赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム  $0.10 \sim 0.20\text{g}$  を加え、湿気を吸わないように注意し、速やかによくすり混ぜた後、錠剤成形器に入れ、~~て~~加圧製錠する。ただし、必要ならば、 $0.67\text{kPa}$  以下の減圧下に錠剤の単位面積 ( $\text{cm}^2$ ) 当たり  $50 \sim 100\text{kN}$  ( $5,000 \sim 10,000\text{kg}$ ) の圧力を  $5 \sim 8$  分間加えて透明な錠剤を調製する。通例、希釈剤のみを用いて同様に調製した対照臭化カリウム錠剤を対照として測定調整する。
- (2) 溶液法 成分規格・保存基準各条に規定する方法で調製した検液を液体用固定セルに注入し、通例、検液の調製に用いた溶媒を対照として測定する。なお、本法に用いる溶媒としては、試料との相互作用又は化学反応がなく、窓板を侵さないものを用いる。固定セルの厚さは、通例、 $0.1\text{mm}$  又は  $0.5\text{mm}$  とする。
- (3) ペースト法 固体試料  $5 \sim 10\text{mg}$  をめのう製乳鉢で粉末とし、別に規定するもののほか、少量の流動パラフィン、通例、 $1 \sim 2$  滴を加えてよく練り合わせ、試料ペーストを調製する。調製した試料ペーストを1枚の窓板の中心部に薄く広げた後、空気が入らないように注意しながら、別の窓板で挟んでみ、通例、窓板のみを対照として測定する。
- (4) 液膜法 液体試料  $1 \sim 2$  滴を2枚の窓板の間に挟み、窓板の間にできた液層を測定する。液層を厚くする必要がある場合は、アルミニウム箔等などを2枚の窓板の間に挟み、その中に液体試料がたまるようにする。通例、窓板のみを対照として測定する。
- (5) 薄膜法 試料を薄膜のまま、又は成分規格・保存基準各条に規定する方法によって薄膜を調製した後、通例、窓板のみを対照として測定する。
- (6) 気体試料測定法 排気した  $5 \sim 10\text{cm}$  の長さの光路をもつ気体セルに、試料を別に規定する圧で導入し、入れて通例、気体セルを減圧(真空)にしたものを対照として測定する。必要に応じて  $1\text{m}$  以上の光路をもつ長光路セルを用いることもある。

#### 確認方法

試料の吸収スペクトルを確認しようとする物質の参照スペクトル又は標準品の吸収スペクトルと比較し、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められるとき、互いの同一性が確認される。ただし、固体状態で測定された試料の吸収スペクトルが、参照スペクトル又は標準品の吸収スペクトルと異なるときは、試料又は試料及び標準品を成分規格・保存基準各条において規定する同一の条件で処理した後、再測定する。

二つのスペクトルを比較するとき、通例、試料スペクトルと参照スペクトルが測定される装置は異なったものであり、それらの分解能には差がある。装置の分解能の差に基づく波数の変動は  $4000 \sim 2000\text{cm}^{-1}$  の波数領域で最大となる。ただし、フーリエ変換形赤外分光光度計の分解能は波数によらず一定であるため、その波数精度は全波数領域において不変である。

~~22. 濁度試験法~~ 42. 溶状試験法 → 名称変更のため 42. に移動

#### ☆22. 旋光度測定法

旋光度測定法は、試料の旋光度を旋光計によって測定する方法である。

物質又はその溶液には、光の偏光面を右又は左に回転させる性質を持つものがある。この性質を光学活性又は旋光性といい、旋光性の度合いは物質の化学構造に関係がある。

旋光度は、光学的活性物質又はその溶液が偏光面を回転する角度であり、旋光計によって測定する。旋光の性質は、偏光の進行方向に向きあ合って、偏光面を右に回転するものを右旋性、左に回転するものを左旋性とし、偏光面を回転する角度を示す数字の前に、それぞれ記号+又は-を付け、角度を表す数字の右肩に°を付ける。

旋光度 $[\alpha]_x^t$ とは、特定の単色光 x (波長又は名称で記載する。)を用い、温度 t°Cで測定したときの旋光度を意味し、その測定は、通例単に旋光度と記載した場合は、別に規定するもののほか、温度は20°C 又は25°C、層長は100mm、光線はナトリウムスペクトル中のD線で行う測定した旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ を示す。 なお、層長(測定した溶液層の長さ)は、光路長あるいはセル長という場合もある。

比旋光度  $[\alpha]_x^t$  は、次の式で表す。

$$[\alpha]_x^t = \frac{\alpha}{lc} \times 100$$

ただし、

t : 測定時の温度

x : 用いたスペクトルの特定の単色光の波長又は名称 (D線を用いた場合は、Dと記載する。)

$\alpha$  : 偏光面を回転した角度

l : ~~測定した液の層、すなわち、測定に用いた測定管の長さ~~ 層長 (mm)

c : 測定した液 1 mL 中に存在する試料の g 数

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「 $[\alpha]_D^{20} = +20.5 \sim +21.5^\circ$  (1 g, 新たに煮沸し冷却した水, 10mL, 乾燥物換算)」とあるのは、本品約 1 g を精密に量り、新たに煮沸し冷却した水を加えて溶かして正確に 10mL とし、この液について、20°C, 層長 100mm で測定し、乾燥物換算を行うとき、比旋光度が  $+20.5 \sim +21.5^\circ$  であることを示す。

## 23. タール色素試験法

タール色素試験法は、タール色素の純度試験及び定量に用いる。

### 1. 水不溶物

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「0.20%以下 (タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、水不溶物が、0.20%以下であることを示す。

#### 操作法

あらかじめろつば形ガラスろ過器 (1 G 4) を 135°C で 30 分間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。

試料 2.0 g を 正確に 量り、熱湯 200mL を加えてよく振り混ぜた後、放冷し、不溶物を先のガラ

スろ過器でろ過し、洗液が無色となるまで水で洗い、ガラスろ過器とともに 135℃で 3 時間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。

## 2. 塩化物及び硫酸塩

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「総量として 5.0%以下（タール色素試験法）」とあるのは、次の方法によるとき、塩化ナトリウム及び硫酸ナトリウムが、総量として 5.0%以下であることを示す。

### 操作法

別に規定するもののほか、試料約 0.1 g を精密に量り、水に溶かして正確に 100mL とし、この液 10mL を正確に量り、水に溶かして正確に 50mL とし検液とする。別に塩化物イオン標準原液及び硫酸イオンの標準原液それぞれ 0.2mL 0.5mL、1 mL、10mL 5 mL 及び 50mL 10mL を正確に量り、それぞれに水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液、~~及び~~標準液及び標準原液をそれぞれ 20μL 一定量 ずつ量り、次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。まず次にそれぞれの標準液及び標準原液の塩化物イオン及び硫酸イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線を作成する。次に更に検液の塩化物イオン及び硫酸イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線からそれぞれのイオンの量を求め、得られたイオン量に塩化物イオンは 1.65、硫酸イオンは 1.48 を乗じ、検液中の塩化ナトリウム及び硫酸ナトリウムの濃度を求め、試料中の含量を算出する。なお、検液の塩化物イオン及び硫酸イオンのピーク面積又はピーク高さが検量線の範囲を超える場合は、適宜希釈し、換算して試料中の含量を算出する。

### 操作条件

検出器 電気伝導度計

カラム充てん填剤 全多孔性陰イオン交換体

カラム管 内径 4.6~6.0mm, 長さ 5~10cm のステンレス管又はプラスチック管

ガードカラム カラムと同一の内径で同一の充てん填剤を充てん填したもの。

移動相 ~~2.5mmol/L フタル酸と 2.4mmol/L トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを含む水~~  
溶

液フタル酸 0.42 g 及び 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール 0.29 g を  
水 1000mL に溶かす (pH4.0)

カラム温度 40℃

流量 1.5mL/分

## 3. ヨウ化物

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「0.40%以下（タール色素試験法）」とあるのは、次の方法によるとき、ヨウ化ナトリウムが、0.40%以下であることを示す。

### 操作法

試料約 ~~0.03 g~~ 0.1 g を精密に量り、水に溶かして正確に 100mL とし、この液 4 mL を正確に量り、  
水に溶かして正確に 10mL とし、検液とする。別にヨウ化物イオンの標準原液 0.5mL、1 mL、10mL 2 mL 及び 50mL 4 mL を正確に量り、それぞれに水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液、~~及び~~標準液及び標準原液をそれぞれ 100μL 一定量 ずつ量り、塩化物及び硫酸塩の操作法に規定する操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。まず、次に標準液及び標準原液のそれぞれのヨウ化物イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線を作成する。次に更に検液のヨウ化物イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線からイオンの量を求め、

得られたイオン量に 1.18 を乗じ、検液中のヨウ化ナトリウムの濃度を求め、試料中の含量を算出する。ただし、操作は直射日光を避け、検液の調製は遮光した容器を用い、調製後直ちに試験を行う。

#### 4. 臭化物

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「1.0%以下（タール色素試験法）」とあるのは、次の方法によるとき、臭化ナトリウムが、1.0%以下であることを示す。

##### 操作法

試料約 ~~0.05 g~~ 0.1 g を精密に量り、水に溶かして正確に 100mL とし、この液 4 mL を正確に量り、水に溶かして正確に 10mL とし、検液とする。別に臭化物イオンの標準原液 0.5 mL、1 mL、~~10 mL~~ 2 mL 及び ~~50 mL~~ 4 mL を正確に量り、それぞれに水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液、~~及び標準液及び標準原液~~ をそれぞれ 20μL 一定量 ずつ量り、塩化物及び硫酸塩の操作法に規定する操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。次に標準液~~及び標準原液~~の臭化物イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線を作成する。更に検液の臭化物イオンのピーク 高さ面積 又はピーク 面積高さ を測定し、検量線からイオンの量を求め、得られたイオン量に 1.29 を乗じ、検液中の臭化ナトリウムの濃度を求め、試料中の含量を算出する。ただし、操作は直射日光を避け、検液の調製は遮光した容器を用い、調製後直ちに試験を行う。

#### 5. ~~重金属~~

~~以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Pb として 20μg/g 以下（タール色素試験法、重金属(5)）」とあるのは、次の(5)の方法によるとき、重金属が、Pb として 20μg/g 以下であることを~~

~~示す。~~

##### 操作法

~~別に規定するもののほか、試料 2.5 g を量り、白金製、石英製又は磁製のろつぼに入れ、硫酸少量を加えて潤し、徐々に強熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、更に硫酸 1mL を加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど発生しなくなった後、電気炉に入れ、450～550°C で灰化するまで強熱した後、放冷する。これに塩酸 3mL を加えてかき混ぜ、更に水 7mL を加えて振り混ぜ、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過する。ろ紙上の残留物を塩酸(1→4) 5mL 及び水 5mL で洗い、洗液をろ液に合わせてA液とし、これに水を加えて50mLとし、試料液とする。なお、クロム及びマンガン~~の試験を行う場合は、~~以下のとおりとする。~~

~~先のろ紙上の残留物をろ紙とともに105°Cで乾燥後、白金製のろつぼに入れ、約450°Cで加熱灰化する。これに無水炭酸ナトリウム2gを加え、加熱し融解させ、冷後、水10mLを加え、塩酸を滴加して酸性とする。これをビーカーに移し、更なるろつぼを少量の水で洗い、洗液をビーカーに加え、激しくかき混ぜた後、A液に加え、更に水を加えて50mLとし、試料液とする。~~

~~また、空試験液を試料液の場合と同様に操作して調製する。~~

(1) ~~亜鉛 試料液 2.5mL を量り、塩酸(1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別に空試験液 2.5mL を量り、亜鉛標準液 2.5mL、塩酸(1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。~~

##### 操作条件

~~光源ランプ 亜鉛中空陰極ランプ~~

~~分析線波長 213.9nm~~

~~支燃性ガス 空気~~

~~可燃性ガス アセチレン~~

- ~~(2) クロム 別に規定するもののほか、試料液 5.0ml を量り、塩酸(1→4) 5ml 及び水を加えて 25ml とし、検液とする。別に空試験液 10.0ml を量り、クロム標準液 10.0ml、塩酸(1→4) 10ml 及び水を加えて 50ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。~~

~~操作条件~~

~~光源ランプ クロム中空陰極ランプ~~

~~分析線波長 357.9nm~~

~~支燃性ガス 空気~~

~~可燃性ガス アセチレン~~

- ~~(3) 鉄 試料液 2.0ml を量り、塩酸(1→4) 10ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。別に空試験液 2.0ml を量り、鉄標準液 5.0ml、塩酸(1→4) 10ml 及び水を加えて 50ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。~~

~~操作条件~~

~~光源ランプ 鉄中空陰極ランプ~~

~~分析線波長 248.3nm~~

~~支燃性ガス 空気~~

~~可燃性ガス アセチレン~~

- ~~(4) マンガン 別に規定するもののほか、試料液 4.0ml を量り、塩酸(1→4) 10ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。別に空試験液 4.0ml を量り、マンガン標準液 1.0ml、塩酸(1→4) 10ml 及び水を加えて 50ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。~~

~~操作条件~~

~~光源ランプ マンガン中空陰極ランプ~~

~~分析線波長 279.5nm~~

~~支燃性ガス 空気~~

~~可燃性ガス アセチレン~~

- ~~(5) その他の重金属 試料液 20ml を量り、ネスラー管に入れ、フェノールフタレイン試液 1 滴を加え、液が紅色を呈するまでアンモニア試液を滴加し、更に酢酸(1→4) 2ml を加え、必要があればろ過し、ろ紙を水で洗い、水を加えて 50ml とし、検液とする。別に空試験液 20ml を量り、ネスラー管に入れ、鉛標準液 2.0ml 及びフェノールフタレイン試液 1 滴を加え、検液の場合と同様に操作して、比較液とする。次に、両液に硫化ナトリウム試液を 2 滴ずつ加えて振り混ぜ、5 分間放置するとき、検液の呈する色は、比較液の呈する色より濃くない。~~

## 5. 鉛

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Pb として 2 $\mu$ g/g 以下(タール色素試験法、第 1 法)」とあるのは、第 1 法により操作し、試験を行うとき、Pb として 2 $\mu$ g/g 以下であることを示す。

### 操作法

## (1) 検液、比較液及び空試験液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

第1法 試料 1.0 gを量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、100℃から500℃の範囲で徐々に温度を上げ、内容物を、必要があればガラス棒で碎きながら、ほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、るつぼを電気炉に入れ、徐々に加熱して500～600℃で強熱して灰化する。炭化物が残るときは、硫酸で潤し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱した後、再び電気炉で強熱して灰化する。なお、500～550℃で灰化操作を行う場合は耐熱ガラス製のビーカーが使用できる。冷後、残留物に塩酸(1→4) 10mLを加え、必要があればふたをし、加熱して溶かし、蒸発乾固した後、硝酸(1→100)を加えて溶かし、10mLとし、必要があればろ過し、検液とする。別に、鉛標準液2mL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。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。

第2法 試料 1.0 gを量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→10) 10mLを加えて混和し、エタノールに点火して燃焼させる。燃焼終了近くになると内容物が飛び散ることがあるため、必要があればふたを用いる。冷後、硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、第1法と同様に操作する。炭化物が残るときは、硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→10) 5mLを加えて混和し、同様の操作を繰り返す。なお、500～550℃で灰化操作を行う場合は耐熱ガラス製のビーカーが使用できる。残留物に塩酸(1→4) 30mLを加え、溶けるまで加熱し、冷後、試料液とする。試料液に、クエン酸水素二アンモニウム溶液(1→2) 10mLを加える。指示薬としてチモールブルー試液1mLを加え、アンモニア水を液の色が黄色から淡黄緑色に変わるまで加える。この液を分液漏斗又は遠心管に移し、灰化容器を少量の水で洗い、洗液を合わせ、さらに水を加え約100mLとする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液(3→100) 5mLを加えて5分間放置し、酢酸ブチル10mLを正確に加えて5分間振とうした後、放置又は遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、これを検液とする。別に、鉛標準液2mLを正確に量り、試料液と同様に操作し、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。

## (2) 試験

検液、比較液及び空試験液につき、原子吸光光度法(フレイム方式)により次の操作条件で吸光度を測定するとき、検液と空試験液の吸光度の差は比較液の吸光度以下である。

操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3 nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

## 6. 亜鉛及び鉄

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Znとして200µg/g以下(タール色素試験法、亜鉛及び鉄(1))」とあるのは、次の(1)の方法によるとき、亜鉛が、Znとして200µg/g以下であることを示す。

操作法

試料 1.0 gを量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は耐熱ガラス製のビーカーに入れ、

硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、100℃から500℃の範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、内容物がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、るつぼを電気炉に入れ、徐々に加熱して450～550℃で強熱して灰化する。なお、炭化物が残るときは、硫酸で潤し、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸3 mLを加えてかき混ぜ、更に水7 mLを加えて振り混ぜ、定量分析用ろ紙（5種C）を用いてろ過する。ろ紙上の残留物を塩酸（1→4）5 mL及び水で洗い、洗液をろ液に合わせ、これに水を加えて50 mLとし、試料液とする。

(1) 亜鉛 試料液2.5 mLを量り、塩酸（1→4）4 mL及び水を加えて20 mLとし、検液とする。別に、亜鉛標準液1.0 mL、塩酸（1→4）4 mL及び水を加えて20 mLとし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光光度法（フレイム方式）により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ 亜鉛中空陰極ランプ

分析線波長 213.9 nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(2) 鉄 試料液5 mLを量り、塩酸（1→4）10 mL及び水を加えて50 mLとし、検液とする。別に、鉄標準液5.0 mL、塩酸（1→4）10 mL及び水を加えて50 mLとし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光光度法（フレイム方式）により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ 鉄中空陰極ランプ

分析線波長 248.3 nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

## 7. マンガン及びクロム

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Mnとして50 µg/g以下(タール色素試験法、マンガン及び(1))」とあるのは、次の(1)の方法によるとき、マンガンが、Mnとして50 µg/g以下であることを示す。

### 操作法

試料1.0 gを量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は耐熱ガラス製のビーカーに入れ、硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、100℃から500℃の範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、内容物がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して450～550℃で強熱して灰化する。炭化物が残るときは、硫酸で潤し、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸3 mLを加えてかき混ぜ、更に水7 mLを加えて振り混ぜ、定量分析用ろ紙（5種C）を用いてろ過する。ろ紙上の残留物を塩酸（1→4）5 mL及び水5 mLで洗い、洗液をろ液に合わせA液とする。先のろ紙上の残留物をろ紙とともに白金製のるつぼに入れ、105℃で乾燥後、150℃から500℃まで徐々に温度を上げ、試料がほとんど炭化

するまで加熱した後、電気炉に入れ、450～550℃で強熱して灰化する。これに炭酸ナトリウム 0.8 g を加え、800℃以上で強熱し融解させ、冷後、水 10mL を加え、塩酸を滴加して酸性とする。これをビーカーに移し、更なるつぼを少量の水で洗い、洗液をビーカーに加え、激しくかき混ぜた後、A液に加え、更に水を加えて 50mL とし、試料液とする。

(1) マンガン 試料液 10mL を量り、塩酸 (1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別に、マンガン標準液 1.0mL、塩酸 (1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光光度法 (フレイム方式) により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ マンガン中空陰極ランプ

分析線波長 279.5nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(2) クロム 別に規定するもののほか、試料液 10mL を量り、塩酸 (1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別に、クロム標準液 4.0mL、塩酸 (1→4) 10mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光光度法 (フレイム方式) により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ クロム中空陰極ランプ

分析線波長 クロム 357.9nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

## 8. ヒ素

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「 $As_2O_3As$  として  $4.0 \pm 3 \mu g/g$  以下 (タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、ヒ素が、 $As_2O_3As$  として  $4.0 \pm 3 \mu g/g$  以下であることを示す。

### 操作法

試料 0.50 g を正確に量り、石英製又は磁製のるつぼ又は耐熱性ガラスビーカーに入れ、これに硝酸マグネシウムの硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→50) 20mL を加え、エタノールに点火して燃焼させ、燃焼終了近くになると内容物が飛び散ることがあるため、必要があればふたを用いる。その後、150℃から 500℃の範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、ほとんど炭化するまで加熱する。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して 450～550℃で強熱して灰化する。なお炭化物が残るときは、少量の硝酸で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、再び電気炉に入れ 450～550℃で灰化する。冷後、残留物に塩酸 6mL を加え、必要があれば水約 10mL を加え、ふたをし、水浴上で加温加熱して溶かし、冷後、水を加えて正確に 25mL とし、検液とする。別に、ヒ素標準液 2.0mL、塩酸 6mL 及び水を加えて 25mL とし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、及び比較液及び空試験液につき、それぞれの液 4mL に塩酸 3mL 及びヨウ化カリウム溶

液（1→10）1 mL を加え、室温で 30 分間放置した後、L（+）-アスコルビン酸溶液（1→10）2 mL 及び水を加えて 20 mL とし、ヒ素試験法の装置 C を用いて、試験を行うとき、検液から得られた液と空試験液から得られた液の吸光度の差は、比較液から得られた液の吸光度以下である。

装置により検液、空試験液及び比較液に加える塩酸、ヨウ化カリウム溶液及び L（+）-アスコルビン酸溶液の量や濃度は異なり、装置に導入する検液、比較液、塩酸、ヨウ化カリウム溶液及びテトラヒドロホウ酸ナトリウム試液の流量や濃度が異なる場合もある。

## 7. ~~他の色素~~

~~以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「(タール色素試験法、他の色素(1))」とあるのは、次の(1)の方法によることを示す。~~

### ~~操作法~~

~~(1) 試料 0.10 g を正確に量り、水に溶かして 100 mL とし、検液とする。検液 2  $\mu$ L を量り、対照液を用いず、1-ブタノール/1%アンモニア溶液/無水エタノール混液（6：3：2）を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行うとき、一つのスポット以外にスポットを認めない。ただし、ろ紙は、クロマトグラフィー用 2 号を用い、展開溶媒が約 15 cm 上昇したとき展開をやめ、風乾した後、白色板上に載せ、自然光下で上方から観察する。~~

~~(2) 25%エタノール/5%アンモニア溶液混液（1：1）を展開溶媒として(1)と同様に行う。~~

~~(3) 試料 0.30 g を量り、水に溶かして 100 mL とし、この液 10 mL を量り、水を加えて 100 mL とし、検液とし、アセトン/酢酸イソアミル/イソアミルアルコール/水/プロピオン酸混液（20：13：5：5：2）を展開溶媒として(1)と同様に行う。ただし、展開溶媒が約 30 cm 上昇したとき展開をやめる。~~

~~(4) 試料 0.10 g を量り、水に溶かして 200 mL とし、検液とし、(1)と同様に行う。~~

## 8.9. ~~副成色素~~

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「(タール色素試験法、副成色素(1))」とあるのは、次の(1)の方法によることを示す。

(1) 別に規定する量の試料約 0.1 g を精密に量り、別に規定する溶液に溶かして酢酸アンモニウム試液 (0.02 mol/L) を加え、必要があれば超音波処理で溶かし、酢酸アンモニウム試液 (0.02 mol/L) で正確に 100 mL とし、検液とする。別に規定された副成色素を減圧デシケーター中で 24 時間乾燥し、それぞれ 0.0100 g 約 10 mg を精密に量り、別に規定した溶液酢酸アンモニウム試液 (0.02 mol/L) にそれぞれ溶かして正確に 100 mL とし、標準原液とする。これらの標準原液 0.5 mL、1 mL、2 mL、及び 5 mL 及び 10 mL を正確に量り、標準原液の調製に用いた溶液酢酸アンモニウム試液 (0.02 mol/L) を加えてそれぞれ正確に 100 mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20  $\mu$ L 一定量ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。次に標準液のそれぞれの色素のピーク面積を測定し、検量線を作成する。検液の副成色素のピーク面積を測定し、検量線からそれぞれの色素量を求め、その合計値を求める。

### 操作条件

検出器 可視吸光度計 又はフォトダイオードアレイ検出器（測定波長 成分規格・保存基準各条に規定）

カラム充填剤 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm, 長さ 25 cm のステンレス管

カラム温度 30°C 40°C 付近の一定温度

流量 1 mL/分

移動相A 酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L)

移動相B アセトニトリル/水混液 (7:3)

濃度勾配 成分規格・保存基準各条に規定

(2) 別に規定するもののほか、試料 0.1g を量り、酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) を加え、必要があれば超音波処理で溶かし、酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) で正確に 100mL とする。この液 2mL を正確に量り、酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) で正確に 20mL とし、検液とする。検液の一定量を量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液中の主色素ピーク面積の 1000 分の 1 を A とする。検液中の、別に規定する面積測定範囲内に現れる A より大きいピーク面積の総和を  $A_T$  とし、主色素ピーク以外のピークを副成色素としてそのピーク面積の和を  $A_S$  とし、次式により副成色素の量を求める。

$$\text{副成色素の量 (\%)} = \frac{A_S}{A_T} \times \text{含量 (\%)}$$

操作条件

検出器 可視吸光度計又はフォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 成分規格・保存基準各条に規定)

カラム充填剤 5 $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 40°C 付近の一定温度

流量 1 mL/分

移動相A 酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L)

移動相B アセトニトリル/水混液 (7:3)

濃度勾配 成分規格・保存基準各条に規定

面積測定範囲 成分規格・保存基準各条に規定

#### 9.10. 未反応原料及び反応中間体

別に規定する量の試料約 0.1g を精密に量り、別に規定する溶液に溶かして正確に 100mL とし、検液とする。別に規定された未反応原料及び反応中間体を減圧デシケーター中で 24 時間乾燥し、それぞれ 0.0100g 約 10mg を精密に量り、別に規定した溶液に溶かしてするもののほか、酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) を加え、必要があれば超音波処理で溶かし、それぞれ酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) で正確に 100mL とし、標準原液とする。これらの標準原液 0.5mL, 1mL, 2mL, 及び 5mL 及び 10mL を正確に量り、標準原液の調製に用いた溶液酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) を加えてそれぞれ正確に 100mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 $\mu$ L 一定量ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。次にそれぞれの標準液のピーク面積を測定し、検量線を作成する。検液の未反応原料及び反応中間体のピーク面積を測定し、検量線からその量を求める。

ただし、検量線の直線性が得られるように注入量を調節する。最低濃度の標準液で得られたピーク面積を A とし、検液中の A より大きい未反応原料及び反応中間体のピーク面積を測定し、検量線からその量を求める。

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 又はフォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 成分規格・保存基準各条に規定)

カラム充 ~~てん~~ 填剤 5 µm の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 30°C ~~40°C~~ 付近の一定温度

流量 1 mL/分

移動相 A 酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L),

移動相 B アセトニトリル/水混液 (7 : 3)

濃度勾配 成分規格・保存基準各条に規定

#### 1011. 非スルホン化芳香族第一級アミン

(1) 本試験法を用いる場合において、例えば、「アニリンとして 0.01%以下 (タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、非スルホン化芳香族第一級アミンが、アニリンとして 0.01%以下であることを示す。

##### 操作法

試料 2.0 g を量り、水 100 ~~mL~~ mL の入った分液漏斗に入れ、更に水 50 ~~mL~~ mL を加えて溶かし、水酸化ナトリウム溶液 ~~(4→100)~~ (1→25) 5 ~~mL~~ mL 及び酢酸エチル 50 ~~mL~~ mL を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル層を分取し、水層に酢酸エチル 50 ~~mL~~ mL を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル抽出液を合わせ、水酸化ナトリウム溶液 ~~(4→1,000)~~ (1→250) で、色が無くなるまで水洗する。この酢酸エチル抽出液を、塩酸 (3→10) 10 ~~mL~~ mL で 3 回抽出し、塩酸抽出液を合わせ、水を加えて正確に 100 ~~mL~~ mL とし、試料液とする。試料液 10 ~~mL~~ mL を正確に試験管にとり、10 分間氷中で冷やし、臭化カリウム溶液 (1→2) 1 ~~mL~~ mL 及び亜硝酸ナトリウム溶液 (1→30) ~~0.05mL~~ 50µL を加えて混和し、10 分間氷中で放置する。この混和液を、あらかじめ ~~0.05mol/L~~ 3-ヒドロキシ-2,7-ナフタレンジスルホン酸二ナトリウム溶液試液 (0.05mol/L) 1 ~~mL~~ mL 及び ~~無水~~炭酸ナトリウム溶液 (1→10) 10 ~~mL~~ mL を入れた ~~メスフラスコ~~ ネスラー管 に、水で洗い移して正確に 25 ~~mL~~ mL とし、15 分間暗所で放置し、検液とする。別に、アニリン ~~0.010g~~ 0.10g を量り、塩酸 (3→10) 30 ~~mL~~ mL に溶かし、更に水を加えて正確に 100 ~~mL~~ mL とする。この溶液 2 ~~mL~~ mL を正確に量り、塩酸 (3→10) 30 ~~mL~~ mL を加えて、更に水を加えて正確に 100 ~~mL~~ mL とし、~~する~~ する。更にこの溶液 10 ~~mL~~ mL を正確に量り、塩酸 (3→10) 30 ~~mL~~ mL を加えて、更に水を加えて正確に 100 ~~mL~~ mL とする。この液を試料液と同様に操作して比較液とする。検液測定の場合は、試料液 10 ~~mL~~ mL を ~~メスフラスコ~~ ネスラー管 に正確にとり、~~0.05mol/L~~ 3-ヒドロキシ-2,7-ナフタレンジスルホン酸二ナトリウム溶液試液 (0.05mol/L) 1 ~~mL~~ mL 及び ~~無水~~炭酸ナトリウム溶液 (1→10) 10 ~~mL~~ mL を入れ、水を加えて正確に 25 ~~mL~~ mL とし、対照液とする。比較液測定の場合は、塩酸 (3→10) 3 ~~mL~~ mL に、~~0.05mol/L~~ 3-ヒドロキシ-2,7-ナフタレンジスルホン酸二ナトリウム溶液試液 (0.05mol/L) 1 ~~mL~~ mL 及び ~~無水~~炭酸ナトリウム溶液 (1→10) 10 ~~mL~~ mL を入れ、水を加えて正確に 25 ~~mL~~ mL とし、対照液とする。それぞれの液につき、510nm で吸光度を測定するとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。

(2) 本試験法を用いる場合において、例えば、「~~α=1-~~ 1-ナフチルアミンとして 1.0µg/g 以下 (タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、~~α=1-~~ 1-ナフチルアミンが 1.0µg/g 以下であることを示す。

## 操作法

~~試料約 1 g を精密に量り、水 50ml の入った分液漏斗に入れ、更に水 50ml を加えて溶かし、水酸化ナトリウム溶液 (4→100) 5 ml 及び酢酸エチル 50ml を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル層を分取し、水層に酢酸エチル 50ml を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル層を合わせ、水酸化ナトリウム溶液 (4→1,000) で、色が無くなるまで水洗する。この酢酸エチル抽出液に希硫酸 (0.15→1,000) 0.5ml を加え、45℃で減圧乾固し、直ちにリン酸二水素ナトリウム溶液 (0.3→100) とメタノールの等量混合液 1.0ml を加え、検液とする。別に  $\alpha$ -ナフチルアミン 0.010 g を量り、塩酸 (3→10) 3ml に溶かし、更に水を加えて正確に 10ml とし、標準原液とする。この標準原液 1 ml を正確に量り、酢酸アンモニウム溶液 (1.54→1,000) を加え、正確に 100ml とする。この溶液 1 ml、2 ml、5 ml 及び 10ml を正確に量り、これに操作条件に示す移動相を加えてそれぞれ正確に 100ml とし、標準液とする。~~  
試料約 2.5 g を精密に量り、ビーカーに入れ、水 25ml を加えて溶かし、あらかじめ水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 5 滴及びメタノール 1 ml を入れた 50ml のメスフラスコに移す。ビーカーを水 10ml ずつで 2 回洗い、洗液をメスフラスコに合わせ、水で 50ml とし、試料液とする。20ml のクロマトグラフィー用ケイソウ土を充填した吸着管に、試料液 20ml を正確に量って注ぎ、流出させる。1 時間放置後、この吸着管にヘキサン 100ml を注ぎ、流出液を 200ml のナス型フラスコに採取する。流出液に硫酸 (3→20000) 0.5ml を加え、約 1 ml となるまで約 40℃の水浴中で減圧下に濃縮後、フラスコに残留するヘキサンを留去させる。残留物に酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2) を加えて溶かし、正確に 2 ml とし、検液とする。別に、1-ナフチルアミン約 10mg を精密に量り、メタノールに溶かし、正確に 100ml とし、標準原液とする。標準原液 5 ml を正確に量り、酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2) を加え、正確に 50ml とする。この液を酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2) で正確に希釈して 1 ml 中に 1-ナフチルアミン 0.05~1  $\mu$ g を含むように調製して、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 100 $\mu$ l 一定量ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。次に標準液の  ~~$\alpha$ -1-ナフチルアミン~~ のピーク面積を測定し、検量線を作成する。検液の  ~~$\alpha$ -1-ナフチルアミン~~ のピークの保持時間に現れるピーク面積を測定し、検量線からその量を  ~~$\alpha$ -1-ナフチルアミン~~ として求める。

## 操作条件

検出器 紫外吸光光度計 又はフォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 304nm)

カラム充てん ~~てん~~ 充填剤 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 15~25cm のステンレス管

カラム温度 40℃ 付近の一定温度

移動相 ~~メタノール 500ml を量り、これに酢酸アンモニウム溶液 (1.54→1,000) を加え、1,000ml としたもの。~~ 酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量 1 ml / 分

- (3) 本試験法を用いる場合において、例えば、「 ~~$\beta$ -クレシジン~~ 2-メトキシ-5-メチルアニリンとして 10 $\mu$ g/g 以下 (タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、 ~~$\beta$ -クレシジン~~ 2-メトキシ-5-メチルアニリンが 10 $\mu$ g/g 以下であることを示す。

## 操作法

~~試料約 1 g を精密に量り、水 50ml の入った分液漏斗に入れ、更に水 50ml を加えて溶かし、水~~

~~酸化ナトリウム溶液 (4→100) 5ml 及び酢酸エチル 50ml を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル層を分取し、水層に酢酸エチル 50ml を加えて振り混ぜ、抽出する。酢酸エチル層を合わせ、水酸化ナトリウム溶液 (4→1,000) で、色が無くなるまで水洗する。この酢酸エチル抽出液に希硫酸 (0.15→1,000) 0.5ml を加え、45℃で減圧乾固し、直ちにリン酸二水素ナトリウム (0.3→100) とメタノールの等量混合液 1.0ml を加え、検液とする。別に  $p$ -クレシジン 0.100 g を量り、塩酸 (3→10) 30ml に溶かし、更に水を加えて正確に 100ml とし、標準原液とする。この標準原液 10ml を正確に量り、酢酸アンモニウム溶液 (1.54→1,000) を加え、正確に 100ml とする。この溶液 1 ml, 2 ml, 5 ml 及び 10ml を正確に量り、これに操作条件に示す移動相を加えてそれぞれ正確に 100ml とし、標準液とする。試料約 2.5 g を精密に量り、ビーカーに入れ、水 25ml を加えて溶かし、あらかじめ水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 5 滴及びメタノール 1 ml を入れた 50 ml のメスフラスコに移す。ビーカーを水 10ml ずつで 2 回洗い、洗液をメスフラスコに合わせ、水で 50ml とし、試料液とする。20ml のクロマトグラフィー用ケイソウ土を充填した吸着管に、試料液 20ml を正確に量って注ぎ、流出させる。1 時間放置後、この吸着管にヘキサン 100ml を注ぎ、流出液を 200ml のナス型フラスコに採取する。流出液に硫酸 (3→20000) 0.5ml を加え、約 1 ml となるまで約 40℃の水浴中で減圧下に濃縮後、フラスコに残留するヘキサンを留去させる。残留物に酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2) を加えて溶かして正確に 2 ml とし、検液とする。別に、2-メトキシ-5-メチルアニリン約 10mg を精密に量り、メタノールに溶かし、正確に 100ml とし、標準原液とする。標準原液を酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2) で正確に希釈して 1 ml 中に 2-メトキシ-5-メチルアニリン 0.5~10 $\mu$ g を含むように調製して、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 100 $\mu$ l 一定量ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。次に標準液の  $p$ -クレシジン 2-メトキシ-5-メチルアニリンのピーク面積を測定し、検量線を作成する。検液の  $p$ -クレシジン 2-メトキシ-5-メチルアニリンのピークの保持時間に現れるピーク面積を測定し、検量線からその量を  $p$ -クレシジン 2-メトキシ-5-メチルアニリンとして求める。~~

操作条件

検出器 紫外吸光光度計又はフォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 290nm)

カラム充填剤 5 $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm, 長さ 15~25cm のステンレス管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 ~~メタノール 400ml を量り、これに酢酸アンモニウム溶液 (1.54→1,000) を加え、1,000ml としたもの。~~酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) / アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量 1 ml/分

## 12. 色素前駆体 (ロイコ体)

10. 未反応原料及び反応中間体の検液を用いて、試験を行う。別に規定する色素前駆体標準原液を酢酸アンモニウム試液 (0.02mol/L) で正確に希釈して 1 ml 中に色素前駆体 50 $\mu$ g を含むように調製して比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ一定量ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の色素前駆体のピーク面積は比較液の色素前駆体面積以下である。ただし、色素前駆体ピークが複数の場合はその合計面積を用いる。

操作条件

検出器 紫外吸光光度計又はフォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 254nm)

カラム充填剤 5 $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径4.6mm,長さ25cmのステンレス管

カラム温度 40℃付近の一定温度

流量 1mL/分

移動相A 酢酸アンモニウム試液(0.02mol/L)

移動相B アセトニトリル/水混液(7:3)

濃度勾配 成分規格・保存基準各条に規定

#### 115. 定量法

##### (1) 三塩化チタン塩化チタン(III)法

(i) 別に規定する量の検液を正確に量り、500mLの広口三角フラスコに入れ、クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物15g及び水を加え、必要があれば超音波処理で溶かし、水で約200mLとし、この液中に二酸化炭素又は窒素を通じながら、かつ同時に激しく煮沸しながら沸騰させながら0.1mol/L 三塩化チタン塩化チタン(III)溶液で滴定する。終点は、試料の固有の色が消えたときとする。

(ii) クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物の代わりに酒石酸水素ナトリウム(+)-酒石酸水素ナトリウム一水和物15gを用いて(i)と同様に行う。

(iii) クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物の代わりに酒石酸水素ナトリウム(+)-酒石酸水素ナトリウム一水和物15gを用いて(i)と同様に行う。ただし、指示薬としてライトグリーン~~SP~~黄ロライトグリーンSFイエロー(1 $\rightarrow$ 1,000)10mLを用い、別に空試験を行い補正する。

(iv) クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物の代わりに酒石酸ナトリウム(+)-酒石酸ナトリウム二水和物20gを用いて(i)と同様に行う。終点は、試料の固有の色が消え、だいたい色を呈したときとする。

(2) 質量法 あらかじめるつぼ形ガラスろ過器(4G4)を135℃で30分間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。別に規定する量の検液を正確に量り、500mLのビーカーに入れ、煮沸した沸騰させた後、塩酸(1 $\rightarrow$ 50)25mLを加え、再び煮沸する。次にビーカーの内壁を水約5mLで洗い、時計皿で覆い、水浴中で約5時間加熱した後、放冷する。沈殿は先のガラスろ過器でろ過し、容器及び沈殿を塩酸(1 $\rightarrow$ 200)10mLずつで3回洗い、更に水約10mLずつで2回洗う。この沈殿をガラスろ過器とともに135℃で3時間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。

## 24. タール色素製剤試験法

タール色素製剤試験法は、タール色素の製剤の確認試験及び純度試験に用いる。

### 1. 他の色素

検液2 $\mu$ Lにつき、1-ブタノール/アンモニア水(1 $\rightarrow$ 25)/エタノール(99.5)混液(6:3:2)を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行い、展開溶媒が約15cm上昇したとき展開をやめ、風乾した後、白色板上に載せ、自然光下で上方から観察する。ただし、ろ紙は、クロマトグラフィー用2号を用いる。また、タール色素の分離が十分でない場合は、エタノール(99.5)(1 $\rightarrow$ 4)/アンモニア水(1 $\rightarrow$ 5)混液(1:1)を展開溶媒とする。

## 2. 他の色素レーキ

- (1) 別に規定する量の試料を量り、酢酸(1→3)60mLを加え、沸騰するまで加熱した後、放冷する。次にアセトンを加えて100mLとし、よく混和し、上澄液を検液とする。検液2μLにつき、1-ブタノール/アンモニア水(1→25)/エタノール(99.5)混液(6:3:2)を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行い、展開溶媒が約15cm上昇したとき展開をやめ、風乾した後、白色板上に載せ、自然光下で上方から観察する。ただし、ろ紙は、クロマトグラフィー用2号を用いる。また、タール色素の分離が十分でない場合は、エタノール(99.5)(1→4)/アンモニア水(1→5)混液(1:1)を展開溶媒とする。
- (2) 酢酸(1→3)の代わりにアンモニア水(1→25)を用い、エタノール(99.5)(1→4)/アンモニア水(1→5)混液(1:1)を展開溶媒として(1)と同様に行う。
- (3) 酢酸(1→3)の代わりに酢酸(1→20)を用い、(1)と同様に行う。

## 3. 重金属

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Pbとして20μg/g以下(タール色素製剤試験法、重金属)」とあるのは、次の方法によるとき、重金属が、Pbとして20μg/g以下であることを示す。

### 操作法

#### (1) 検液及び比較液の調製

##### (i) アルミニウムレーキを含まないタール色素の製剤の場合

試料2.5gを量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は耐熱ガラス製のビーカーに入れ、硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、100°Cから500°Cの範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を碎きながら、内容物がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して450~550°Cで強熱して灰化する。炭化物が残るときは、硫酸で潤し、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸3mLを加えてかき混ぜ、更に水7mLを加えて振り混ぜ、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過する。ろ紙上の残留物を塩酸(1→4)5mL及び水で洗い、洗液をろ液に合わせ、これに水を加えて50mLとし、試料液とする。試料液20mLを量り、ネスラー管に入れ、フェノールフタレイン試液1滴を加え、液が紅色を呈するまでアンモニア試液を滴加し、更に酢酸(1→4)2mLを加え、必要があればろ過し、ろ紙を水で洗い、水を加えて50mLとし、検液とする。別に、試料を用いずに試料液の調製と同様に操作し、これをA液とする。A液20mLを量り、ネスラー管に入れる。鉛標準液(重金属試験用)2.0mLを正確に量り、先のネスラー管に入れ、フェノールフタレイン試液1滴を加え、検液の調製と同様に操作して、比較液とする。

##### (ii) タール色素アルミニウムレーキを含むタール色素の製剤の場合

試料2.5gを量り、(i)と同様に灰化する。冷後、残留物に塩酸5mL及び硝酸1mLを加えて塊を十分に碎き、加熱して蒸発乾固し、必要があれば、電気炉に入れ、450~550°Cで1時間強熱する。更に、塩酸5mLを加えて塊を十分に碎き、再度加熱して蒸発乾固する。残留物に塩酸(1→4)10mLを加え、加熱して溶かし、冷後、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過し、ろ紙上の残留物を塩酸(1→4)約30mLで洗い、洗液をろ液に合わせ、加熱して蒸発乾固する。次にこの残留物に塩酸(1→4)10mLを加え、加熱して溶かし、冷後、ろ過する。更に容器及びろ紙上の残留物を塩酸(1→4)5mL及び水で洗い、洗液をろ液に合わせ、水を加えて50mLとし、試料液とする。試料液20mLを量り、ネスラー管に入れ、酢酸アンモニウム溶液(2→15)を加えてpHを

約4とした後、水を加えて50mLとし、検液とする。別に、試料を用いずに試料液の場合と同様に操作し、これをA液とする。A液20mLを量り、ネスラー管に入れる。鉛標準液（重金属試験用）2.0mLを量り、A液を入れたネスラー管に入れ、検液の調製と同様に操作して、比較液とする。

#### (2) 試験

検液及び比較液に硫化ナトリウム試液を2滴ずつ加えて振り混ぜ、5分間放置するとき、検液の呈する色は、比較液の呈する色より濃くない。

### 4. マンガン及びクロム

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Mnとして50 $\mu$ g/g以下（タール色素製剤試験法、マンガン及びクロム(1)）」とあるのは、次の方法(1)によるとき、Mnとして50 $\mu$ g/g以下であることを示す。

#### (1) マンガン

試料2.5gを量り、白金製、石英製若しくは磁製のろつぼ又は耐熱ガラス製のビーカーに入れ、硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し、100 $^{\circ}$ Cから500 $^{\circ}$ Cの範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、内容物がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して450～550 $^{\circ}$ Cで強熱して灰化する。なお、灰化後、炭化物が残るときは、硫酸で潤し、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸3mLを加えてかき混ぜ、更に水7mLを加えて振り混ぜ、定量分析用ろ紙（5種C）を用いてろ過する。ろ紙上の残留物を塩酸（1→4）5mL及び水5mLで洗い、洗液をろ液に合わせA液とする。先のろ紙上の残留物をろ紙とともに白金製のろつぼに入れ、105 $^{\circ}$ Cで乾燥後、約450 $^{\circ}$ Cで加熱灰化する。これに炭酸ナトリウム2gを加え、800 $^{\circ}$ C以上で強熱し融解させ、冷後、水10mLを加え、塩酸を滴加して酸性とする。これをビーカーに移し、更なるろつぼを少量の水で洗い、洗液をビーカーに加え、激しくかき混ぜた後、A液に加え、更に水を加えて50mLとし、試料液とする。また、試料を用いずに試料液の調製と同様に操作し、B液とする。色素の含有量が50%を超える場合は、試料液4.0mLを量り、塩酸（1→4）10mL及び水を加えて50mLとし、検液とする。別に、B液4.0mL、マンガン標準液1.0mL、塩酸（1→4）10mL及び水を加えて50mLとし、比較液とする。色素の含有量が50%以下の場合は、試料液及びB液をそれぞれ8.0mLずつ量り、検液及び比較液を調製する。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ マンガン中空陰極ランプ

分析線波長 279.5nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

#### (2) クロム

色素の含有量が50%を超える場合は、(1)の試料液10mLを量り、塩酸（1→4）10mL及び水を加えて50mLとし、検液とする。別に、(1)のB液10mL、クロム標準液10mL、塩酸（1→4）10mL及び水を加えて50mLとし、比較液とする。色素の含有量が50%以下の場合は、(1)の試料液及び(1)のB液をそれぞれ20mLずつ量り、検液及び比較液を調製する。検液、比較液につき、次の操作条件で原子吸光光度法により試験を行うとき、検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ クロム中空陰極ランプ

分析線波長 クロム 357.9nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

## 2425. タール色素レーキ試験法

タール色素レーキ試験法は、タール色素レーキの純度試験及び定量に用いる。

### 1. 塩酸及びアンモニア不溶物

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「0.5%以下(タール色素レーキ試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、塩酸及びアンモニア不溶物が、0.5%以下であることを示す。

#### 操作法

あらかじめろつば形ガラスろ過器(164G 4)を135℃で30分間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。

試料約2gを精密に量り、水20mLを加えて混和した後、塩酸20mLを加えてよくかき混ぜ、更に熱湯300mLを加えてよく振り混ぜる。次に容器を時計皿で覆い、水浴上で30分間加熱した後、放冷し、遠心分離し、上澄液を先のろつば形ガラスろ過器でろ過する。必要があれば、数回に分けて遠心分離し、順次上澄液をろ過してもよい。容器内の不溶物は少量の水で遠心管に移し、更に水を加えて約50mLとし、遠心分離し、上澄液をろ過器でろ過した後、容器内の不溶物を少量の水を用いてろ過器に移す。更に容器・ガラスろ過器上の不溶物を水5mLずつで2回洗い、その後ガラスろ過器上の不溶物を1%アンモニア水(1→25)溶液で洗液がほとんど無色となるまで洗った後、塩酸(1→35)10mLで洗う。ただし、残渣が多く、水で洗う時にろ過に時間を要する場合は、アンモニア水(1→25)でガラスろ過器の内容物を溶解させながら、ろ過しても良い。次に洗液が硝酸銀溶液(1→50)で変化しなくなるまで水で洗い、ガラスろ過器とともに135℃で3時間乾燥し、デシケーター中に放冷した後、質量を精密に量る。

### 2. ヨウ化物

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「0.20%以下(タール色素レーキ試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、ヨウ化ナトリウムが、0.20%以下であることを示す。

#### 操作法

試料約~~0.06~~0.1gを精密に量り、水~~10~~25mLを正確に量って加え、約30分間時々振り混ぜた後、乾燥ろ紙でろ過し、このろ液5mLを正確に量り、水に溶かして正確に50mLとし、検液とする。別にヨウ化物イオン標準原液0.5mL、1mL、10mL及び50mL、0.5mL、1mL、2mL及び4mLを正確に量り、それぞれ水を加えて正確に100mLとし、標準液とする。検液及び標準液及び標準原液をそれぞれ100μL一定量ずつ量り、次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。まずそれぞれの次に標準液及び標準原液のヨウ化物イオンのピーク高さ面積又はピーク面積高さ~~高さ~~を測定し、検量線を作成する。次に更に検液のヨウ化物イオンのピーク高さ面積~~高さ~~又はピーク面積高さ~~高さ~~を測定し、検量線からイオンの量を求め、得られたイオン量に1.18を乗じ、検液中のヨウ化ナトリウムの濃度を求め、試料中の含量を算出する。ただし、操作は直射日光を避け、検液の調製は遮光した容器を用い、調製後直ちに試験を行う。

## 操作条件

検出器 電気伝導度計

カラム充てん填剤 全多孔性陰イオン交換体

カラム管 内径 4.6~6.0mm, 長さ 5~10cm のステンレス管又はプラスチック管

ガードカラム カラムと同一の内径で同一の充てん填剤を充てん填したもの。

移動相 ~~2.5mmol/L フタル酸と2.4mmol/L トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを含む水溶液~~  
フタル酸 0.42 g 及び 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール 0.29 g を水  
1000mL に溶かす (pH4.0)。

カラム温度 40℃

流量 1.5mL/分

## ~~3. 重金属~~

### 3. 鉛

以下, 本試験法を用いる場合において, 例えば, 「Pb として 5 µg/g 以下 (タール色素レーキ試験法, 鉛)」とあるのは, 次の方法によるとき, 鉛が, Pb として 5 µg/g 以下であることを示す。

#### 操作法

##### (1) 検液, 比較液及び空試験液の調製

試料 1.0 g を量り, 白金製, 石英製又は磁製のるつぼに入れ, 硫酸を少しずつ加えて試料全体を潤し, 100℃から 500℃の範囲で徐々に温度を上げ, 内容物を, 必要があればガラス棒で碎きながら, ほとんど炭化し, 硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後, 灰化容器を電気炉に入れ, 徐々に加熱して 500~600℃で強熱して灰化する。炭化物が残るときは, 硫酸で潤し, 硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱した後, 再び電気炉で強熱して灰化する。なお, 500~550℃で灰化操作を行う場合は耐熱ガラス製のビーカーが使用できる。冷後, 残留物に塩酸 (1→4) 30mL を加え, 必要があればふたをし, 加熱して溶かし, 冷後, 試料液とする。試料液に, クエン酸水素二アンモニウム溶液 (1→2) 10mL を加える。指示薬としてチモールブルー試液 1mL を加え, アンモニア水を液の色が黄色から淡黄緑色に変わるまで加える。この液を分液漏斗又は遠心管に移し, 灰化容器を少量の水で洗い, 洗液を合わせ, さらに水を加え約 100mL とする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液 (3→100) 5mL を加えて 5 分間放置し, 酢酸ブチル 10mL を正確に加えて 5 分間振とうした後, 放置又は遠心分離する。酢酸ブチル層をとり, これを検液とする。別に, 鉛標準液 5mL を正確に量り, 検液の調製と同様に操作し, 比較液とする。また, 試料を用いずに検液の調製と同様に操作した液を空試験液とする。

##### (2) 試験

検液, 比較液及び空試験液につき, 原子吸光光度法 (フレイム方式) により次の操作条件で吸光度を測定するとき, 検液と空試験液の吸光度の差は比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3 nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

## 4. 亜鉛及び鉄

以下, 本試験法を用いる場合において, 例えば, 「Zn として 50µg/g 以下 (タール色素レーキ試験

法、重金属亜鉛及び鉄(1)」とあるのは、次の(1)の方法によるとき、Znとして50 $\mu$ g/g以下であることを示す。

#### 操作法

試料 ~~2.5g~~ 1.0g を量り、白金製、石英製又は若しくは磁製のるつぼ又は耐熱ガラス製のビーカー に入れ、硫酸少量を少しずつ加えて試料全体を潤し、徐々に強熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、放冷し、更に硫酸1mlを加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど発生しなくなった後、100℃から500℃の範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、内容物がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。その後、灰化容器を電気炉に入れ、徐々に加熱して450～550℃で灰化するまで強熱し、放冷する。これ強熱して灰化する。炭化物が残るときは、硫酸で潤し、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸5 ml 及び硝酸1 ml を加えて塊を十分に砕き、水浴上で加熱して蒸発乾固する。更に、塩酸5 ml を加えて塊を十分に砕き、再度水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に塩酸(1→4)10 ml を加え、加熱して溶かし、冷後、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過し、ろ紙上の残留物を塩酸(1→4)約30 ml で洗い、洗液をろ液に合わせ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。次にこの残留物に塩酸(1→4)10 ml を加え、加熱して溶かし、冷後、ろ過する。更に容器及びろ紙上の残留物を塩酸(1→4)5 ml 及び水5 ml で洗い、洗液をろ液に合わせ、水を加えて50 ml とし、試料液とする。

~~また、空試験液を試料液の場合と同様に操作して調製する。~~

(1) 亜鉛 試料液10.0 ml を量り、塩酸(1→4) 40ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。別に空試験液10.0ml を量り、亜鉛標準液2.5ml、塩酸(1→4)40ml 及び水を加えて 50ml とし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して調製した液を空試験液とする。 検液、及び比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光度法(フレイム方式)により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ 亜鉛中空陰極ランプ  
分析線波長 213.9nm  
支燃性ガス 空気  
可燃性ガス アセチレン

(2) 鉄 試料液 4.0ml を量り、塩酸(1→4)10 ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。別に空試験液4.0ml を量り、鉄標準液5.0ml、塩酸(1→4)10ml 及び水を加えて 50ml とし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して調製した液を空試験液とする。 検液及び比較液及び空試験液につき、次の操作条件で原子吸光度法(フレイム方式)により試験を行うとき、検液と空試験液の吸光度の差は、比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ 鉄中空陰極ランプ  
分析線波長 248.3nm  
支燃性ガス 空気  
可燃性ガス アセチレン

## 5. バリウム

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Baとして500 $\mu$ g/g以下(タール色素レーキ試

驗法)」とあるのは、次の方法によるとき、バリウムが、Baとして500 $\mu$ g/g以下であることを示す。

#### 操 作 法

試料約4.10 gを精密に量り、~~白金製のるつぼに入れ、硫酸少量を加えて潤し、徐々に加熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、放冷し、更に硫酸1mLを加え、徐々に加熱して硫酸の蒸気がほとんど発生しなくなった後、電気炉に入れ、450～550℃で3時間強熱する。冷後、無水炭酸ナトリウム5gを加えてよく混和した後、ふたをして加熱し、融解する。更に10分間加熱を続け、冷後、水20mLを加え、水浴上で加熱し、融解物を溶かす。冷後、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過し、ろ紙上の残留物を洗液が硫酸塩の反応を呈さなくなるまで水で洗う。次にろ紙上の残留物をろ紙とともにビーカーに移し、塩酸(1→4)30mLを加え、よく振り混ぜた後、煮沸する。冷後、ろ過し、ろ紙上の残留物を水10mLで洗い、洗液をろ液に合わせ、水浴上で蒸発乾固する。残留物に水5mLを加えて溶かし、必要があればろ過し、塩酸(1→4)0.25mLを加え、よく混和した後、水を加えて25mLとし、検液とする。硝酸5mLを加え、100℃で5時間加熱する。冷後、水で正確に100mLとし、検液とする。別に、バリウム標準液0.5mL、~~塩酸(1→20)0.25mL及び水を加えて25mL~~1mLを正確に量り、水で正確に100mLとする。この液5mLを正確に量り、水約50mLを加え、更に硝酸5mLを加え、冷後、水を加えて正確に100mLとし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作した液を空試験液とする。検液及び、比較液及び空試験液につき、誘導結合プラズマ発光強度測定法発光分光分析法により試験を行うとき、検液と空試験液の発光強度の差は、比較液の発光強度以下である。~~

#### 6. ヒ 素

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.03 $\mu$ g/g以下(タール色素レーキ試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、ヒ素が、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.03 $\mu$ g/g以下であることを示す。

#### 操 作 法

試料0.50gを量り、~~石英性又は磁製のるつぼ~~又は耐熱性ガラスビーカーに入れ、これに硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→10)20mLを加え、エタノールに点火して燃焼させた後、~~る。~~燃焼終了近くになると内容物が飛び散ることがあるため、必要があればふたを用いる。その後、150℃から500℃の範囲で徐々に温度を上げ、必要があればガラス棒で内容物を砕きながら、ほとんど炭化するまで加熱する。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して450～550℃で強熱して灰化する。~~なお炭化物が残るとき場合は、~~少量の硝酸で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、再び強熱して電気炉に入れ450～550℃で強熱して灰化する。冷後、残留物に塩酸6mLを加え、必要があれば水約10mLを加え、ふたをし、水浴上で加熱して溶かし、冷後、水を加えて25mLとし、検液とする。別に、ヒ素標準液2.0+3.0mL、塩酸6mL及び水を加えて25mLとし、比較液とする。また、試料を用いずに検液の調製と同様に操作して得られた液を空試験液とする。検液、及び比較液及び空試験液につき、それぞれの液4mLに塩酸3mL及びヨウ化カリウム溶液(1→10)1mLを加え、室温で30分間放置した後、L(+)-アスコルビン酸溶液(1→10)2mL及び水を加えて20mLとし、ヒ素試験法の装置Cを用いる方法により、試験を行うとき、検液から得られた液と空試験液から得られた液の吸光度の差は、比較液から得られた液の吸光度以下である。

装置により検液及び比較液に加える塩酸、ヨウ化カリウム溶液及びL(+)-アスコルビン酸溶液の量や濃度は異なり、装置に導入する検液、比較液、塩酸、ヨウ化カリウム溶液及びテトラヒドロホウ酸ナトリウム試液の流量や濃度が異なる場合もある。

## 6. ~~他の色素レーキ~~

~~以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「(タール色素レーキ試験法、他の色素レーキ(1))」  
とあるのは、次の(1)の方法によることを示す。~~

### ~~操作法~~

- ~~(1) 試料のタール色素として0.10gを含む量を量り、酢酸(1→3) 60mLを加え、沸騰するまで加熱した  
後、放冷する。次にアセトンを加えて100mLとし、よく混和し、上澄液を検液とする。検液2 $\mu$ l  
を量り、対照液を用いず、1-ブタノール/1%アンモニア溶液/無水エタノール混液(6:3:2)を展  
開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行うとき、一つのスポット以外にスポットを認めない。た  
だし、ろ紙は、クロマトグラフィー用2号を用い、展開溶媒が約15cm上昇したとき展開をやめ、  
風乾した後、白色板上に載せ、自然光下で上方から観察する。~~
- ~~(2) 酢酸(1→3)の代わりに1%アンモニア溶液を用い、25%エタノール/5%アンモニア溶液混液  
(1:1)を展開溶媒として(1)と同様に行う。~~
- ~~(3) 試料の色素酸としての0.050gを含む量を量り、(1)と同様に行う。~~
- ~~(4) 酢酸(1→3)の代わりに酢酸(1→20)を用い、(1)と同様に行う。~~

## 7. 定量法

- (1) 別に規定する量の試料を精密に量り、500-mLの広口三角フラスコに入れ、硫酸(1→20) 20  
mLを加え、よく振り混ぜた後、熱湯50-mLを加え、加熱して溶かす。更に熱湯150-mLを加  
えた後、クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物 15gを加えて、必要があれば超音波  
処理で溶かし、この液中に二酸化炭素又は窒素を通じながら、かつ同時に激しく煮沸しながら沸騰  
させながら0.1mol/L 三塩化チタン塩化チタン (III) 溶液で滴定する。終点は、試料の固有の色  
が消えたときとする。
- (2) クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物の代わりに酒石酸水素ナトリウム (+) -  
酒石酸水素ナトリウム一水和物 15gを用いて(1)と同様に行う。
- (3) クエン酸ナトリウムクエン酸三ナトリウム二水和物の代わりに酒石酸水素ナトリウム (+) -  
酒石酸水素ナトリウム一水和物 15gを用いて(1)と同様に行う。ただし、指示薬としてライトグリー  
ン-SF黄口溶液ライトグリーンSFイエロー (1→1,000) 10-mLを用い、別に空試験を行い  
補正する。

### 2526. 窒素定量法

窒素定量法は、窒素を含む有機化合物を硫酸で加熱分解し、窒素をアンモニア性窒素とした後、ア  
ルカリにより遊離させ、水蒸気蒸留法により捕集した硫酸アンモニウムとし、そのアンモニアを滴定  
法により定量する方法である。

- (1) ケルダール法

#### 装置

概略は、次の図による。ただし、接続部は、すり合わせにしてもよい。

- A: 分解フラスコ (硬質ガラス製 容量約300mL)
- B: ガラス管
- C: アルカリ溶液注入用漏斗
- D: ゴム管 (BとCを連結する。途中にピンチコックが付けてある。)

E : しぶき止め

F : 蒸留管

G : 冷却器

H : 吸収用フラスコ (容量約 300mL)

### 操作法

別に規定するもののほか、窒素約 ~~0.02~~20 ~ ~~0.03~~30mg に対応する量の試料を精密に量り、分解フラスコAに入れ、硫酸カリウムの粉末 5 g、硫酸銅 (II) 五水和物 0.5 g 及び硫酸 20mL を加える。次にAを約 45° に傾け、泡立ちがほとんどやむまで穏やかに加熱し、更に温度を上げて沸騰させ、内容物が青色の透明な液となった後、更に 1~2 時間加熱する。冷後、水 150mL を徐々に加え、冷却する。冷後、沸騰石又は粒状の亜鉛 2~3 粒を加え、装置を組み立てる。

吸収用フラスコHに 0.05mol/L 硫酸 25mL を正確に量って入れ、更に水約 50mL を加え、冷却器Gの下端をこの液中に浸す。次に、漏斗Cから水酸化ナトリウム溶液 (2→5) 85mL を徐々に加え、更に少量の水で洗い込み、ゴム管Dの部分のピンチコックを閉じ、Aを軽く揺り動かして内容物を混和した後、穏やかに加熱し、沸騰し始めたならば加熱を強めて、内容物の約 2/3 容量が溜出するまで蒸留する。次にGの下端をHの液面から離し、更にしばらく蒸留を続けた後、Gの下端を少量の水で洗い込み、Hの液中の過量の酸過量の硫酸を 0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液で滴定する。終点の判定は、通例、電位差計を用いる。指示薬 (ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合試液 3 滴) を用いる場合の終点は、液の赤紫色が微灰黄色を経て微灰緑色に変わるときとする。別に空試験を行い補正する。

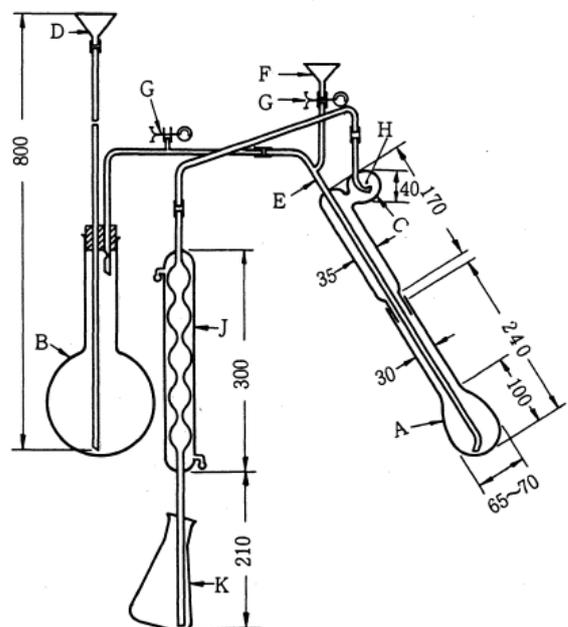
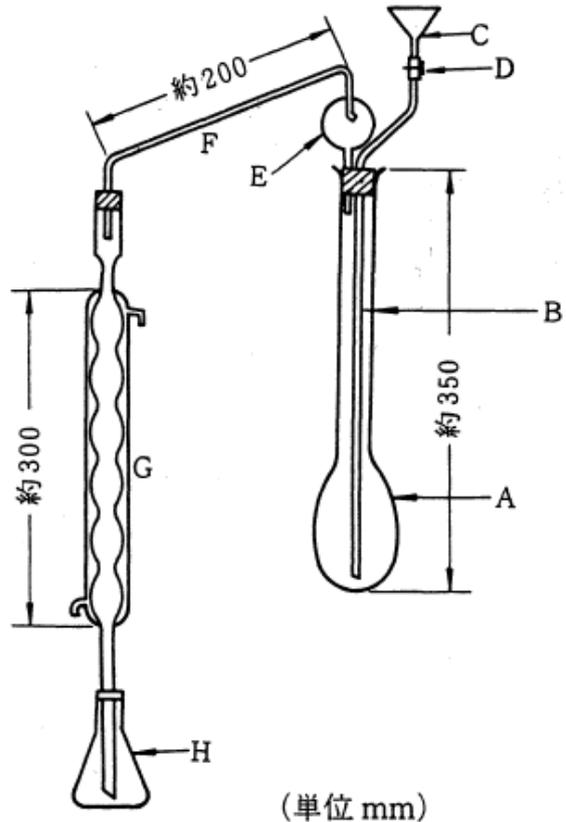
0.05mol/L 硫酸 1 mL = 1.401mg N

### (2) セミマイクロケルダール法

#### 装置

総硬質ガラス製で、その概略は、次の図による。ただし、総硬質ガラス製で、接続部は、すり合わせにしてもよい。装置に用いるゴムは、すべて水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 中で 10~30 分間煮沸し、次に水中で 30~60 分間煮沸し、最後に水でよく洗ってから用いる。

ただし、有機物の分解、生成したアンモニアの蒸留及びその定量における滴定終点検出法等に自動化された装置を用いることもできる。



- A : ケルダールフラスコ  
 B : 水蒸気発生器 (硫酸 2～3 滴を加えた水を入れ、突沸を避けるために沸騰石を入れる。)  
 C : しぶき止め  
 D : 給水用漏斗  
 E : 蒸気管  
 F : アルカリ溶液注入用漏斗  
 G : ピンチコック付きゴム管  
 H : 小孔 (径は、管の内径にほぼ等しい。)  
 J : 冷却器 (下端は、斜めに切つてある。)  
 K : 受器吸収用フラスコ

#### 操作法

別に規定するもののほか、窒素 2～3 mg に対応する量の試料を精密に量るかり、又はピペットで正確に量り、ケルダールフラスコ A に入れ、これに硫酸カリウム 10 g と硫酸銅 (II) 五水和物 1 g の混合物の粉末 1 g を加え、A の首に付着した試料を少量の水で洗い込み、更に A の内壁に沿って硫酸 7 ml を加える。

次に A を振り動かしながら、過酸化水素 1 ml を少量ずつ内壁に沿って注意して加える。A を セラミツク金網又はセラミツク板上で徐々に加熱し、更に A の首で硫酸が液化する程度に加熱する。液が青色澄明を経てあざやかな緑色透明となり、A の内壁に炭化物を認めなくなったとき、加熱をやめる後、更に 1～2 時間加熱を続ける。必要ならばがあれば冷却した後、過酸化水素少量を追加し、再び加熱する。冷後、水 20 ml を注意しながら加えて冷却する。

次に、A を、あらかじめ水蒸気を通じて洗った蒸留装置に連結する。受器吸収用フラスコ K にはホウ酸溶液 (1→25) 15 ml を入れ、適量の水を加え、冷却器 J の下端をこの液に浸す。漏斗 F から水酸化ナトリウム溶液 (2→5) 30 ml を加え、注意して水 10 ml で洗い込み、直ちにピンチコック付きゴム管 G のピンチコックを閉じ、水蒸気を通じて留液 80～100 ml を得るまで蒸留する。J の下端を液面から離し、更にしばらく蒸留を続けた後、少量の水で J の下端を洗い込み、0.005 mol/L 硫酸で滴定する。終点の判定は、通例、電位差計を用いる。指示薬 (プロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合試液 3 滴) を用いる場合の終点は、液の緑色が微灰青色を経て微灰赤紫色に変わるときとする。別に空試験を行い補正する。

0.005 mol/L 硫酸 1 ml = 0.1401 mg N

ただし、自動化された装置を用いる場合、その操作法はそれぞれの装置の指示に従う。

### 2627. 定性反応試験法

定性反応試験法は、確認試験などにおいて用いる試験法である。別に規定するもののほか、試料の液の濃度は、約 1 % として行う。 通例、規定された液 2～5 mL をとり、内径 8.0～18 mm の試験管内で試験を行う。液性調整には、反応の妨げとならない酸性又はアルカリ性の溶液を用いる。

#### 亜鉛塩

- (1) 亜鉛塩の中性～アルカリ性の溶液に硫化アンモニウム試液又は硫化ナトリウム試液を加えると、帯白色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、これに酢酸（1→20）を加えるとき溶けないが、更に塩酸（1→4）を加えるとき溶ける。
- (2) 亜鉛塩の溶液に新たに調製した~~ヨウ化カリウム~~ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム三水和物溶液（1→10）を加えるとき、白色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、この一部に塩酸（1→4）を加えるとき溶けないが、他の一部に水酸化ナトリウム溶液（1→25）を加えるとき溶ける。

#### 亜塩素酸塩

- (1) 亜塩素酸塩の溶液（1→20）5 mLに塩酸（1→4）5 mLを加えるとき、黄色のガスを発生し、液は黄褐色を呈する。
- (2) 亜塩素酸塩の溶液（1→20）5 mLに過マンガン酸カリウム溶液（1→300）0.1 mLを加え、これに硫酸（1→20）1 mLを加えるとき、液の赤紫色は消える。

#### 亜硝酸塩

- (1) 亜硝酸塩の溶液（1→20）に硫酸（1→20）を加えて酸性とすると、特異なおいのある黄褐色のガスを発生し、硫酸第一鉄硫酸鉄(II)七水和物の結晶少量を追加するとき、液は暗褐色を呈する。
- (2) 亜硝酸塩の溶液にヨウ化カリウム試液2～3滴を加え、塩酸（1→4）を滴加するとき、液は黄褐色となり、次に黒紫色の沈殿を生じ、デンプン試液を追加する加えるとき、液は濃青色を呈する。

#### 亜硫酸塩及び亜硫酸水素塩

- (1) 亜硫酸塩又は亜硫酸水素塩の酢酸酸性溶液にヨウ素・ヨウ化カリウム試液を滴加するとき、試液の色は消える。
- (2) 亜硫酸塩又は亜硫酸水素塩の溶液（1→20）を酢酸で酸性とし、調製した溶液と等容量の塩酸（1→4）を加えるとき、二酸化硫黄のにおいを発生し、液は濁らない。これに硫化ナトリウム試液1滴を追加するとき、液は直ちに白濁し、次にこの白濁は、黄色の沈殿に変わる。

#### アルミニウム塩

- (1) アルミニウム塩の溶液（1→20）に塩化アンモニウム溶液（1→10）及びアンモニア試液を加えるとき、白色のゲル状の沈殿を生じ、過量のアンモニア試液を追加するとき、沈殿は溶けない。
- (2) アルミニウム塩の溶液（1→20）に水酸化ナトリウム溶液（1→25）を加えるとき、白色のゲル状の沈殿を生じ、過量の水酸化ナトリウム溶液（1→25）を追加するとき、沈殿は溶ける。
- (3) アルミニウム塩の溶液にわずかに沈殿を生じるまでアンモニア試液を加え、~~アリザリンS~~アリザリンレッドS溶液（1→1,000）5滴を追加するとき、沈殿の色は赤色に変わる。

#### 安息香酸塩

- (1) 安息香酸塩の溶液（1→20）に塩酸（1→4）を加えて酸性とすると、結晶性の沈殿を生じる。沈殿を分離し、冷水でよく洗い、乾燥し、融点を測定するとき、約121～123120～124℃である。
- (2) 安息香酸塩の溶液（1→20）を中和し、塩化第二鉄塩化鉄(III)六水和物溶液（1→10）を加えるとき、淡黄赤色の沈殿を生じ、塩酸（1→4）を追加するとき、白色の沈殿に変わる。

#### アンモニウム塩

アンモニウム塩に過量の水酸化ナトリウム溶液（1→25）を加えて加温するとき、アンモニアのにおいのあるガスを発生し、このガスは、水で潤した赤色リトマス紙リトマス紙(赤色)を青変する。

## 塩化物

- (1) 塩化物の溶液 (1→20) に硫酸及び過マンガン酸カリウムを加えて加熱するとき、塩素のにおいのあるガスを発生し、このガスは、水で潤したヨウ化カリウム・デンプン紙を青変する。
- (2) 塩化物の溶液に硝酸銀溶液 (1→50) を加えるとき、白色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、この一部に硝酸 (1→10) を追加するとき溶けないが、他の一部に過量のアンモニア試液を追加するとき溶ける。

## 過酸化物

- (1) 過酸化物の溶液に等容量の酢酸エチル及び重二クロム酸カリウム溶液 (3→40) 1～2滴を加え、更に硫酸 (1→20) を加えて酸性とするとき、~~水層は青色を呈し~~、直ちに振り混ぜて放置するとき、~~青色は酢酸エチル層~~は青色を呈するに移る。
- (2) 過酸化物の硫酸酸性溶液に過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) を滴加するとき、泡立ち、液の色は消える。

## カリウム塩

- (1) カリウム塩は、炎色反応の試験を行うとき、淡紫色を呈する。炎が黄色のときは、コバルトガラスを用いて観察すると赤紫色を呈する。
- (2) カリウム塩の溶液 (1→20) を中和し、新たに調製した酒石酸水素ナトリウム (+) - 酒石酸水素ナトリウム一水和物溶液 (1→10) を加えるとき、白色の結晶性の沈殿を生じる (ガラス棒で試験管の内壁をこすると、沈殿の生成が速くなる。)。沈殿を分離し、これにアンモニア試液、水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 又は無水炭酸ナトリウム溶液 (1→8) を加えるとき溶ける。

## カルシウム塩

- (1) カルシウム塩は、炎色反応の試験を行うとき、黄赤色を呈する。
- (2) カルシウム塩の溶液に~~シュウ酸アンモニウム~~シュウ酸アンモニウム一水和物溶液 (1→30) を加えるとき、白色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、これに酢酸 (1→20) を加えるとき溶けないが、塩酸 (1→4) を追加するとき溶ける。

## クエン酸塩

- (1) クエン酸塩の溶液 (1→20) 1～2滴にピリジン/無水酢酸混液 (3 : 1) 20mLを加え、2～3分間放置するとき、液は赤褐色を呈する。
- (2) クエン酸塩の溶液 (1→10) を中和し、等容量の希硫酸 10%硫酸試液を加え、その約 2/3 容量の過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) を加え、液の色が消えるまで加熱した後、全量の 1/10 容量の臭素試液を滴加するとき、白色の沈殿を生じる。

## グリセロリン酸塩

- (1) グリセロリン酸塩の溶液にモリブデン酸アンモニウム試液を加えるとき、冷時は沈殿を生じないが、長く煮沸する沸騰させるとき、黄色の沈殿を生じる。
- (2) グリセロリン酸塩に等容量の硫酸水素カリウムの粉末を混ぜ、直火で穏やかに加熱するとき、アクロレインの刺激臭を発する。

## コハク酸塩

コハク酸塩の溶液 (1→20) を pH6～7 に調整し、この液 5mL に塩化第二鉄塩化鉄 (III) 六水和物溶液 (1→10) 1mL を加えるとき、褐色の沈殿を生じる。

## 酢酸塩

- (1) 酢酸塩の溶液に硫酸 (1→2) を加えて加温するとき、酢酸のにおいを発する。

- (2) 酢酸塩に硫酸及び少量のエタノール (95) 及び少量の硫酸を加えて加熱するとき、酢酸エチルのおい気を発する。
- (3) 酢酸塩の溶液 (1→20) を中和し、塩化第二鉄塩化鉄 (III) 六水和物溶液 (1→10) を加えるとき、液は赤褐色を呈し、煮沸する沸騰させるとき、赤褐色の沈殿を生じる。これに塩酸を追加するとき、沈殿は溶け、液の色は黄色に変わる。

#### 次亜塩素酸塩

- (1) 次亜塩素酸塩溶液 5 mL に塩酸 2 mL を加えるとき、ガスを発生して泡立つ。
- (2) 次亜塩素酸塩の溶液 (1→1000) 5 mL に水酸化ナトリウム溶液 (1→2500) 1 mL 及びヨウ化カリウム試液 0.2 mL を加えるとき、液は黄色となり、これにデンプン試液 0.5 mL を加えるとき、液は濃青色を呈する。
- (3) 次亜塩素酸塩の溶液 (1→4) 5 mL に過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) 0.1 mL を加え、これに硫酸 (1→20) 1 mL を加えるとき、液の赤紫色は退色しない (亜塩素酸塩との区別)。

#### 臭素酸塩

- (1) 臭素酸塩の溶液 (1→20) を硝酸で酸性とし、硝酸銀溶液 (1→50) 2～3 滴を加えるとき、白色の結晶性の沈殿を生じ、加熱するとき、沈殿は溶ける。これに新たに調製した亜硝酸ナトリウム溶液 (1→10) 1 滴を追加するとき、淡黄色の沈殿を生じる。
- (2) 臭素酸塩の溶液 (1→20) を硝酸で酸性とし、新たに調製した亜硝酸ナトリウム溶液 (1→10) 5～6 滴を加えるとき、液は黄～赤褐色を呈する。

#### 酒石酸塩

- (1) 酒石酸塩の溶液 (1→20) を中和し、これに硝酸銀溶液 (1→50) を加えるとき、白色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、この一部に硝酸を加えるとき、沈殿は溶ける。また他の一部にアンモニア試液を加えて加温するとき、沈殿は溶け、徐々に銀鏡を生じる。
- (2) 酒石酸塩の溶液 (1→20) に酢酸 (1→4) 2 滴、硫酸第一鉄硫酸鉄 (II) 試液 1 滴及び過酸化水素試液 2～3 滴を加え、更に過量の水酸化ナトリウム溶液 (1→25) を加えるとき、液は赤紫～紫色を呈する。
- (3) 酒石酸塩の溶液 (1→20) 2～3 滴に、あらかじめ硫酸 5 mL に ~~ベンゾルシン~~ レソルシノール溶液 (1→50) 2～3 滴及び臭化カリウム溶液 (1→10) 2～3 滴を加えた硫酸 5 mL 液を加え、水浴上で 5～10 分間加熱するとき、液は濃青色を呈する。これを冷却した後、過量の水の中に注ぐとき、液は赤色を呈する。

#### 硝酸塩

- (1) 硝酸塩の溶液に等容量の硫酸を加えてよく振り混ぜ、冷却した後、硫酸第一鉄硫酸鉄 (II) 試液を層積するとき、接界面に暗褐色の輪帯を生じる。
- (2) 硝酸塩の硫酸酸性溶液に過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) を加えても、液の赤紫色は退色しない (亜硝酸塩との区別)。

#### 炭酸塩

- (1) 炭酸塩に塩酸 (1→4) を加えるとき、ガスを発生して泡立つ。このガスを水酸化カルシウム試液中に通じるとき、直ちに白色の沈殿を生じる (炭酸水素塩と共通)。
- (2) 炭酸塩の溶液 (1→20) に硫酸マグネシウム硫酸マグネシウム七水和物溶液 (1→10) を加えるとき、白色の沈殿を生じ、酢酸 (1→20) を追加するとき、沈殿は溶ける。
- (3) 炭酸塩の溶液は、フェノールフタレイン試液 1 滴を加えるとき、液は著しく紅赤色を呈する (炭

酸水素塩との区別)。

#### 炭酸水素塩

- (1) 炭酸水素塩に塩酸(1→4)を加えるとき、ガスを発生して泡立つ。このガスを水酸化カルシウム試液中に通じるとき、直ちに白色の沈殿を生じる(炭酸塩と共通)。
- (2) 炭酸水素塩の溶液(1→20)に~~硫酸マグネシウム~~硫酸マグネシウム七水和物溶液(1→10)を加えるとき、常温では沈殿を生じないが、煮沸する沸騰させるとき、白色の沈殿を生じる。
- (3) 炭酸水素塩の溶液は、フェノールフタレイン試液1滴を加えるとき、液は赤紅色を呈さず、又は赤紅色を呈しても極めて薄い(炭酸塩との区別)。

#### チオシアン酸塩

- (1) チオシアン酸塩の溶液に過量の硝酸銀溶液(1→10)を加えるとき、白色の沈殿を生じ、沈殿を分離し、この一部に硝酸(1→10)を追加したとき溶けないが、他の一部にアンモニア水を追加するとき溶ける。
- (2) チオシアン酸塩の溶液に~~塩化第二鉄~~塩化鉄(III)六水和物溶液(1→10)を加えるとき、液は赤色を呈し、これに、塩酸を加えるとき液の赤色は退色しない。

#### ~~鉄塩、第一鉄(II)塩~~

- (1) ~~第一鉄塩~~鉄(II)塩の弱酸性溶液に新たに調製した~~フェリシアン化カリウム~~ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム溶液(1→10)を加えるとき、青色の沈殿を生じ、これに塩酸(1→4)又は硝酸(1→10)を追加するとき、沈殿は溶けない。
- (2) ~~第一鉄塩~~鉄(II)塩の溶液に水酸化ナトリウム溶液(1→25)又はアンモニア試液を加えるとき、白色のゲル状の沈殿を生じる(これを振り混ぜるとき、沈殿の色は、速やかに灰緑色となり、次第に赤褐色に変わる)。これに硫化ナトリウム試液を追加するとき、黒色の沈殿を生じる。沈殿を分離し、塩酸(1→4)を追加するとき、沈殿は溶ける。

#### ~~鉄塩、第二鉄(III)塩~~

- (1) ~~第二鉄塩~~鉄(III)塩の弱酸性溶液に新たに調製した~~フェロシアン化カリウム~~ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム三水和物溶液(1→10)を加えるとき、青色の沈殿を生じ、これに塩酸(1→4)又は硝酸(1→10)を追加するとき、沈殿は溶けない。
- (2) ~~第二鉄塩~~鉄(III)塩の溶液に水酸化ナトリウム溶液(1→25)又はアンモニア試液を加えるとき、赤褐色のゲル状の沈殿を生じ、硫化ナトリウム試液を追加するとき、沈殿の色は黒色に変わる。沈殿を分離し、これに塩酸(1→4)を加えるとき、沈殿は溶け、白濁する。
- (3) ~~第二鉄塩~~鉄(III)塩の中性～弱酸性溶液にチオシアン酸アンモニウム溶液(2→25)を加えるとき、液は赤色を呈し、これに、塩酸を加えるとき液の赤色は退色しない。

#### ~~銅塩、第二銅(II)塩~~

- (1) ~~第二銅塩~~銅(II)塩の塩酸酸性溶液によく磨いた鉄片を浸して放置するとき、その表面に黄赤色の金属が析出する。
- (2) ~~第二銅塩~~銅(II)塩の溶液に少量のアンモニア試液を加えるとき、淡青色の沈殿を生じ、過量のアンモニア試液を追加するとき、沈殿は溶け、液は濃青色を呈する。
- (3) ~~第二銅塩~~銅(II)塩の溶液に新たに調製した~~フェロシアン化カリウム~~ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム三水和物溶液(1→10)を加えるとき、赤褐色の沈殿を生じ、この一部に酢酸(1→20)を追加するとき、沈殿は溶けないが、他の一部にアンモニア試液を追加するとき溶け、液は濃青色を呈する。

## ナトリウム塩

- (1) ナトリウム塩は、炎色反応の試験を行うとき、黄色を呈する。
- (2) ナトリウム塩の溶液（1→20）を中和し、~~ピロアンチモン酸水素カリウム~~ ヘキサヒドロキノアンチモン(V)酸カリウム 試液を加えるとき、白色の結晶性の沈殿を生じる（ガラス棒で試験管の内壁をこすると沈殿の生成が早くなる。）。

## 乳酸塩

乳酸塩の溶液（1→20）を硫酸で酸性とし、過マンガン酸カリウム溶液（1→50）を加えて加熱するとき、アセトアルデヒドのにおいを発する。

## マグネシウム塩

マグネシウム塩の溶液に塩化アンモニウム溶液（1→10）及び炭酸アンモニウム試液を加えるとき、沈殿を生じないが、リン酸二ナトリウム リン酸水素二ナトリウム・12水 溶液（1→10）を追加するとき、白色の結晶性の沈殿を生じる。沈殿を分離し、これにアンモニア試液を加えても溶けない。

## 硫酸塩

- (1) 硫酸塩の溶液に~~塩化バリウム~~ 塩化バリウム二水和物 溶液（3→25）を加えるとき、白色の沈殿を生じ、塩酸又は硝酸（1→10）を追加するとき、沈殿は溶けない。
- (2) 硫酸塩の中性溶液に酢酸鉛 (II) 試液を加えるとき、白色の沈殿を生じ、酢酸アンモニウム溶液（1→10）を追加するとき、沈殿は溶ける。
- (3) 硫酸塩の溶液に等容量の塩酸（1→4）を加えるとき、白濁を生じない (チオ硫酸塩との区別)。また二酸化硫黄のにおいを発しない（亜硫酸塩との区別）。

## リン酸塩（正リン酸塩）

- (1) リン酸塩の中性溶液に硝酸銀溶液（1→50）を加えるとき、黄色の沈殿を生じ、硝酸（1→10）又はアンモニア試液を追加するとき、沈殿は溶ける。
- (2) リン酸塩の中性～硝酸酸性溶液にモリブデン酸アンモニウム試液を加えて加温するとき、黄色の沈殿を生じ、水酸化ナトリウム溶液（1→25）又はアンモニア試液を追加するとき、沈殿は溶ける。

## 2728. 鉄試験法

鉄試験法は、試料中に混在する鉄化合物の許容される限量を試験する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Feとして10 $\mu$ g/g以下（1.0g，第1法，比較液鉄標準液1.0mL）」とあるのは、本品1.0gを量り、試料とし、第1法により操作し、比較液には、鉄標準液1.0mLを用いて試験を行うとき、Feとして10 $\mu$ g/g以下であることを示す。

### 操作法

- (1) 検液及び比較液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

第1法 別に規定する量の試料を量り、鉄試験用pH4.5の酢酸鉄試験用酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.5) 30mLを加え、必要ならば加温して溶かし、検液とする。比較液は別に規定する量の鉄標準液をとり、鉄試験用pH4.5の酢酸鉄試験用酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.5) 30mLを加えて比較液とする。

第2法 別に規定する量の試料を量り、塩酸（1→4）10mLを加え、必要があれば加温して溶かす。次に酒石酸L（+）-酒石酸 0.5 gを加えて溶かした後、フェノールフタレイン試液1滴を加え、アンモニア試液を液が微赤色となるまで滴加し、更に鉄試験用pH4.5の酢酸鉄試験用酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液（pH4.5）20mLを加えて検液とする。比較液の調製は別に規定する量の鉄標準液をとり、塩酸（1→4）10mLを加えた後、検液の場合調製と同様に操作して調製する。

## (2) 試験

別に規定するもののほか、検液及び比較液をそれぞれネスラー管にとり、鉄試験用アスコルビン酸L（+）-アスコルビン酸溶液（1→100）2mLを加えて混和し、30分間放置した後、~~α, α'-ジピリジルのエタノール溶液~~ 2, 2'-ジピリジル・エタノール（95）溶液（1→200）1mL及び水を加えて50mLとし、30分間放置後、白色の背景を用いて液の色を比較するとき、検液の呈する色は、比較液の呈する色より濃くない。

## 2829. 鉛試験法（原子吸光光度法）

鉛試験法は、試料中に混在する鉛の許容される限量を原子吸光光度法により試験する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Pbとして2μg/g以下（2.0g、第1法、比較液鉛標準液4.0mL、フレイム方式）」とあるのは、本品2.0gを量り、試料とし、第1法により検液を調製し、比較液の調製に鉛標準液4.0mLを用い、フレイム方式により試験を行うとき、Pbとして2μg/g以下であることを示す。

## 操作法

### 第1法

#### (1) 検液及び比較液の調製

別に規定するもののほか、次の方法により検液を調製する。

### 第1法

別に規定する量の試料を量り、白金製又は、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。~~硫酸少量（1→4）を加えて試料全体を潤した後、徐々に加熱してできるだけ低温でほとんど灰化した後、~~放冷し、更に硫酸1mLを加え、~~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等の場合には、硫酸（1→4）の代わりに硫酸を用いてもよい。また、試料が水溶液の場合には、穏やかに加熱して蒸発乾固させた後に硫酸を加えて炭化してもよい。試料が炭化した後、容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に加熱して温度を上げて450～600℃で~~灰化するまで強熱する。~~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碎き、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→~~150~~100）を加え、加温して溶かし、冷後、更に硝酸（1→~~150~~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。  
また、別に規定するもののほか、量の鉛標準液 1.0mL を正確に量り、硝酸（1→150/100）を加えて正確に 10mL とし、たものを比較液とする。

## 第2法

別に規定する量の試料を量り、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。徐々に加熱し、炭化し始める前に加熱をやめ、硫酸 1 mL を加え、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。必要があれば硫酸を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。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碎き、硫酸（1→4）1 mL 及び硝酸 1 mL 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。  
別に規定する量の鉛標準液を正確に量り、硝酸（1→100）を加えて正確に 10mL としたものを比較液とする。

## 第3法

別に規定する量の試料を量り、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）又は硫酸を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料がほとんど炭化し、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、この操作を繰り返す。なお、疎水性物質及び炭化しにくい試料等の場合には、穏やかに加熱して試料を融解させ、冷後、硫酸（1→4）または硫酸を用いて炭化してもよい。容器に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碎き、硫酸（1→4）1 mL 及び硝酸 1 mL 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。残留物に塩酸（1→4）20mL を入れ、容器を時計皿等で覆い、加温して溶かし、試料液とする。なお、残留物が溶けない場合には、容器を時計皿等で覆い、5分間沸騰させ、冷後、試料液とする。試料液にクエン酸水素二アンモニウム溶液（1→2）10mL を加える。指示薬としてチモールブルー試液 1 mL を加え、アンモニア水を液の色が黄色から淡黄緑色に変わるまで加える。変色点が見にくい場合には、pH試験紙又はpH計を用いてpH 8～9に調整する。この液を分液漏斗または遠心管に移し、灰化容器を少量の水または温水で洗い、洗液を合わせる。沈殿が生じる場合には、さらに水を加え約100mLとする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液（3→100）5 mL を加えて5分間放置し、酢酸ブチル10mLを正確に加えて5分間振とうした後、放置または遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、これを検液とする。

別に規定する量の鉛標準液を正確に量り、試料液と同様に操作し、比較液とする。

## 第4法

別に規定する量の試料を量り、ケルダールフラスコ又は耐熱ガラス製のビーカー若しくはニコカルフラスコに入れ、硝酸 10mL 及び硫酸 5 mL を加えて赤褐色の煙がほとんど発生しなくなるま

で加熱する。冷後、硝酸 2 mL を追加して、液が透明になり濃厚な白煙が発生するまで加熱する。なお、加熱中に内容物が黒化する場合には、硝酸 2 mL ずつ追加して加熱を続ける。冷後、塩酸（1→4）10 mL を加えて、容器を時計皿等で覆い、沈殿が溶けるまで加熱する。必要があれば塩酸（1→4）を更に加えてもよい。冷後、試料液とする。試料液に、クエン酸水素二アンモニウム溶液（1→2）10 mL を加える。チモールブルー試液 1 mL を指示薬として、液の色が黄色から緑色に変わるまでアンモニア水を加える。変色点が見にくい場合には、pH 試験紙又は pH 計を用いて pH 8～9 に調整する。この液を分液漏斗または遠心管に移し、灰化容器を少量の水または温水で洗い、洗液を合わせる。沈殿が生じる場合には、さらに水を加え約 100 mL とする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液（3→100）5 mL を加えて 5 分間放置し、酢酸ブチル 10 mL を正確に加えて 5 分間振とうした後、放置または遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、検液とする。

なお、試料液の調製に自動化された湿式灰化装置を用いることもできる。

別に規定する量の鉛標準液を正確に量り、試料液と同様に操作し、比較液とする。

## 第 5 法

別に規定する方法で試料液を調製する。試料液にクエン酸水素二アンモニウム溶液（1→2）10 mL を加える。指示薬としてチモールブルー試液 1 mL を加え、アンモニア水を液の黄色が淡黄緑色に変わるまで加える。変色点が見にくい場合には、pH 試験紙又は pH 計を用いて pH 8～9 に調整する。冷後、内容物を分液漏斗または遠心管に移し、容器を少量の水で洗い、洗液を合わせ、約 100 mL とする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液（3→100）5 mL を加えて 5 分間放置し、酢酸ブチル 10 mL を正確に加えて 5 分間振とうした後、放置または遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、これを検液とする。

別に規定する量の鉛標準液を正確に量り、試料液と同様に操作し、比較液とする。

### (2) 試験

別に規定するもののほか、~~検液及び比較液につき、原子吸光光度法（フレイム方式）により次の条件で吸光度を測定するとき、検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。~~

次の方法により試験を行う。

### フレイム方式

原子吸光光度法（フレイム方式）により次の条件で検液及び比較液の吸光度を測定する。

検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。

#### 操作条件

光源ランプ	鉛中空陰極ランプ
分析線波長	283.3 nm
支燃性ガス	空気
可燃性ガス	アセチレン

### 電気加熱方式

原子吸光光度法（電気加熱方式）の標準添加法により次の条件で試験を行う。ただし、標準液は鉛標準液適量を正確に量り、硝酸（1→100）を加えて調製する。また、測定用溶液には同容積

の硝酸パラジウム試液を加え、よく混ぜ合わせる。硝酸（1→100）を用いて空試験を行い、補正する。

#### 操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3nm

乾燥温度 110℃

灰化温度 600℃

原子化温度 2,100℃

#### 第2法

##### -(1) 検液の調製

~~別に規定するもののほか、次の方法により検液を調製する。~~

~~別に規定するもののほか、次の方法により検液を調製する。~~

~~別に規定する量の試料を量り、ポリテトラフルオロエチレン製分解容器に入れ、硝酸0.5mlを加えて溶かした後、密封し、150℃で5時間加熱する。冷後、水を加えて正確に5mlとし、検液とする。~~

##### -(2) 試験

~~別に規定するもののほか、次の方法により試験を行う。~~

~~検液3個以上をとり、原子吸光度法（電気加熱方式）の標準添加法により次の条件で試験を行う。ただし、標準液は鉛標準液適量を正確に量り、水を加えて調製する。また、測定用溶液には同容積の硝酸パラジウム試液を加え、よく混ぜ合わせる。硝酸10mlを正確に量り、水を加えて正確に100mlとした溶液を用いて空試験を行い、補正する。~~

#### 操作条件

~~光源ランプ 鉛中空陰極ランプ~~

~~分析線波長 283.3nm~~

~~乾燥温度 110℃~~

~~灰化温度 600℃~~

~~原子化温度 2,100℃~~

## **2930. 粘度測定法**

粘度測定法は、粘度計により試料の動粘度及び（絶対）粘度を測定する方法である。その単位は、通例、それぞれ平方ミリメートル毎秒（ $\text{mm}^2/\text{s}$ ）及びミリパスカル秒（ $\text{mPa}\cdot\text{s}$ ）を用いる。

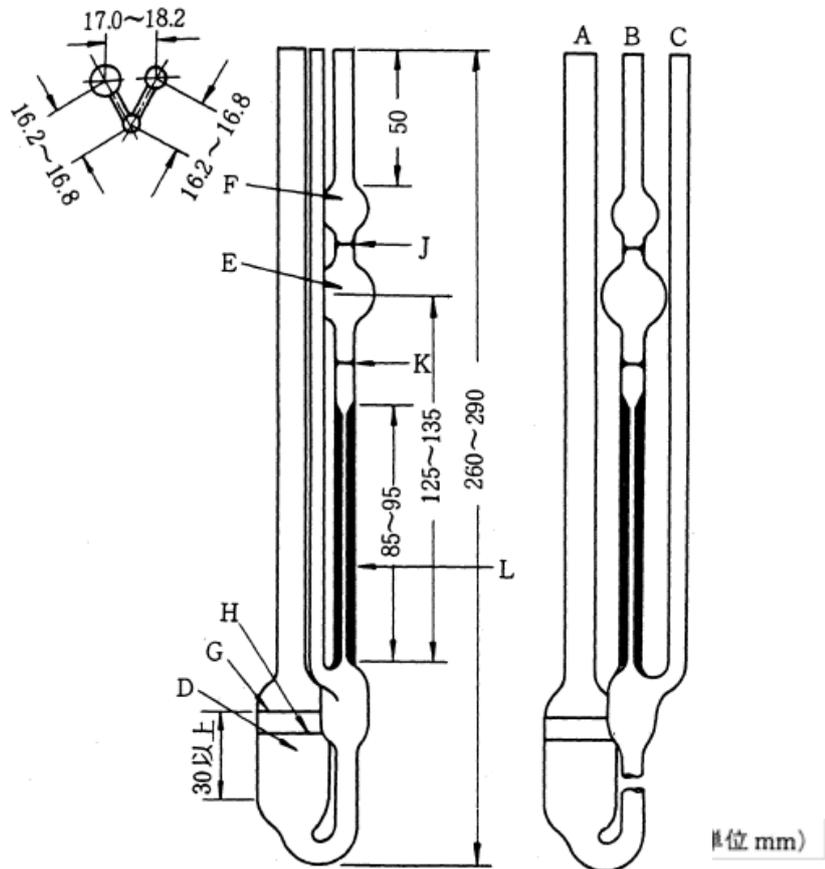
### 第1法 毛細管粘度計法

この測定法は、ニュートン液体の動粘度を測定する方法で、一定体積の液体が、毛細管を流

下するのに要する時間を測定し、動粘度を算出する。

装 置

別に規定するもののほか、この測定法は、~~ニュートン液体の動粘度を測定する方法で、~~次の図に示すウベローゲ型粘度計を用いる。



- A, B及びC : 管部
- D, E及びF : 球部
- G, H, J及びK : 標線
- L : 毛細管部

毛細管の内径と測定に適する動粘度の範囲との大体的関係を表に示す。毛細管の内径は、表に示したものでなくてもよいが、流下時間が 200~1,000 秒になるような粘度計を選ぶ。

毛細管の内径 (mm) [許容差: ±10%]	動粘度の範囲 (mm <sup>2</sup> /s)
0.586~0.60	2~10
0.735~0.79	6~30
0.885~0.89	10~50
1.037~1.13	20~100
1.3640~1.46	60~300
1.5561~1.67	100~500
1.8392~1.98	200~1,000

2. <del>43.63</del> ~ <del>2.71</del>	600~ <del>3,000</del>
<del>2.75</del> <del>3.01</del> ~ <del>3.11</del>	1,000~ <del>5,000</del>
3. <del>27.58</del> ~ <del>3.66</del>	<del>2,000</del> ~ <del>10,000</del>
4. <del>32.68</del> ~ <del>4.88</del>	<del>6,000</del> ~ <del>30,000</del>
5. <del>20.33</del> ~ <del>5.55</del>	<del>10,000</del> ~ <del>50,000</del>
6. <del>25.41</del> ~ <del>6.67</del>	<del>20,000</del> ~ <del>100,000</del>

## 操作法

試料を泡が入らないように注意しながらA管に入れ、粘度計を垂直にしたとき試料の液面が球部Dの標線中GとHの間にくるようにする。この粘度計を別に規定する温度(±0.1℃)の恒温水槽中にB管の球部Fが水中に没するまで入れ、垂直に固定し、試料が規定温度になるまで約20分間放置する。C管を指で閉じ、B管から静かに試料を吸い上げ、液面が球部Fのほぼ中心に達したとき、C管の管口を開き、直ちにB管の管口を閉じる。毛細管の最下端で液柱が切れていることを確認した後の試料が流下したとき、B管の管口を開き、液面が標線Jから標線Kまで流下するに要する時間t(秒)を測定し、次式により動粘度(ν)を求める。

$$\nu = Kk t$$

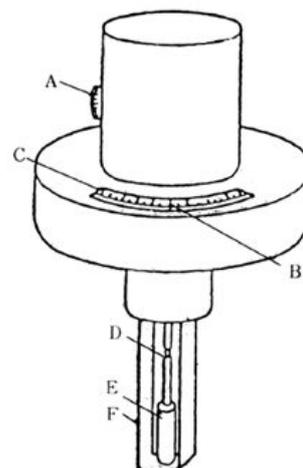
ただし、 $K$  ( $\text{mm}^2/\text{s}^2$ )  $k$ は、粘度計の定数であり、あらかじめ蒸留水又は粘度計校正用のわかっている標準液を用いて同様に操作して定めておく。このときの温度は、試料の測定時の温度と異なっても差し支えない。

## 第2法 回転粘度計法

この測定法は、ニュートン液体又は非ニュートン液体に対して適用する方法であり、液体中を一定の角速度で回転するローターに作用する力(トルク)をバネのねじれ度で検出し、粘度に換算する原理等を応用した測定法である。

## 装置

~~この測定法は、ニュートン液体又は非ニュートン液体に対して適用する方法であり、液体中を一定の角速度で回転するローターに働く液体の粘性抵抗により生ずるトルクをバネのねじれ度で検出し、粘度に換算する。次の図に示すブルックフィールド型粘度計を用いる。ローターの種類及び回転数は可変になっており、試料に適したものを選ぶ。~~



- A : 回転数切り換えつまみ
- B : 指針
- C : 目盛
- D : 液浸マーク
- E : ローター
- F : ガード

## 操作法

成分規格・保存基準各条で規定するローターEとガードF(低粘度用アダプター使用時を除く)をとり付ける。回転数切り換えつまみAを成分規格・保存基準各条で規定する回転数に設定する。

試料を入れた容器中にEを静かに入れ、試料の液面を液浸マークDに一致させる。スイッチを入れ、Eを回転させると指針Bは0より動き始める。成分規格・保存基準各条に規定するように、Bが安定するか、一定時間経過後、回転をやめ、Bの示す目盛りCを読む。この指示値に、使用したEの種類及び回転数によって定まる表の換算定数を乗じて、試料の粘度を算出する。

例えば、成分規格・保存基準各条で、~~1,500~~~~~2,500~~mPa・s（2号、12回転、30秒間）と規定した場合は、2号ローターを用い、1分間12回転で回転した時、30秒後の粘度が~~1,500~~~~~2,500~~mPa・sであることを示す。また、成分規格・保存基準各条で~~30,000~~~~~40,000~~mPa・s（4号、12回転、安定）と規定した場合は、4号ローターを用い、1分間12回転で回転し、指針の目盛り示度が安定した時の粘度が~~30,000~~~~~40,000~~mPa・sであることを示す。

ローターの種類	回転数 60	30	12	6
アダプター	0.1	0.2	0.5	1.0
1号	1	2	5	10
2号	5	10	25	50
3号	20	40	100	200
4号	100	200	500	<del>1,000</del>

### 3031. 薄層クロマトグラフィー

薄層クロマトグラフィーは、適当な固定相で作られた薄層を用い、混合物を移動相で展開させてそれぞれの成分に分離する方法であり、物質の確認又は純度の試験等に用いる。

#### 薄層板の調製

別に規定するもののほか、次の方法により調製し、~~湿気を避けて保存~~する。

適当な器具を用い、別に規定する担体に水適当量を加えて懸濁液を作り、これを50mm×200mm又は200mm×200mmの平滑で均一な厚さのガラス板に0.2~0.3mmの厚さで均一に塗布し、風乾後、更に別に規定する条件で乾燥する。薄層板は湿気を避けて保存し、作成後の日数が経過したものは、加熱乾燥して用いる。ガラス板の代わりに適当なプラスチック板も使うことができる。

更に、別に規定された担体をガラス板、プラスチック板又はアルミニウムシートにあらかじめ塗布あるいは熔着させた薄層板を使うこともできる。

#### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法で行う。

薄層板の一端から約20mmの位置を原線とし、両側から少なくとも10mm離し、原線上に別に規定する量の検液及び対照液をマイクロピペット等を用いて10mm以上の適当な間隔で、~~スポットの~~直径が約3mmの円形状になるように付け、風乾する。次に原線のある部分を下にして、この薄層板を展開用容器に入れ、密閉して展開を行う。展開用容器にはあらかじめ別に規定する展開溶媒を10mmの深さに入れ、展開溶媒の蒸気で飽和しておく。展開溶媒の先端が原線から別に規定する距離まで上昇したとき、

薄層板を取り出し、風乾した後、別に規定する方法により、検液と対照液とのそれぞれから得られたスポットの位置及び色などを比較観察する。 $R_f$  値は次の式によって求める。

$$R_f = \frac{\text{原線からスポット中心までの距離}}{\text{原線から溶媒先端までの距離}}$$

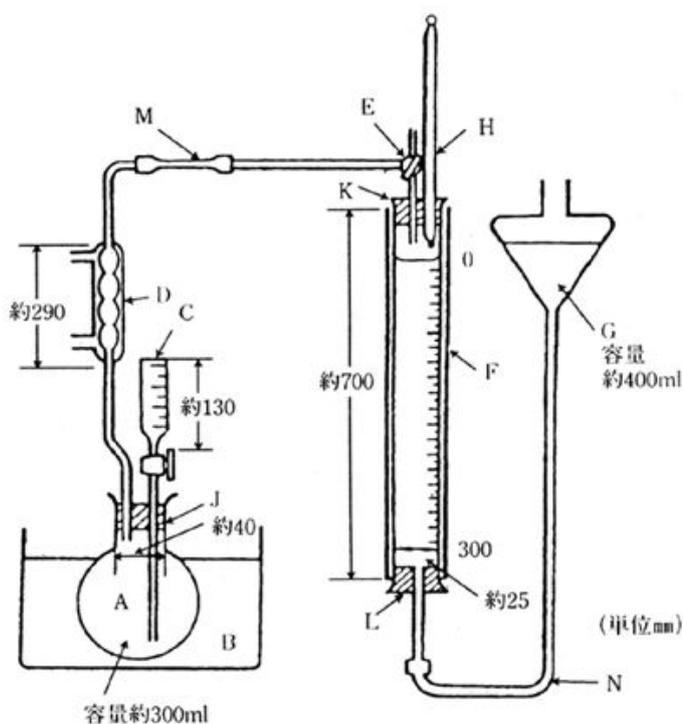
### 3132. 発生ガス測定法

発生ガス測定法は、合成膨脹剤から発生するガス量を測定する方法である。

#### 装 置

概略は、次の図による。

- A : ガス発生用丸底フラスコ (容量約 300mL)
- B : 水浴
- C : 酸滴加漏斗
- D : 冷却器
- E : 三方コック
- F : 外とう管付ガスビュレット (容量約 300mL で 1 mL ごとに目盛を付けたもの)
- G : 水準瓶 (容量約 400mL)
- H : 温度計
- J, K 及び L : ゴム栓
- M 及び N : ゴム管



#### 置換溶液の調製

塩化ナトリウム 100 g を量り、水 350 mL を加えて溶かし、炭酸水素ナトリウム 1 g を加え、メチルオレンジ試液に対してわずかに酸性を呈するまで塩酸 (1 → 3) を加える。

#### 操 作 法

あらかじめ水 100 mL を入れたガス発生用フラスコ A に試料 (二剤式合成膨脹剤の場合は、使用時の混合割合に混合したものを試料とする。) 2.0 g を和紙等、測定の妨げとならない紙に包んで投入し、装置を連結し、三方コック E を開放にして、水準瓶 G を上下して内部の置換溶液を移動させ、ガスビュレット F の目盛の 0 に合わせる。冷却器 D に水を流し、三方コック E を回して冷却器 D とガスビュレット F を貫通させた後、滴加漏斗 C から塩酸 (1 → 3) 20 mL を滴加し、直ちに滴加漏斗のコックを閉じ、時々フラスコを緩やかに振り動かしながら、75°C の水浴中で加熱し、ガスビュレット F 中の液面の低下に応じて水準瓶 G を下げる。3 分後にガスビュレット F と水準瓶 G の液面を平衡にしたときの液面の目盛  $V$  (mL) を読み、同時に温度計 H で発生ガスの温度  $t$  °C を読み取る。次式により標準状態における発生ガス量  $V_0$  (mL) を求める。別に空試験値  $v$  (mL) を求め補正する。

$$V_0 (\text{mL}) = (V - v) \times \frac{101}{273 + t} \times \frac{P}{p}$$

ただし、P：測定時における大気圧 (kPa)

p：t℃における水の蒸気圧 (kPa)

### 3233. pH測定法

pHは、水素イオン濃度 (mol/L) の値に、活動度係数を乗じた値、すなわち水素イオン活量の逆数の常用対数で定義され、実用的には、溶液中の水素イオン濃度の尺度として用いられる。~~ガラス電極による pH 計を用いて測定する。~~

検液の pH は、基本的には溶液中の水素イオン活量を表す値であり、次式で定められている。この値は、希薄溶液においては溶液中の水素イオン濃度をその逆数の常用対数で示した値とかなりよく一致する標準液の pH (pH<sub>s</sub>) と関連づけて次の式で表され、ガラス電極を用いて pH 計により測定される。

$$E - E_s$$

$$\text{pH} = \text{pH}_s + \frac{E - E_s}{2.3026 R T / F}$$

pH<sub>s</sub>：pH 標準液の pH 値

E：試料の液の中でガラス電極と比較電極を組み合わせた電池の起電力 (ボルト) で、電池の構成は次に示される。

ガラス電極 | 試料の液 # | 比較電極

E<sub>s</sub>：pH 標準液中でガラス電極と比較電極を組み合わせた電池の起電力 (ボルト) で、電池の構成は、次に示される。

ガラス電極 | pH 標準液 # | 比較電極

R：気体定数

T：絶対温度

F：ファラデー定数

各温度における 2.3026 R T / F の値 (ボルト) は、表のとおりである。

液温	2.3026RT/F	液温	2.3026RT/F
5℃	0.05519	35℃	0.06114
10℃	0.05618	40℃	0.06213
15℃	0.05717	45℃	0.06313
20℃	0.05817	50℃	0.06412
25℃	0.05916	55℃	0.06511
30℃	0.06015	60℃	0.06610

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、pH6.0～7.5 (1.0 g, 水 20mL) と規定する場合は、本品 1.0 g を量り、水 20mL を加えて溶かした液の液性が、pH6.0～7.5 であることを示す。

pH 標準液の調製

pH 標準液は、液性 pH の基準として用いる。 pH 標準液の調製に用いる水は、導電率  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$  ( $25^\circ\text{C}$ ) 以下の水を用いる。 精製水を蒸留し、留液を 15 分間以上煮沸し、二酸化炭素を追い出した後、二酸化炭素吸収管（ソーダ石灰）を付けて冷却する。 pH 標準液は、硬質ガラス瓶又はポリエチレン瓶に保存する。 長期間の保存によって液性が変化することがあるため、通例、酸性の pH 標準液は、3 か月以内に使用し、塩基性の pH 標準液は、二酸化炭素吸収管（ソーダ石灰）を付けて保存し、1 か月以内にホウ酸塩 pH 標準液、炭酸塩及び水酸化カルシウム pH 標準液の場合には、導電率  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$  ( $25^\circ\text{C}$ ) 以下の水を 15 分間以上煮沸した後、二酸化炭素吸収管（ソーダ石灰管）を付けて冷却した水を使用する。

pH 標準液の調製方法は、次によるが、計量法に規定する pH 標準液を用いてもよい。

pH 標準液は、上質の硬質ガラス製又はポリエチレン製の瓶中に密閉して保存する。 pH 標準液は、長期間の保存によって pH 値が変化することがあるので、調製後長期にわたるものは新たに調製したものと比較して、pH 値が同一であることを確認してから使用する必要がある。

シュウ酸塩 pH 標準液 pH 測定用四シュウ酸カリウム、pH 測定用二シュウ酸三水素カリウム二水和物を めのう乳鉢ですりつぶし粉末とし、デシケーターで 18 時間以上保存する。 乾燥した後、その 12.60674 g を正確に量り、少量の水にを加えて溶かし、この液をメスフラスコに入れ、水を加えて正確に  $1,000 \text{ mL}$  とする。

フタル酸塩 pH 標準液 あらかじめ pH 測定用フタル酸水素カリウムを  $120^\circ\text{C}$  で約 1 時間加熱し、デシケーター中で放冷する。 粉末とし、 $110^\circ\text{C}$  で恒量になるまで乾燥した後、その 10.11921 g を正確に量り、少量の水にを加えて溶かし、この液をメスフラスコに入れ、水を加えて正確に  $1,000 \text{ mL}$  とする。

中性リン酸塩 pH 標準液 ( $0.025 \text{ mol/kg}$ ) あらかじめ pH 測定用リン酸一カリウム、pH 測定用リン酸二水素カリウムを  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  で 2 時間、及び pH 測定用無水リン酸二ナトリウム、pH 測定用リン酸水素二ナトリウムはを粉末とし、 $110^\circ\text{C}$  で恒量になるまで乾燥した後 2 時間それぞれ加熱し、デシケーター中で放冷する。 リン酸一カリウム、リン酸二水素カリウム 3.4390 g ( $0.025$  グラム分子量) 及びリン酸二ナトリウム、pH 測定用リン酸水素二ナトリウム 3.5536 g を正確に量り、少量の水にを加えて溶かし、正確に  $1,000 \text{ mL}$  とする この液をメスフラスコに入れ、水を加えて  $1000 \text{ mL}$  とする。

リン酸塩 pH 標準液 あらかじめ pH 測定用リン酸二水素カリウムを  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  で 2 時間、pH 測定用リン酸水素二ナトリウムは  $110^\circ\text{C}$  で 2 時間それぞれ加熱し、デシケーター中で放冷する。 pH 測定用リン酸二水素カリウム 1.179 g 及び pH 測定用リン酸水素二ナトリウム 4.302 g を量り、少量の水に溶かし、この液をメスフラスコに入れ、水を加えて  $1000 \text{ mL}$  とする。

ホウ酸塩 pH 標準液 pH 測定用ホウ酸ナトリウム四ホウ酸ナトリウム十水和物を めのう乳鉢ですりつぶし、デシケーター（水で潤した臭化ナトリウム飽和溶液に、更に臭化ナトリウムを加えた溶液を入れたデシケーター中に放置して、恒量とするした後、その 3.8041 g を正確に量り、少量の二酸化炭素を除いた水にを加えて溶かし、この液をメスフラスコに入れ、水を加えて正確に  $1,000 \text{ mL}$  とする。

炭酸塩 pH 標準液 pH 測定用炭酸水素ナトリウムを、デシケーター中で恒量になるまで乾燥する。 約 3 時間放置し、その 2.9210 g を正確に量る。 別に pH 測定用炭酸ナトリウムを  $300 \sim 500^\circ\text{C}$  で白金製のるつぼに入れ、 $600^\circ\text{C}$  で加熱して恒量としになるまで乾燥し、その 2.6405 g を正確に量る。 両者を合わせ、二酸化炭素を除いた少量の水にを加えて溶かし、この液をメスフラスコに入れ、水を加えて正確に  $1,000 \text{ mL}$  とする。

水酸化カルシウム pH 標準液 pH 測定用水酸化カルシウムを粉末とし、その 5 g をフラスコに入れ、

二酸化炭素を除いた水 1,000 $\pm$ 1mLを加え、よく振り混ぜ、23～27℃とし、十分に飽和した後、その温度で上澄液をろ過し、澄明なる液（約 0.02mol/L）を用いる。

これらの pH 標準液の各温度における pH 値を次の表に示す。この表にない温度の pH 値は、表の値から内挿法により求める ことができる。

温度	シュウ酸塩 pH 標準液	フタル酸塩 pH 標準液	中性リン酸 塩 pH 標準液	リン酸塩 pH 標準液	ホウ酸塩 pH 標準液	炭酸塩 pH 標準液	水酸化カルシウ ム pH 標準液
0℃	1.67	4.01	6.98	<a href="#">7.53</a>	9.46	10.32	13.43
5℃	1.67	4.01	6.95	<a href="#">7.50</a>	9.39	10.25	13.21
10℃	1.67	4.00	6.92	<a href="#">7.47</a>	9.33	10.18	13.00
15℃	1.67	4.00	6.90	<a href="#">7.43</a>	9.27	10.12	12.81
20℃	1.68	4.00	6.88	<a href="#">7.43</a>	9.22	10.07	12.63
25℃	1.68	4.01	6.86	<a href="#">7.41</a>	9.18	10.02	12.45
30℃	1.69	4.01	6.85	<a href="#">7.40</a>	9.14	9.97	12.30
35℃	1.69	4.02	6.84	<a href="#">7.39</a>	9.10	9.93	12.14
40℃	1.70	4.03	6.84	<a href="#">7.38</a>	9.07		11.99
50℃	1.71	4.06	6.83	<a href="#">7.37</a>	9.01		11.70
60℃	1.73	4.10	6.84		8.96		11.45

## 装置 pH 計の構造

pH 計は、通例、ガラス電極及び比較電極からなる検出部と、検出された起電力を増幅する増幅部及び測定結果を表示に対応する pH を指示する指示部からなる。指示部には、ゼロ校正用つまみ及びスパン（感度）校正用つまみがある。その他、装置によっては温度補償用つまみ等を備えたもの非対称電位調整用及び温度補償用つまみがあり、また感度調整用つまみを備えるものがある。

pH 計は、次の操作法に従い、任意の種類の pH 標準液の pH を、毎回検出部を水でよく洗った後、5 回繰り返し測定するとき、その再現性が  $\pm 0.05$  以内のものを用いる。

### 操作法

ガラス電極は、あらかじめ水に数時間以上浸しておく。pH 計には、電源を入れて、装置が安定したことを確認した後 5 分間以上たってから、使用する。検出部をよく水で洗い、付着した水は、ろ紙などで軽くふきとる。

pH 計の校正は、2 種類の pH 標準液を用いて、通例、次のように行う。検出部 1 点で調整する場合は、温度補償用つまみを pH 標準液の温度と一致させ、検出部を試料の液の pH 値に近い pH 標準液中に浸し、2 分間以上たってから pH 計の指示が、その温度における pH 標準液の液性になるように非対称電位調整用つまみを調整する。2 点で調整する場合は、まず温度補償用つまみを液温に合わせ、通例、を中性リン酸塩 pH 標準液に浸し、ゼロ校正用つまみを用いて、非対称電位調整用つまみを用いて液性を一致させ pH 標準液の温度に対応する値に一致させる。次に、予想される検試料の液の pH 値に近いを挟むような pH 値をもつ pH 標準液を第二の標準液として同様の条件でその pH を測定する。得られた pH が pH 標準液の温度に対応する値一致しないとき、スパン校正用つまみを用いて、規定の pH に一致させる。二つの pH 標準液の pH が、調整操作なしに規定された pH 値に  $\pm 0.05$  以内で一致するまで同様の操作を繰り返す。なおに浸し、感度調整用つまみ又は標準液の温度にかかわらず、温度補償用つま

まみがある装置を用いる場合、目盛値を pH 標準液の温度に合わせた後、校正を行う。また、自動化された装置において、以上の操作を自動的に行を用いて同様に操作する。う機能を有している場合、二つの pH 標準液の pH が、規定された pH 値に±0.05 以内で一致することを定期的に確認する必要がある。

以上の調整校正が終了した後、終われば検出部をよく水で洗い、付着した水は、ろ紙などで軽くふきとる。取った後、検出部を検液試料の液に浸し、安定な指示値を与えていることを確認した後、その測定値を読み取る。

操作上の注意

- (1) pH 計の構造及び操作法の細部は、それぞれの pH 計によって異なる。
- (2) pH11 以上で、アルカリ金属イオンを含む液は、誤差が大きいので、アルカリ誤差の少ない電極を用い、更に必要な補正を行う。
- (3) 検液試料の液の温度は、校正に用いた pH 標準液の温度と等しいことが望ましいくさせる必要がある (±2℃以内)。

### 3334. 比重測定法

比重  $d_4^{20}$  とは、物質の質量とその物質と等体積の標準物質の質量との比をいう。本試験法では比重 ( $d_4^{20}$ ) とは、試料と蒸留水とのそれぞれの温度  $t'$ ℃ 及び、 $t$ ℃ における等体積の質量の比をいい、単に比重と記載した場合は、別に規定するもののほか、試料と蒸留水との 20℃ における等体積の質量比 ( $d_4^{20}$ ) をいう。比重の測定は、別に規定するもののほか、第 1 法、第 2 法又は第 4 法を用い、数値に約を付記してある場合は、第 3 法を用いてもよい。

第 1 法 比重瓶 (ピクノメーター) による測定法

比重瓶は、通例、容量 10~100 mL の瓶ガラス製容器で、温度計付きのすり合わせの栓と、標線及びすり合わせのふたのある側管とがある。

あらかじめ清浄にし、乾燥した比重瓶の質量 ( $M$ ) を精密に量る。次に栓とふたを取り、試料を満たして規定温度 ( $t'$ ℃) より 1~3℃ 低くし、泡が残らないように注意して栓をする。次に徐々に温度をあげ、温度計が規定の温度を示したとき、標線より上部の試料を側管から除き、側管にふたをする。次に外部をよくふいた後、質量 ( $M_1$ ) を精密に量る。更に、同じ比重瓶で蒸留水を用いて同様に操作し、その規定温度 ( $t$ ℃) における質量 ( $M_2$ ) を精密に量り、次式により比重 ( $d_4^{20}$ ) を求める。

$$d_4^{20} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

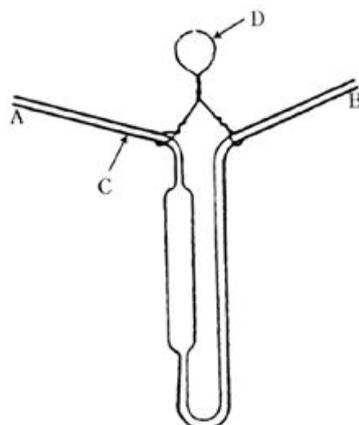
第 2 法 シュプレングル・オストワルドピクノメーターによる測定法

シュプレングル・オストワルドピクノメーター (図) は、通例、容量 1~10 mL で、両端は、肉厚細管となっており、その一方の細管 A には標線 C がある。これにひょう量するとき、化学はかりのかぎに掛けるように白金線 D (又はアルミニウム線などでもよい) を付ける。

あらかじめ清浄にし、乾燥したピクノメーターの質量 ( $M$ ) を精密に量る。次に規定温度より 3~5℃ 低くした試料中に標線のない方の細管 B を浸し、す。他方の細管 A にはゴム管又はすり合わせの

細管を付けて、泡が入らないように注意しながら試料を標線Cの上まで静かに吸い上げる。次に規定温度（ $t'$ ℃）に保った水浴中にピクノメーターを15分間浸した後、細管Bの端にろ紙片を当て、試料の端を標線Cと一致させる。次に水浴から取り出し、外部をよくふいた後、質量（ $\#M_1$ ）を精密に量る。更に同じピクノメーターで蒸留水を用いて同様に操作し、その規定温度（ $t$ ℃）における質量（ $\#M_2$ ）を精密に量り、次式により比重（ $d'_t$ ）を求める。

$$d'_t = \frac{\#M_1 - \#M}{\#M_2 - \#M}$$



### 第3法 浮きばかりによる測定法

規定温度用の浮きばかりで、要求される精度をもつものを用いる。浮きばかりは、エタノール [\(95\)](#) 又はジエチルエーテルで清浄にして用いる。

試料をよく振り混ぜ、泡がなくなってから浮きばかりを浮かべ、規定された温度において浮きばかりが静止したとき、メニスカスの上端で比重を読む。ただし、読み方が規定してある浮きばかりの場合にはその方法に従う。

### 第4法 振動式密度計による測定法

振動式密度比重計による比重の測定は、液体又は気体試料を含むセルの固有振動周期 $T$ （s）を測定することにより、試料の密度を求め、標準物質の質量から比重を求める方法である。密度を測定しようとする液体又は気体を導入された試料セルに振動を与えると、試料セルは試料の質量に依存した固有振動周期をもって振動する。試料セルの振動する部分の体積を一定とすれば、そのときの固有振動周期の二乗と試料の密度との間には直線関係が成立する。

本法によって試料の密度を測定するためには、あらかじめ、規定温度 $t'$ ℃において [二2](#) 種類の標準物質（密度  $\rho_{S1}$ ,  $\rho_{S2}$ ）につき、それぞれの固有振動周期 $T_{S1}$ 及び $T_{S2}$ を測定し、試料セル定数 $K_t$ （ $g \cdot cm^{-3} s^{-2}$ ）を次式より定めておく必要がある。

$$K_t = \frac{\rho_{S1}^{t'} - \rho_{S2}^{t'}}{T_{S1}^2 - T_{S2}^2}$$

通例、標準物質として水及び乾燥空気が用いられる。温度 $t'$ ℃における水の密度 $\rho_{S1}^{t'}$ は別表より求め、乾燥空気の密度 $\rho_{S2}^{t'}$ は次式より計算する。ただし乾燥空気の気圧を $p$ kPaとする。

$$\rho_{S2}^{t'} = 0.0012932 \times \frac{273.15}{273.15 + t'} \times \frac{p}{101.325}$$

次にセル定数が定められた試料セルに試料を導入し、同様にして試料の固有振動周期  $T_T$  を測定すれば、先に求めた標準物質の固有振動周期  $T_{S1}$  及び規定温度  $t'$  °Cにおける水の密度  $\rho_{S1}^{t'}$  を用い、次式より試料の密度  $\rho_T^{t'}$  を求めることができる。

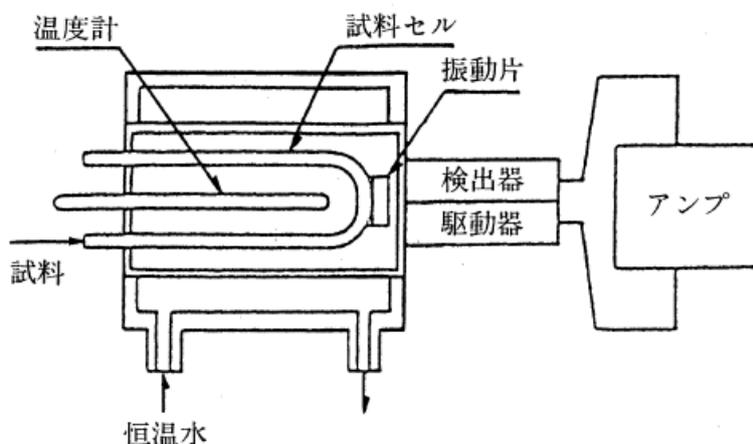
$$\rho_T^{t'} = \rho_{S1}^{t'} + K_{t'} \cdot (T_T^2 - T_{S1}^2)$$

温度  $t$ °Cの水に対する試料の比重  $d_t^{t'}$  は、別表に示した温度  $t$ °Cの水の密度  $\rho_{S1}^t$  を用いて次式より求められる。

$$d_t^{t'} = \frac{\rho_T^{t'}}{\rho_{S1}^t}$$

## 装 置

振動式密度比重計は、通例、内容積約 1 mL の管状でその一端を固定したガラス製の試料セル、試料セルに初期振動を与える発振器、固有振動周期の検出部及び温度調節部から構成される。振動式密度比重計の試料セル室周辺の構造を図に示す。



## 操 作 法

試料セル、水及び試料を測定温度  $t'$  °Cにあらかじめ調整しておく。試料セルを水又は適当な溶媒を用いて洗浄した後、乾燥空気を通気して十分に乾燥する。乾燥空気の流れを止め、一定温度が保持されていることを確認した後、乾燥空気を与える固有振動周期  $T_{S2}$  を測定する。別に、測定場所の大気圧  $p$  kPa を測定しておく。次に試料セルに水を導入し、水を与える固有振動周期  $T_{S1}$  を測定する。水及び乾燥空気についてのこれらの値を用いて試料セル定数  $K_{t'}$  を定める。

次に試料セル中に試料を導入し、一定温度が保持されていることを確認した後、試料の与える固有振動周期  $T_T$  を測定する。水及び試料の固有振動周期、水の密度  $\rho_{S1}^{t'}$  並びに試料セル定数  $K_{t'}$  より、試料の密度  $\rho_T^{t'}$  を求める。また、~~必要があれば~~、温度  $t$  °Cの水に対する試料の比重  $d_t^{t'}$  は、表に示した水の密度  $\rho_{S1}^t$  を用いて計算される。

なお、試料セル中に試料又は水を導入するとき、気泡が入らないよう注意する必要がある。

温度 (°C)	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	温度 (°C)	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	温度(°C)	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	温度(°C)	密度 (g/cm <sup>3</sup> )
0	0.99984	10	0.99970	20	0.99820	30	0.99565
1	0.99990	11	0.99961	21	0.99799	31	0.99534
2	0.99994	12	0.99950	22	0.99777	32	0.99503
3	0.99996	13	0.99938	23	0.99754	33	0.99470
4	0.99997	14	0.99924	24	0.99730	34	0.99437
5	0.99996	15	0.99910	25	0.99704	35	0.99403
6	0.99994	16	0.99894	26	0.99678	36	0.99368
7	0.99990	17	0.99877	27	0.99651	37	0.99333
8	0.99985	18	0.99860	28	0.99623	38	0.99297
9	0.99978	19	0.99841	29	0.99594	39	0.99259

### 3435. 微生物限度試験法

微生物限度試験法は、試料中に存在する増殖能力を有する特定の微生物の定性試験及び定量試験に用いる。本試験法には、生菌数試験(細菌及び真菌)及び、真菌数試験、大腸菌群試験、大腸菌試験及びサルモネラ試験が含まれる。試験を行うに当たっては、外部からの微生物汚染が起これないように、細心の注意を払う必要がある。また、被検試料が抗菌作用を有する示し、試験結果に影響を及ぼすような場合又は抗菌作用を持つ物質が混在する場合は、希釈、ろ過、中和又は不活化などの手段により可能な限りその影響を除去しなければならない。それぞれの原料又は製品の任意に選択した異なる数箇所から採取したものを混和し、て試料として、次に示す試験法により試験を行う。試料を液体培地で希釈する場合は、速やかに試験を行う。また、本試験を行うに当たっては、効果的な精度管理を確保するとともにバイオハザード防止に十分留意する。

#### 1. 生菌数試験

本試験は、好气的条件において増殖し得る中温性の細菌及び真菌を測定する試験である。本試験では、低温菌、高温菌、好塩菌、嫌気性菌、特殊な成分を増殖に要求する菌等は、大量に存在していても陰性となる集落を形成しないことがある。~~本試験法には、メンブランフィルター法、寒天平板混濁法、寒天平板表面塗抹法及び液体培地段階希釈法(最確数法)の4つの方法がある。試験を行うときは、その目的に応じて適当と思われる方法を用いる。~~なお、ここに示した方法と同等以上の検出感度及び精度を有する場合は、自動化した方法等の代替法の適用も可能である。細菌と真菌(かび及び酵母)では使用培地及び培養温度が異なる。液体培地段階希釈法(最確数法)は細菌のみに用い得る試験法である。

#### 試料液の調製

試料の溶解又は希釈には、リン酸緩衝液(pH7.2)、ペプトン食塩緩衝液又は使用する液体培地を用いる。別に規定するもののほか、試料は10g又は10mlを使用する。次の方法による。ただし、試料の性

質によっては、規定された量よりも大量の緩衝液等で分散させたり、これと異なる量のもの試料を使用しなければならない場合がある。 必要に応じてブレンダーなどで均一に分散させることも可能である。 適当な界面活性剤（例えば、0.1w/v%ポリソルベート 80）を加えて乳化させてもよい。 この場合 45℃以下の温度であれば加温して乳化させてもよい。 ただし、30 分間以上試料を加温してはならない。 試料液は、pH 6～8 に調整する。 試料液はし、調製後 1 時間以内に使用しなければならない。

~~液状試料及び可溶性固形試料：10g 又は 10ml を量り、上記の緩衝液又は液体培地と混和して 100ml とし、試料液とする。不溶性物質を含む液状試料の場合、混和直前によく振り、十分に均一化する。~~  
~~不溶性固形試料：10g を量り、不溶性物質をできるだけ細かく摩砕して、上記の緩衝液又は液体培地中に分散させて 100ml とし、試料液とする。ただし、試料の性質によっては、規定された量よりも大量の緩衝液又は液体培地で分散させても差し支えない。~~ 必要に応じてブレンダーなどで浮遊液を均一に分散させることも可能である。 適当な界面活性剤(例えば、0.1w/v%ポリソルベート 80)を加えて乳化させてもよい。

~~脂質製品：脂質が主要な構成物質である半固形試料及び液状試料などは10g又は10mlを量り、ポリソルベート20又はポリソルベート80のような界面活性剤を用いて、上記の緩衝液又は液体培地中に乳化させて100mlとし、試料液とする。この場合45℃以下の温度であれば加温して乳化させてもよい。ただし、30分間以上試料を加温してはならない。~~

第1法 試料 10 g をリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液 90mL と混合し、均一に分散させて試料液とする。

第2法 試料 1.0 g をリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液 100mL と混合し、均一に分散させて試料液とする。

第3法 試料 1.0 g 以上を量り、9 倍量又は 100 倍量のリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液と混合し、均一に分散させて試料液とする。また、これらの試料液で試験法の適合性が得られない場合は、試料 1.0 g をリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液で 200 倍以上に希釈して適当な濃度としたものを試料液とするか、又は、下記の操作法の(2)メンブランフィルター法等を用い、試験法の適合性を考慮して試験する。

## 操作法

別に規定するもののほか、次の(1)の方法を用いる。

なお、試料中の抗菌性物質除去のためろ過が必要な場合は、別に規定するもののほか、下記の(2)に従ってろ過後洗浄したメンブランフィルターを標準寒天培地の表面に置き、(1)の培養条件により試験を行う。

### (1)寒天平板混積法

本試験法では、直径 9～10cm のペトリ皿を、一希釈段階につきそれぞれ 2 枚以上使用する。 1 mL の試料液又は試料液を希釈した液を無菌的にペトリ皿に分注する。 これにあらかじめ 45℃以下に保温した標準寒天培地 15～20mL を加えて混和する。 寒天の固化後、35±1℃で 48±2 時間培養する。 出現集落数を計測し、試料 1 g 当たりの生菌数を算出する。 多数の集落が出現するときは、一平板当たりの出現集落数が 25～250 の平板から得られる計測結果を用いて生菌数を算出する。

### (1)-(2) メンブランフィルター法

本試験法は、試料に抗菌性物質が含まれる場合にこれをろ過することにより除去して試験する方法である。 メンブランフィルターは、孔径 0.45µm 以下の適当な材質のものを使用する。 メンブランフィルターの直径は約 50mm のものが望ましいが、異なる直径のものも使用できる。 メンブランフ

フィルター、フィルター装置、培地などはすべて十分に滅菌されていなければならない。通例、20mLの試料液を量り、2枚のメンブランフィルターでそれぞれ10mLずつろ過する。必要に応じて試料液を希釈してもよい。菌濃度が高い場合は、1枚のメンブランフィルター当たりの出現集落数が10～100個の集落が出現するようになるように希釈することが望ましい。試料液をろ過した後、各メンブランフィルターは、ペプトン食塩緩衝液、リン酸緩衝液又は使用する液体培地、0.1%ペプトン水、ペプトン食塩緩衝液などを洗浄液として用いて、3回以上ろ過洗浄する。1回のろ過洗浄に使用する洗浄液の量は約100mLとするが、メンブランフィルターの直径が約50mmと異なる場合には、大きさに従って洗浄液の量を調整する。脂質を含む試料の場合には、洗浄液にポリソルベート80などを添加してもよい。ろ過後、細菌の試験を行うときはソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地の、真菌の試験を行うときは、通常抗生物質を添加した、サブロー・ブドウ糖寒天培地、ポテト・デキストロース寒天培地又はGP寒天培地のいずれかの表面にフィルターを置く。なお、水分活性の低い食品で発生しやすい好乾菌(乾燥した条件を好むかび)を対象とする場合には、真菌用の培地としてM40Y寒天培地、ジクロラン・グリセリン(DG18)寒天培地等を用いる。細菌の試験は30～35℃で、真菌の試験は20～25℃でそれぞれ少なくとも5日間培養後、集落数を計測する。信頼性の高い集落数の計測値が得られたと判断される場合に限り、培養後5日以前の計測値を用いてもよい。

#### (2) 寒天平板混釈法

本試験法では、直径9～10cmのペトリ皿を使用する。希釈段階につき2枚以上の寒天培地を使用する。1mLの試料液又は試料液を希釈した液を無菌的にペトリ皿に分注する。これにあらかじめ45℃以下に保温されて融けた状態にある滅菌した寒天培地15～20mLを加えて混和する。寒天培地としては、細菌の検出を目的とする場合はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地を、真菌の検出を目的とする場合は、通常抗生物質を添加し、サブロー・ブドウ糖寒天培地、ポテト・デキストロース寒天培地又はGP寒天培地のいずれかを使用する。なお、水分活性の低い食品で発生しやすい好乾菌(乾燥した条件を好むかび)を対象とする場合には、真菌用の培地としてM40Y寒天培地、ジクロラン・グリセリン(DG18)寒天培地等を用いる。寒天の固化後、細菌の試験は30～35℃、真菌の試験は20～25℃でそれぞれ少なくとも5日間培養する。多数の集落が出現するときは、細菌の場合は一平板当たり300個以下の集落を持つ平板から、真菌の場合は一平板当たり100個以下の集落を持つ平板から得られる計測結果を用いて生菌数を算出する。信頼性の高い集落数の計測値が得られたと判断される場合に限り、培養後5日以前の計測値を用いてもよい。

#### (3) 寒天平板表面塗抹法

本試験法は、固化させ表面を乾燥させた寒天培地上に0.05～0.2mLの試料液を載せ、コンラージ棒などで均等に塗抹する方法である。ペトリ皿、使用寒天培地、培養温度、培養時間、生菌数算出法等は、寒天平板混釈法と同様である。

#### (4) 液体培地段階希釈法(最確数法)

本試験法では、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を10mL入れた試験管を10本使用する。試料液(試料10倍希釈液)を更に10倍段階希釈し、試料100倍及び1000倍希釈液を調製する。各希釈段階において、10mLの培地が入った3本の試験管それぞれに1mLの試料希釈液を加える。10mLの培地が入った残りの1本の試験管は、対照として用いる。これらの試験管は30～35℃で5日間以上培養する。対照の試験管で微生物の増殖が観察されてはならない。結果の判定が難しい場合又はあいまいな結果の場合は、寒天培地又は液体培地に約0.1mLを移植し、30～35℃で24～72時間培養

~~し、増殖の有無を判定する。表から1g又は1ml当たりの最確数を求める。~~

## 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験試験法の適合性

### (1) 試験菌液の調製

*Escherichia coli* (NBRC 3972, ATCC 8739, NCIMB 8545), *Bacillus subtilis* (NBRC 3134, ATCC 6633, NCIMB 8054), *Staphylococcus aureus* subsp. aureus (NBRC 13276, ATCC 6538, NCIMB 9518), *Candida albicans* (NBRC 1594, ~~ATCC 2091,~~ ATCC 10231), ~~*Aspergillus niger*~~ *Aspergillus brasiliensis* (NBRC 9455, ATCC 16404) 又はこれらと同等と考えられる菌株を使用する。細菌はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地又は、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地又は標準寒天培地を用い、~~30~~35±1℃で18～24時間、*C. albicans*はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地、サブロー・ブドウ糖ブロス液体培地、又はサブロー・ブドウ糖寒天培地又はジクロラン・グリセリン寒天培地を用い、20～25±1℃で2～3日間、~~*A. niger*~~ *A. brasiliensis*はサブロー・ブドウ糖寒天培地又は、ポテト・デキストロース寒天培地又はジクロラン・グリセリン寒天培地を用い、20～25±1℃で5～7日間、又は良好な孢子形成が認められるまで培養する。

培養液の培養した菌をそれぞれをペプトン食塩緩衝液又はリン酸緩衝液で希釈し、1ml当たり50～200個(~~*A. niger*は10～100個~~)前後の生菌を含む菌液適切な濃度の試験菌液を調製する。~~*A. niger*~~ *A. brasiliensis*の孢子を懸濁する場合には、希釈液に0.05%のポリソルベート80を0.05%加えても良い。調製した菌液は2時間以内又は冷蔵保存した場合には24時間以内に使用する。また、*B. subtilis*や~~*A. niger*~~ *A. brasiliensis*は安定な孢子液を使用しても良い。使用する培地は、菌液を1ml接種し、指定された温度で5日間培養したときに、十分な増殖及び接種菌数の回収が認められなければならない。試料存在下での菌数が試料非存在下での菌数の1/5以下の場合、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によってその影響を除去しなければならない。培地、希釈液の無菌性及び試験が無菌的に遂行されているかを検証するために、使用したペプトン食塩緩衝液又はリン酸緩衝液を対照とする。

### (2) 培地の性能試験

試験に使用する培地は、操作法の項に従い、試料液の代わりに、1ml当たりの出現集落数が100以下となるように調製した試験菌液1mlを加えて混和し、35±1℃、46時間以内で培養するとき、十分な増殖及び接種菌数の回収が認められなければならない。

### (3) 試験法の適合性

試験法の適合性の確認は、以下の方法により行う。また、試験結果に影響を及ぼすような製品の原料、製造工程又は成分組成の変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

一平板当たりの接種菌の出現集落数が100以下となるように、試験菌液を、試料液及び対照にそれぞれ加える。接種する試験菌液の量は試料液量の1%を超えてはならない。対照には、試料液の調製に用いたリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液を用いる。

試験菌株ごとに、操作法の項に従って試験を行い、35±1℃、46時間以内で培養後、菌数を測定する。試料液から回収された菌数と対照から回収された菌数とを比較する。試料存在下での菌数が対照の菌数の1/2～2倍以内に無い場合、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によって可能な限りその影響を除去しなければならない。ただし、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によっても、上記の基準に満たない場合には、微生物の発育とその規格値に見合った最も低い濃度、及び基準に最も近くなる試験条件で試料の試験を行う。

## 2. 真菌(酵母及びカビ)数試験

本試験は、好气的条件において増殖し得る中温性の真菌を測定する試験である。なお、ここに示した方法と同等以上の検出感度及び精度を有する場合は、自動化した方法等の代替法の適用も可能である。

#### 試料液の調製

別に規定するもののほか、1. 生菌数試験の試料液の調製の項に従って調製する。

#### 操作法

本試験法では、直径9～10cmのペトリ皿を、一希釈段階につきそれぞれ2枚以上使用する。1mLの試料液又は試料液を希釈した液を無菌的にペトリ皿に分注する。これにあらかじめ45℃以下に保温したジクロラン・グリセリン寒天培地15～20mLを加えて混和する。寒天の固化後、25±1℃で5～7日間培養する。信頼性の高い集落数の計測値が得られたと判断される場合に限り、5日間培養後の計測値を用いてもよい。出現集落数を計測し、試料1g当たりの真菌数を算出する。多数の集落が出現するときは、一平板当たりの出現集落数が10～150の平板から得られる計測結果を用いて真菌数を算出する。

なお、試料中の抗菌性物質除去のためろ過が必要な場合は、別に規定するもののほか、1. 生菌数試験の操作法(2)に従ってろ過後洗浄したメンブランフィルターをジクロラン・グリセリン寒天培地の表面に置き、本操作法の培養条件により試験を行う。

#### 培地の性能及び試験法の適合性

##### (1) 試験菌液の調製

*Candida albicans* (NBRC 1594, ATCC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (NBRC 9455, ATCC 16404)又はこれらと同等と考えられる菌株を使用する。各試験菌液は、1. 生菌数試験の培地の性能及び試験法の適合性(1)に従って調製する。

##### (2) 培地の性能試験

試験に使用する培地は、操作法の項に従い、試料液の代わりに、1mL当たりの出現集落数が100以下となるように調製した試験菌液1mLを加えて混和し、25±1℃、5日間以内で培養するとき、十分な増殖及び接種菌数の回収が認められなければならない。

##### (3) 試験法の適合性

1. 生菌数試験の培地の性能及び試験法の適合性(3)に準じて行う。ただし、培養は25±1℃、5日間以内で行う。

#### 2.3. 大腸菌群及び大腸菌試験

本試験は、大腸菌群 (Coliforms) 及び大腸菌 (*Escherichia coli*)を測定する試験である。本試験で検出の目的とする大腸菌群及び大腸菌は、最終製品だけではなく、原料、製造工程の中間体等における微生物汚染を評価する場合に重要であり、それらの中に存在することは好ましくない。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「大腸菌群は認めない。」とあるのは、大腸菌群の確認試験を行うとき、大腸菌群が陰性であることを示し、「大腸菌は認めない。」とあるのは、大腸菌の確認試験を行うとき、大腸菌が陰性であることを示す。

#### 試料液の調製

別に規定するもののほか、~~生菌数試験の試料液の調製の項を適用する。試料の溶解又は希釈に液体培地を使用する場合は、別に規定するもののほか、乳糖ブイヨン培地又はBGLB培地を使用する。~~

#### 前培養液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。ただし、試料の性質によっては、規定された量よりも大量の液体培地で分散させても差し支えない。必要に応じてブレンダーなどで均一に分散させること

も可能である。試料と混合した培地の pH は 6 ～ 8 に調整し、混合後 1 時間以内に培養しなければならない。

なお、試料中の抗菌性物質除去のためろ過が必要な場合は、別に規定するもののほか、1. 生菌数試験の操作法(2)に従ってろ過後洗浄したメンブランフィルターをラウリル硫酸ブイオン培地に入れ、pH を 6 ～ 8 に調整し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とする。

第 1 法 1. 生菌数試験の試料液の調製の第 1 法に従って調製した試料液 10mL をラウリル硫酸ブイオン培地 90mL と混合し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とする。

第 2 法 試料 1.0 g をラウリル硫酸ブイオン培地 100mL と混合して均一に分散させ、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とする。

第 3 法 1. 生菌数試験の試料液の調製の第 1 法に従って調製した試料液 10mL をラウリル硫酸ブイオン培地 90mL と混合し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とする。なお、試料の量に限りがある（すなわち、1000 g 未満の）場合は、試料の量の 1 %（ただし、1.0 g 以上）を量り、9 倍量のリン酸緩衝液、0.1% ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液と混合して均一に分散させて試料液とする。この液 10mL をラウリル硫酸ブイオン培地 90mL と混合して均一に分散させ、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とする。また、これらの前培養液で試験法の適合性が得られない場合は、試料 0.20 g をラウリル硫酸ブイオン培地 100mL と混合して均一に分散させ、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養したものを前培養液とし、この操作を 5 回行って得られた前培養液それぞれにつき試験を行うか、又はメンブランフィルター法等を用い、試験法の適合性を考慮して試験する。

### 試験の手順操作法

#### (1) 大腸菌群の確認試験

前培養液を軽く振った後、1 白金耳量をとって BGLB 培地に接種し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で  $48 \pm 2$  時間培養する。培養後、ガス発生の有無を確認する。ガスの発生を認めない場合は大腸菌群陰性と判定する。ガスの発生を認めた場合は標準寒天平板培地に塗抹し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で 18～24 時間培養した後、発育した集落についてグラム染色性を確認し、グラム陰性無芽胞桿菌である場合は大腸菌群陽性と判定する。

#### (2) 大腸菌の確認試験

試料液 10mL（試料 1g 又は 1mL 相当量）を量り、乳糖ブイオン培地又は BGLB 培地を加えて 100mL とし、 $30 \sim 35^\circ\text{C}$  で 24～72 時間培養する。増殖が観察された場合は、培養液を軽く振った後、白金耳等でとり、マッコニキ寒天培地上に塗抹し、 $30 \sim 35^\circ\text{C}$  で 18～24 時間培養する。周囲に赤味があった沈降線の帯を持つ赤レンガ色のグラム陰性菌の集落が検出されない場合は、大腸菌陰性と判定する。上記の特徴を持つ集落が検出された場合は、EMB 寒天培地上にそれぞれの集落を塗抹し、 $30 \sim 35^\circ\text{C}$  で 18～24 時間培養する。EMB 寒天培地上で金属光沢を持つ集落又は透過光下で青黒色を帯びた集落が観察されない場合は大腸菌陰性と判定する。上記の平板で大腸菌が疑われる集落については、IMViC 試験（インドール産生試験、メチルレッド反応試験、フォーガス・プロスカウエル試験及びクエン酸利用試験）及び  $44.5^\circ\text{C}$  での生育試験を行い、IMViC 試験のパターンが「++--」で  $44.5^\circ\text{C}$  での生育が陽性の場合を大腸菌と判定する。また、大腸菌迅速同定用キットの使用も可能である。前培養液を軽く振った後、1 白金耳量をとって EC 培地に接種し、 $45.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$  で  $24 \pm 2$  時間培養する。培養後、ガス又は濁りの発生の有無を確認し、ガス及び濁りの発生を認めない場合はさらに  $48 \pm 2$  時間まで培養を継続して再度判定する。再判定の結果、ガス及び濁りの発生を認めない場合は大腸菌陰性とする。ガス又は濁りの発生を認めた場合は、その試験管から 1 白金耳量を EMB 寒天培地上に塗抹し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$  で 18～24 時間培養する。EMB 寒天培地上で中心部が暗色（金属光沢

の有無は問わない)の集落が観察されない場合は大腸菌陰性と判定する。EMB寒天培地上で大腸菌が疑われる集落については、2個以上をそれぞれ標準寒天斜面培地に移植し、35±1℃で18～24時間培養した後、グラム染色性を確認する。また、ラウリル硫酸ブイオン培地に接種し、35±1℃で48±2時間培養した後、ガス発生の有無を確認する。グラム陽性の場合又はガスの発生を認めない場合は大腸菌陰性とする。ガスの発生を認めたグラム陰性菌についてIMViC試験(インドール産生試験、メチルレッド反応試験、フォーゲス・プロスカウエル試験及びクエン酸利用試験)を行い、IMViC試験のパターンが「++--」の場合を大腸菌と判定する。また、IMViC試験の代わりに、大腸菌迅速同定用キットを用いてもよい。

#### 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験

試験には、~~*Escherichia coli*(NBRC 3972, ATCC 8739, NCIMB 8545)又はこれらと同等の菌株を、乳糖ブイオン培地、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地を用い、30～35℃で18～24時間培養して使用する。次に、ペプトン食塩緩衝液、リン酸緩衝液、乳糖ブイオン培地等を用いて、1ml当たり約1,000個の生菌を含む菌液を調製する。必要に応じて、約1,000個/mlの生菌を含む大腸菌の菌液0.1mlを混和して、試料の存在下及び非存在下において、培地の有効性、抗菌性物質の存在等を試験する。~~

#### 再試験

不確定な結果やあいまいな結果が得られた場合は、初回の2.5倍量の試料を用いて再試験を行う。方法は最初の試験法と同じであるが、~~試料の増加に比例して、培地などの量を増加させて行う。~~

#### 培地の性能及び試験法の適合性

##### (1) 試験菌液の調製

*Escherichia coli* (NBRC 3972, ATCC 8739, NCIMB 8545) 又はこれらと同等と考えられる菌株を使用する。試験菌液は、1. 生菌数試験の培地の性能及び試験法の適合性(1)に従い、1mL当たりの出現集落数が1000以下となるように調製する。

##### (2) 培地の性能試験

試験に使用する培地は、上記の操作法に従い、試料液又は試料の代わりに、試験菌液0.1mLを加え、規定された最短培養期間で培養するとき、十分な増殖及び接種菌の回収が認められなければならない。このとき、BGLB培地及びラウリル硫酸ブイオン培地では、ガスの発生が認められなければならない。

##### (3) 試験法の適合性

試験法の適合性の確認は、以下の方法により行う。また、試験結果に影響を及ぼすような製品の原料、製造工程又は成分組成の変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

試料液又は試料を混合したラウリル硫酸ブイオン培地、及び対照に、試験菌液0.1mLをそれぞれ接種し、上記の前培養液の調製に準じて前培養を行う。接種する試験菌液の量は試料液量の1%を超えてはならない。対照には、ラウリル硫酸ブイオン培地に試料液の調製に用いたリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液を混合したもの、又はラウリル硫酸ブイオン培地を用いる。

操作法の項に従って、規定された最短培養期間で試験する。試料の存在下において、対照と同様な試験菌の十分な発育が認められない場合、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によって可能な限りその影響を除去しなければならない。ただし、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によっても、上記の基準に満たない場合には、微生物の発育とその規格値に見合った最も低い濃度、及び基準に最も近くなる試験条件で試料の試験を行う。

#### 4. サルモネラ試験

本試験は、サルモネラ (*Salmonella*) を測定する試験である。本試験で検出の目的とするサルモネラは、最終製品だけではなく、原料、製造工程の中間体等における微生物汚染を評価する場合に重要であり、それらの中に存在することは好ましくない。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「サルモネラは認めない。」とあるのは、サルモネラが陰性であることを示す。

#### 前培養液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。ただし、試料の性質によっては、規定された量よりも大量の液体培地で分散させても差し支えない。必要に応じてブレンダーなどで均一に分散させることも可能である。試料と混合した培地の pH は 6～8 に調整し、混合後 1 時間以内に培養しなければならない。

なお、試料中の抗菌性物質除去のためろ過が必要な場合は、別に規定するもののほか、1. 生菌数試験の操作法(2)に従ってろ過後洗浄したメンブランフィルターを乳糖ブイオン培地に入れ、pH を 6～8 に調整し、35±1℃で 24±2 時間培養したものを前培養液とする。

第 1 法 試料 25 g を乳糖ブイオン培地 225mL と混合して均一に分散させ、35±1℃で 24±2 時間培養したものを前培養液とする。

第 2 法 試料 25 g を乳糖ブイオン培地 225mL と混合して均一に分散させ、35±1℃で 24±2 時間培養したものを前培養液とする。なお、試料の量に限りがある（すなわち、2500 g 未満の）場合は、試料の量の 1%（ただし、1.0 g 以上）を量り、9 倍量の乳糖ブイオン培地（ただし、100mL 以上）と混合して均一に分散させ、35±1℃で 24±2 時間培養したものを前培養液とする。また、これらの前培養液で試験法の適合性が得られない場合は、試料 0.20 g を乳糖ブイオン培地 100mL と混合して均一に分散させ、35±1℃で 24±2 時間培養したものを前培養液とし、この操作を 5 回行って得られた前培養液それぞれにつき試験を行うか、又は、メンブランフィルター法等を用い、試験法の適合性を考慮して試験する。

#### 操作法

##### (1) サルモネラ集落の確認

前培養液を軽く振った後、0.1mL をラパポート・バシリアジス液体培地 10mL に接種し、42±0.2℃で 24±2 時間培養する。また、前培養液 1 mL をテトラチオネート液体培地 10mL に接種し、43±0.2℃（試料の菌量が多い場合）又は 35±2℃（試料の菌量が少ない場合）でそれぞれ 24±2 時間培養する。培養後、それぞれの液体培地から亜硫酸ビスマス寒天培地、XLD 寒天培地及びヘクトエン・エンテリック寒天培地上に塗抹し、35±2℃で 24±2 時間培養する。それぞれの寒天培地上の定型的集落（下表参照）又はサルモネラが疑われる集落の有無を確認する。定型的集落又はサルモネラが疑われる集落が認められない場合は、非定型的集落（下表参照）の有無を確認する。亜硫酸ビスマス寒天培地で 24±2 時間培養しても定型的集落又はサルモネラが疑われる集落が認められない場合は、さらに 24±2 時間追加培養する。いずれの培地上においても集落が認められない場合はサルモネラ陰性と判定する。

定型的又は非定型的なサルモネラ集落の形態学的特徴

選択培地	定型的集落の特徴	非定型的集落の特徴
亜硫酸ビスマス寒天培地	褐色，灰色，又は黒色を呈し，金属光沢が見られる場合がある。周辺の培地は，初めは通常褐色であるが，培養が進むと黒色になり，いわゆるハローを形成することがある。菌株によっては緑色を呈するが，周辺の培地が暗色になることはないか，又はほとんどない。	
XLD寒天培地	桃色を呈し，中央部が黒色又は黒色でない場合がある。多くは中央に大きな光沢のある黒色部分を有するか，又は黒色に見えることがある。	黄色を呈し，中央部が黒色又は黒色でない場合がある。
ヘクトエン・エンテリック寒天培地	青緑～青色を呈し，中央部は黒色又は黒色でない場合がある。多くは中央に大きな光沢のある黒色部分を有するか，又は黒色に見えることがある。	黄色を呈し，中央部が黒色又は黒色でない場合がある。

## (2) 寒天半斜面培地による確認

定型的集落又はサルモネラが疑われる集落を2個以上釣菌し，それぞれTSI寒天培地及びLIA培地の高層部と斜面に接種し， $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で $24 \pm 2$ 時間培養する。また，亜硫酸ビスマス寒天培地で合計 $48 \pm 2$ 時間培養，あるいは，XLD寒天培地又はHE寒天培地で $24 \pm 2$ 時間培養しても，定型的集落又はサルモネラが疑われる集落が認められない場合は，2個以上の非定型集落を釣菌し，それぞれTSI寒天培地及びLIA培地の高層部と斜面に接種し， $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で $24 \pm 2$ 時間培養する。TSI寒天培地では，サルモネラが存在する場合，高層部は酸性（黄色）反応，斜面部はアルカリ（赤色）反応が認められ，硫化水素は産生される場合とされない場合がある。LIA培地では，サルモネラが存在する場合，試験管の高層部でアルカリ（紫色）反応が認められる。試験管の高層部が明らかに黄色になった場合に限り酸性（陰性）反応とみなす。ほとんどのサルモネラはLIA培地で硫化水素を産生する。

サルモネラの可能性がある結果が得られた場合は，キット使用を含む，更に詳細な生化学的試験と血清学的試験を併用することで，サルモネラの同定，型別試験を行うことが望ましい。

### 培地の性能及び試験法の適合性

#### (1) 試験菌液の調製

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ATCC 14028) 又は*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony (NBRC 100797, NCTC 6017) 又はこれらと同等と考えられる菌株を使用する。試験菌液は，1. 生菌数試験，培地の性能及び試験法の適合性の(1)に従い，1 mL当たりの出現集落数が1000以下となるように調製する。

#### (2) 培地の性能試験

試験に使用する各培地は，操作法の項に従い，試料の代わりに，試験菌液0.1 mLを加え，規定された最短培養期間で培養するとき，十分な増殖及び接種菌の回収が認められなければならない。

#### (3) 試験法の適合性

試験法の適合性の確認は、以下の方法により行う。また、試験結果に影響を及ぼすような製品の原料、製造工程又は成分組成の変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

試料を混合した乳糖ブイオン培地、及び対照に、試験菌液 0.1mL をそれぞれ接種する。接種する試験菌液の量は培地量の 1% を超えてはならない。対照には、乳糖ブイオン培地を用いる。

操作法の項に準じて試験を行い、規定された最短培養期間で試験する。試料の存在下において、対照と同様な試験菌の十分な発育が認められない場合、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によって可能な限りその影響を除去しなければならない。ただし、希釈、ろ過、中和、不活化等の手段によっても、上記の基準に満たない場合には、微生物の発育とその規格値に見合った最も低い濃度、及び基準に最も近くなる試験条件で試料の試験を行う。

### 3.5. 緩衝液と培地

微生物限度試験用の緩衝液及び培地は次のものを用いる。他の培地でも、類似の栄養成分を含み、試験対象となる微生物に対して類似の選択性及び増殖性を持つものは使用して差し支えない。培地に配合する試薬・試液は、微生物試験に適したものを用いる。また、以下の調製法において高圧蒸気滅菌を行う場合は、あらかじめ、混和した成分を、必要に応じて加熱又は煮沸し、均一に分散又は溶解しておく。

#### (1) 緩衝液

##### (i) リン酸緩衝液 (pH7.2)

~~保存溶液：リン酸—カリウム~~ リン酸二水素カリウム 34 g を水約 500mL に溶かす。水酸化ナトリウム試液 (1 mol/L) 約 175mL を加え、pH7.1~7.3 に調整し、水を加えて 1,000mL とし、~~保存溶液とする。~~ 121°C で 15~20 分間 高圧蒸気滅菌後、冷所で保存する。用時、~~保存溶液~~ この液を水で 800 倍に希釈し、121°C で 15~20 分間滅菌して用いる。

##### (ii) ペプトン食塩緩衝液 (pH7.0)

ペプトン 1.0 g  
~~リン酸—カリウム~~ リン酸二水素カリウム ~~3.56~~ 3.6 g  
~~リン酸三ナトリウム~~ 18.23 g  
リン酸水素二ナトリウム二水和物 7.2 g  
塩化ナトリウム \_\_\_\_\_ 4.30 g  
~~ペプトン~~ 1.0 g  
水 \_\_\_\_\_ 1,000mL

全成分を混和し、121°C で 15~20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性 pH は pH6.9~7.1 とする。~~0.1~1.0w/v% のポリソルベート 20 又はポリソルベート 80 を添加しても差し支えない。~~

##### (iii) 0.1% ペプトン水

ペプトン 1.0 g  
水 1000mL

全成分を混和し、121°C で 15~20 分間高圧蒸気滅菌する。

#### (2) 培地

##### (i) 標準寒天培地

トリプトン 5.0 g

<u>酵母エキス</u>	<u>2.5 g</u>
<u>D (+) -グルコース</u>	<u>1.0 g</u>
<u>寒天</u>	<u>15.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和し、121℃で15～20分間高压蒸気滅菌する。滅菌後のpHは6.8～7.2とする。

~~(i) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地~~

<del>カゼイン製ペプトン</del>	<del>15.0 g</del>
<del>ダイズ製ペプトン</del>	<del>5.0 g</del>
<del>塩化ナトリウム</del>	<del>5.0 g</del>
<del>水</del>	<del>1,000ml</del>

~~全成分を混和し、121℃で15～20分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH7.1～7.5。~~

(ii) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

<del>カゼイン製ペプトン</del> <u>ペプトン (カゼイン製)</u>	<u>17.0 g</u>
<del>ダイズ製ペプトン</del> <u>ペプトン (ダイズ製)</u>	<u>3.0 g</u>
<u>D (+) -グルコース</u>	<u>2.5 g</u>
<u>リン酸水素二カリウム</u>	<u>2.5 g</u>
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>5.0 g</u>
<del>リン酸二カリウム</del>	<del>2.5 g</del>
<del>ブドウ糖</del>	<del>2.5 g</del>
<u>水</u>	<u>1,000mL</u>

全成分を混和し、121℃で15～20分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性pHはpH7.1～7.5とする。

(iii) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地

<u>ペプトン (カゼイン製)</u>	<u>15.0 g</u>
<u>ペプトン (ダイズ製)</u>	<u>5.0 g</u>
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>5.0 g</u>
<u>寒天</u>	<u>15.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和し、1分間煮沸する。121℃で15～20分間高压蒸気滅菌する。滅菌後のpHは7.1～7.5とする。

~~(iii) 抗生物質添加サブロー・ブドウ糖寒天培地~~

<del>ペプトン(肉製品及びカゼイン製)</del>	<del>10.0g</del>
<del>ブドウ糖</del>	<del>40.0g</del>
<del>寒天</del>	<del>15.0g</del>
<del>水</del>	<del>1,000ml</del>

~~全成分を混和し、121℃で15～20分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH5.4～5.8。使用直前に培地1L当たりベンジルペニシリンカリウム0.10gとテトラサイクリン0.10gを滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地1L当たりクロラムフェニコール0.050gを加えても差し支えない。~~

(iv) サブロー・ブドウ糖~~ブロス~~液体培地

ペプトン 10.0 g

D (+) -グルコース 20.0 g

~~ペプトン(肉製品及びカゼイン製) 10.0g~~

~~ブドウ糖 20.0g~~

水 1,000mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性pHはpH5.4～5.8とする。

~~(v) 抗生物質添加ポテト・デキストロース寒天培地~~

~~ポテトエキス 4.0g~~

~~ブドウ糖 20.0g~~

~~寒天 15.0g~~

~~水 1,000mL~~

~~全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH5.4～5.8。使用直前に培地1L当たりベンジルペニシリンカリウム0.10g及びテトラサイクリン0.10gを滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地1L当たりクロラムフェニコール0.050gを加えても差し支えない。~~

~~(vi) 抗生物質添加GP(グルコース・ペプトン)寒天培地~~

~~ブドウ糖 20.0g~~

~~酵母エキス 2.0g~~

~~硫酸マグネシウム 0.5g~~

~~ペプトン 5.0g~~

~~リン酸カリウム 1.0g~~

~~寒天 15.0g~~

~~水 1,000mL~~

~~全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH5.6～5.8。使用直前に培地1L当たりベンジルペニシリンカリウム0.10g及びテトラサイクリン0.10gを滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地1L当たりクロラムフェニコール0.050gを加えても差し支えない。~~

~~(vii) M40Y寒天培地~~

~~麦芽エキス 20.0g~~

~~酵母エキス 2.5g~~

~~白糖 400.0g~~

~~寒天 20.0g~~

~~水 1,000mL~~

~~全成分を混和し、加温溶解後121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。~~

(v) サブロー・ブドウ糖寒天培地

ペプトン 10.0 g

D (+) -グルコース 40.0 g

寒天 15.0 g

水 1000mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは5.4～5.8とする。

(vi) ジクロラン・グリセリン (DG18) 寒天培地

ペプトン \_\_\_\_\_ 5.0 g  
~~ブドウ糖~~ D (+) - グルコース 10.0 g  
~~リン酸一カリウム~~ リン酸二水素カリウム 1.0 g  
硫酸マグネシウム 七水和物 \_\_\_\_\_ 0.5 g  
ジクロラン \_\_\_\_\_ 2.0mg  
~~グリセリン~~ \_\_\_\_\_ ~~220.0 g~~  
~~寒天~~ \_\_\_\_\_ ~~15.0 g~~  
クロラムフェニコール 0.10 g  
寒天 \_\_\_\_\_ 15.0 g  
水 \_\_\_\_\_ 1,000 mL

~~グリセリン及びクロラムフェニコール以外の全成分を混和し、加温溶解後、~~ グリセリン 220 g 及び6 mL のエタノールで溶解したクロラムフェニコールを添加し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の 液性 pH は pH5.4～5.8 とする。

~~(ix) 乳糖ブイヨン培地~~

~~肉エキス 3.0g  
ゼラチン製ペプトン 5.0g  
乳糖 5.0g  
水 1,000mL~~

~~全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性は pH<sub>6.7</sub>～7.1。滅菌後はできるだけ速やかに冷却する。~~

(vii) ポテト・デキストロース寒天培地

ジャガイモ浸出液 200mL  
D (+) - グルコース 20.0 g  
寒天 20.0 g  
水 1000mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは5.4～5.8とする。

(viii) ラウリル硫酸ブイヨン培地

トリプトース又はトリプチケース 20.0 g  
ラクトース 5.0 g  
リン酸水素二カリウム 2.75 g  
リン酸二水素カリウム 2.75 g  
塩化ナトリウム 5.0 g  
ラウリル硫酸ナトリウム 0.1 g  
水 1000mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。ガス発生の確認に用いる場合は発酵管を入れて滅菌する。滅菌後のpHは6.6～7.0とする。

(ix) BGLB (ブリリアントグリーン・ラクトース・バイル) 培地

ペプトン \_\_\_\_\_ 10.0 g

乳糖 ラクトース \_\_\_\_\_ 10.0 g  
乾燥 ウシ胆汁末 \_\_\_\_\_ 20.0 g  
ブリリアントグリーン ~~0.0133g~~ 13.3mg  
水 \_\_\_\_\_ ~~1,000mL~~ mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性pHはpH7.0～7.4とする。

~~(xi) マッコンキー寒天培地~~

~~ゼラチン製ペプトン 17.0g  
カゼイン製ペプトン 1.5g  
肉製ペプトン 1.5g  
乳糖 10.0g  
デソキシコール酸ナトリウム 1.5g  
塩化ナトリウム 5.0g  
寒天 13.5g  
ニュートラルレッド 0.03g  
クリスタルバイオレット 1.0mg  
水 1,000mL~~

~~全成分を混和し、1分間煮沸し、混和した後、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH<sub>6.9</sub>～7.3。~~

(x) EC培地

トリプトース又はトリプチケース 20.0 g  
ラクトース 5.0 g  
胆汁酸塩 1.5 g  
リン酸水素二カリウム 4.0 g  
リン酸二水素カリウム 1.5 g  
塩化ナトリウム 5.0 g  
水 1000 mL

全成分を混和し、発酵管を入れて121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは6.7～7.1とする。

(xi±) EMB (エオシン・メチレンブルー) 寒天培地

~~ゼラチン製ペプトン \_\_\_\_\_ 10.0 g~~  
ラクトース 10.0 g  
~~リン酸二カリウム~~ リン酸水素二カリウム 2.0 g  
~~乳糖 10.0g~~  
~~寒天 15.0g~~  
エオシン Y 0.40 g  
メチレンブルー ~~0.065g~~ 65mg  
寒天 15.0 g  
水 \_\_\_\_\_ ~~1,000mL~~ mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。50℃に冷却後、十分に混和してペト

リ皿に分注し、平板を作製する。滅菌後の液性 pH は pH6.9～7.3 とする。

(xii) 乳糖ブイヨン培地

<u>ペプトン</u>	<u>5.0 g</u>
<u>肉エキス</u>	<u>3.0 g</u>
<u>ラクトース</u>	<u>5.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH は 6.7～7.1 とする。

(xiii) ラパポート・バシリアジス液体培地

<u>トリプトン</u>	<u>5.0 g</u>
<u>リン酸二水素カリウム</u>	<u>1.6 g</u>
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>8.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和した液に、更に、塩化マグネシウム六水和物 400 g と水 1000mL を混合した溶液及びマラカイトグリーンシュウ酸塩 40mg と水 100mL を混合した溶液をそれぞれ 100mL 及び 10mL 加えて混和し、115℃で15分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH は 5.3～5.7 とする。

(xiv) テトラチオネート液体培地

<u>ポリペプトン</u>	<u>5.0 g</u>
<u>胆汁酸塩</u>	<u>1.0 g</u>
<u>炭酸カルシウム</u>	<u>10.0 g</u>
<u>チオ硫酸ナトリウム五水和物</u>	<u>30.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和し、沸騰するまで加熱して均一な懸濁液とした後、45℃以下に冷却する。高圧蒸気滅菌をしてはならない。懸濁液の pH は 8.2～8.6 とする。

使用当日に、水 20mL にヨウ化カリウム 5 g 及びヨウ素 6 g を溶かした液を加える。さらにブリリアントグリーン 0.1 g と水 100mL を混合して滅菌した溶液 10mL を加え、混和する。その後は培地に熱を加えてはならない。

(xv) 亜硫酸ビスマス (BS) 寒天培地

<u>ポリペプトン (又はペプトン)</u>	<u>10.0 g</u>
<u>肉エキス</u>	<u>5.0 g</u>
<u>D (+) - グルコース</u>	<u>5.0 g</u>
<u>リン酸水素二ナトリウム</u>	<u>4.0 g</u>
<u>硫酸鉄 (II)</u>	<u>0.3 g</u>
<u>亜硫酸ビスマス・インジケーター</u>	<u>8.0 g</u>
<u>ブリリアントグリーン</u>	<u>25mg</u>
<u>寒天</u>	<u>20.0 g</u>
<u>水</u>	<u>1000mL</u>

全成分を混和し、煮沸して均一な懸濁液とした後、50℃に冷却する。高圧蒸気滅菌をしてはならない。この液の pH は 7.5～7.9 とする。冷却後、十分に混和してペトリ皿に分注し、平板を作製する。

(xvi) XLD (キシロース・リシン・デオキシコール酸) 寒天培地

酵母エキス	3.0 g
L-リシン	5.0 g
D-キシロース	3.75 g
スクロース	7.5 g
ラクトース	7.5 g
デオキシコール酸ナトリウム	2.5 g
クエン酸鉄 (III) アンモニウム	0.8 g
チオ硫酸ナトリウム	6.8 g
塩化ナトリウム	5.0 g
フェノールレッド	80mg
寒天	15.0 g
水	1000mL

全成分を混和し、沸騰するまで加熱して溶かす。高圧蒸気滅菌をしてはならない。過剰な加熱は避ける。溶解後の pH は 7.2~7.6 とする。50℃に冷却した後、十分に混和してペトリ皿に分注し、平板を作製する。

(xvii) ヘクトエン・エンテリック (HE) 寒天培地

ペプトン	12.0 g
酵母エキス	3.0 g
スクロース	12.0 g
ラクトース	12.0 g
胆汁酸塩	9.0 g
クエン酸鉄 (III) アンモニウム	1.5 g
チオ硫酸ナトリウム	5.0 g
酸性フクシン	0.1 g
サリシン	2.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
ブロモチモールブルー	64mg
寒天	13.5 g
水	1000mL

全成分を混和し、沸騰するまで加熱して溶かす(1分以上煮沸しない)。過剰な加熱は避ける。溶解後の pH は 7.4~7.8 とする。50℃に冷却した後、十分に混和してペトリ皿に分注し、平板を作製する。

(xviii) TSI (トリプル・シュガー・アイアン) 寒天培地

ポリペプトン	20.0 g
D (+) -グルコース	1.0 g
スクロース	10.0 g
ラクトース	10.0 g
硫酸アンモニウム鉄(II)六水和物	0.2 g
チオ硫酸ナトリウム	0.2 g
塩化ナトリウム	5.0 g

フェノールレッド	25mg
寒天	13.0 g
水	1000mL

全成分を混和し、試験管に分注して118℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは7.1～7.5とする。半斜面培地として使用する。なお、上記の組み合わせに加えて、肉エキス及び酵母エキス各3.0gを含むものを使用しても差し支えない。ただし、この場合の高圧蒸気滅菌温度は121℃とする。

(xiv) L I A (リシン鉄寒天) 培地

ペプトン	5.0 g
酵母エキス	3.0 g
D (+) -グルコース	1.0 g
L-リシン塩酸塩	10.0 g
クエン酸鉄 (III) アンモニウム	0.5 g
チオ硫酸ナトリウム	40mg
プロモクレゾールパープル	20mg
寒天	12.5 g
水	1000mL

全成分を混和し、試験管に分注して121℃で12～15分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは6.5～6.9とする。半斜面培地として使用する。

~~35. 比旋光度測定法~~ 22. 旋光度測定法 → 名称変更のため 22. へ移動

36. ヒ素試験法

ヒ素試験法は、試料中に混在するヒ素の許容される限量を試験する方法である。~~その量は、三酸化ヒ素 (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) の量として表す。~~

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として ~~4.0~~ 3 μg/g 以下 (0.500.25 g, 第1法, 標準色 ヒ素標準液 3.0mL, 装置 B A)」とあるのは、本品 ~~0.250.50~~ g を量り、試料とし、第1法により検液を調製し、標準色の調製にヒ素標準液 3.0mL を用い、装置 B A を用いる方法により試験を行うとき、ヒ素が、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として 3 4.0 μg/g 以下であることを示す。

装置 A

~~概略は、図 1 による。~~

~~画像 56 (23KB)~~

~~図 1~~

~~A: 発生瓶 (容量約 60ml で、40ml の標線があるもの)~~

~~B: 内径約 6.5mm のガラス管~~

~~C 及び D: 接続部が内径 6.5mm, 外径約 18mm で、すり合わせとなっているガラス管で、接続部の内縁と外縁が同心円をなしているもの~~

~~E: ゴム栓~~

~~F: ガラス管 B に付けたへこみで、ガラス繊維を支える。~~

~~G: ゴム管~~



## 装置C

概略は、図 3.2 による。

A：定量ポンプ

B<sub>1</sub>，B<sub>2</sub>：ミクシングジョイント

C：反応管

D：圧力計

E：流量計

F：気液セパレータ

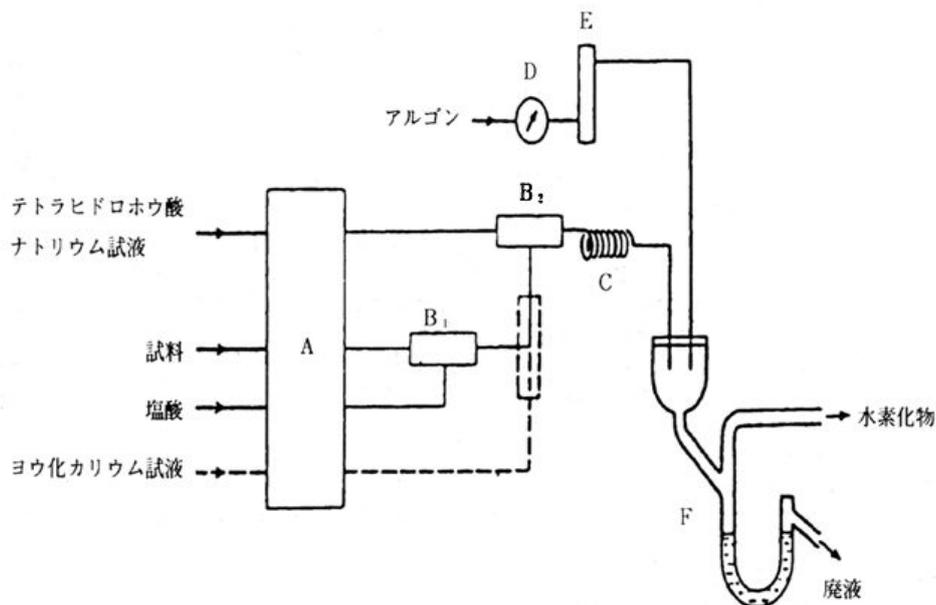


図 3.2

## 操作法

### (1) 検液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

第1法 別に規定する量の試料を量り、水 5 mL を加え、必要があれば加温して溶かし、検液とする。

第2法 別に規定する量の試料を量り、水 5 mL 及び硫酸 1 mL を加える。ただし、無機酸の場合には硫酸を加えない。これに亜硫酸水 10 mL を加え、小ビーカーに入れ、水浴上で加熱して亜硫酸がなくなり約 2 mL となるまで蒸発し、水を加えて 5 mL とし、検液とする。

第3法 別に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→50) 10 mL を加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱して炭化し、電気炉に入れて 450～550℃ で灰化する。なお炭化物が残るときは、少量の硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→50) で潤し、再び強熱して 450～550℃ で灰化する同様の操作を繰り返し、灰化する。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加え、水浴上で加熱して溶かし、検液とする。

第4法 別に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→10) 10 mL を加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱した後、炭化し、電気炉に入れて 450～550℃ で灰化する。なお炭化物が残るときは、

少量の硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→50) で潤し、再び強熱して、~~450~~  
~~～550℃で灰化する~~同様の操作を繰り返し、灰化する。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加え、水浴上  
で加温加熱して溶かし、検液とする。

第5法 別に規定する量の試料を量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硝酸マグネシウム  
六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→10) 10mL を加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々  
に加熱して炭化し、電気炉に入れて 450～550℃で灰化する。なお炭化物が残るときは、少量の硝酸マ  
グネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→10) で潤し、同様の操作を繰り返し、灰化する。  
なお炭化物が残るときは、同様の操作を繰り返す。冷後、残留物に塩酸 3 mL を加え、水浴上で加熱し  
て溶かし、検液とする。なお、残留物が塩酸に溶けない場合は、水 10mL を加えて懸濁し、冷後、定量  
分析用ろ紙 (5種C) を用いてろ過する。容器内の残留物は温湯 3 mL ずつを用いて 2 回洗い、先のろ  
紙を用いてろ過した後、ろ紙及びろ紙上の残留物を水 5 mL で洗い、検液とする。

## (2) 試験

別に規定するもののほか、次の方法による。

(i) ~~装置 A を用いる方法~~ 検液を発生瓶に入れ、~~プロモフェノールブルー~~試液 1 滴を加え、アンモ  
ニア水、アンモニア試液又は塩酸 (1→4) で中和し、~~塩酸 (1→2) 5mL~~ 及びヨウ化カリウム試液 5mL  
を加え、2～3 分間放置した後、~~酸性塩化第一スズ (II) 試液 5mL~~ を加えて 10 分間放置する。次に水  
を加えて 40mL とし、無ヒ素亜鉛 2g を加え、直ちにガラス管 B、C 及び D を付けたゴム栓 E を施し、25℃  
の水中に発生瓶の肩まで浸し、1 時間放置した後、直ちに臭化第二水銀紙の色を観察するとき、この  
色は、次の標準色より濃くない。

~~標準色の調製は、検液の試験と同時に~~行い、~~ヒ素標準液 1.0mL~~ を量り、発生瓶に入れ、~~塩酸 (1→2)~~  
~~5mL~~ 及びヨウ化カリウム試液 5mL を加え、以下検液の場合と同様に操作して得た臭化第二水銀紙の呈  
色を標準色とする。

~~(ii)~~ 装置 B を用いる方法 検液を発生瓶に入れ、~~プロモフェノールブルー~~試液 1 滴を加え、アン  
モニア水、アンモニア試液又は塩酸 (1→4) で中和し、~~塩酸 (1→2) 5 mL~~ 及びヨウ化カリウム  
試液 5 mL を加え、2～3 分間放置した後、~~装置 A を用いる方法と同様に~~操作し、~~酸性塩化第一スズ~~  
~~試液~~塩化スズ (II) 試液 (酸性) 5 mL を加えて室温で 10 分間放置したのち後、次に水を加えて  
40mL とし、~~無ヒ素亜鉛~~ヒ素分析用亜鉛 2 g を加え、直ちに B 及び C を連結したゴム栓 H を発生瓶  
に付ける。C の細管部の端はあらかじめヒ化水素吸収液 5 mL を入れた吸接管 D の底に達するよう  
に入れておく。次に発生瓶は 25℃の水中に肩まで浸し、1 時間放置する。吸接管をはずし、必要が  
あればピリジンを加えて 5 mL とし、吸収液の色を観察するとき、この色は、次の標準色より濃く  
ない。

標準色の調製は、検液の試験と同時に行い、~~う~~。別に規定するもののほか、別に規定する量のヒ  
素標準液 2.0mL を正確に量り、発生瓶に入れ、塩酸 (1→2) 5 mL 及びヨウ化カリウム試液 5 mL  
を加えて 2～3 分間放置した後、~~酸性塩化第一スズ試液~~塩化スズ (II) 試液 (酸性) 5 mL を加え、  
室温で 10 分間放置する。以下検液の場合と同様に操作して得た吸収液の呈色を標準色とする。

~~(iii)~~ (ii) 装置 C を用いる方法 別に規定するもののほか、検液及び成分規格・保存基準各条に  
規定する方法で調製した比較液 4 mL に塩酸 1 mL 及びヨウ化カリウム溶液 (1→10) 1 mL を  
加え、水浴上 70℃で 4 分間加温した後、水を加えて 20 mL とする。装置にアルゴンを流しながら、  
これらの溶液及び適当な濃度の塩酸 (1～6 mol/L)、テトラヒドロホウ酸ナトリウム試液を、定  
量ポンプ A を用いてそれぞれ 1～10 mL/分の適当な流量で連続的に装置内に導入して順々に混合

させ、水素化ヒ素ヒ化水素を発生させる。なお、ヨウ化カリウム溶液（1→10）を定量ポンプで連続的に装置内に導入する方式にあつては、検液及び比較液を直接又は水で適当な濃度に希釈後、これらの溶液及び適当な濃度の塩酸（1～6 mol/L）、ヨウ化カリウム溶液（1→10）、テトラヒドロホウ酸ナトリウム試液を、上と同様な操作で装置に導入して順々に混合させ、水素化ヒ素ヒ化水素を発生させる。発生した水素化ヒ素ヒ化水素と廃液を気液セパレータFで分離した後、水素化ヒ素ヒ化水素を含む気体を加熱吸収セルを取り付けた原子吸光度測定装置に導入し、波長 193.7nm の指示値を読むにおける吸光度を測定するとき、その値検液の吸光度は、比較液のもの吸光度より大きくない。

~~ただし、比較液の調製は、検液の試験と同時にを行い、別に規定する量のヒ素標準液を用いて、検液の場合と同様に操作して行う。~~

#### 操作上の注意

- (1) 試験に用いる器具・試薬及び試液は、ヒ素を含まないか、又はほとんど含まないものを用い、必要があれば空試験を行う。
- (2) ~~装置 A を用いる場合は発生ガスが漏れないように、臭化第二水銀紙を挟むすり合わせ部は、緊密につなぐ。~~
- ~~(3) 装置 A を用いる場合は臭化第二水銀紙の呈色は、光、熱、湿気などによって退色するので、比色は、速やかに行う。デシケーター中に光を遮っておけば、しばらく保存することができる。~~
- ~~(4) 装置 C を用いる場合は、装置により試料、検液及び比較液に加える塩酸、テトラヒドロホウ酸ナトリウム試液、ヨウ化カリウム溶液の量や濃度は異なり、装置に導入する検液及び比較液、塩酸、テトラヒドロホウ酸ナトリウム試液及びヨウ化カリウム溶液の流量や、濃度が異なる場合もある。塩酸及びヨウ化カリウム溶液の濃度は異なり、更にテトラヒドロホウ酸ナトリウム試液とは異なる濃度のテトラヒドロホウ酸ナトリウム溶液を使用する場合もある。~~

### 3637. 沸点測定法及び蒸留試験法

沸点測定及び蒸留試験は、別に規定するもののほか、次の第1法又は第2法による。

沸点は、別に規定するもののほか、最初の留液5滴を留出したときを最低とし、蒸留フラスコ中の液が少なくなり、十分な蒸発量が得られなくなる直前の温度を最高とする。

また、蒸留試験は、規定の温度範囲の留分の容量を量るものである。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「55.5～57.0℃（第1法）」とあるのは、本品は、沸点測定法及び蒸留試験法中の第1法により測定するとき、その沸点が、55.5～57.0℃であることを示す。また、「64～70℃で95vol%以上を留出する。（第2法）」とあるのは、本品は、沸点測定法及び蒸留試験法中の第2法により測定するとき、64～70℃で95vol%以上を留出することを示す。

#### 第1法

この方法は、規定の温度範囲が5℃未満のときの液体の沸点の測定及び蒸留試験に用いる。

#### 装 置

概略は、次の図による。

- A：硬質ガラス製蒸留フラスコ（容量 50～60ml）
- B：浸線付温度計（棒状）

C : 浸線

D : 栓

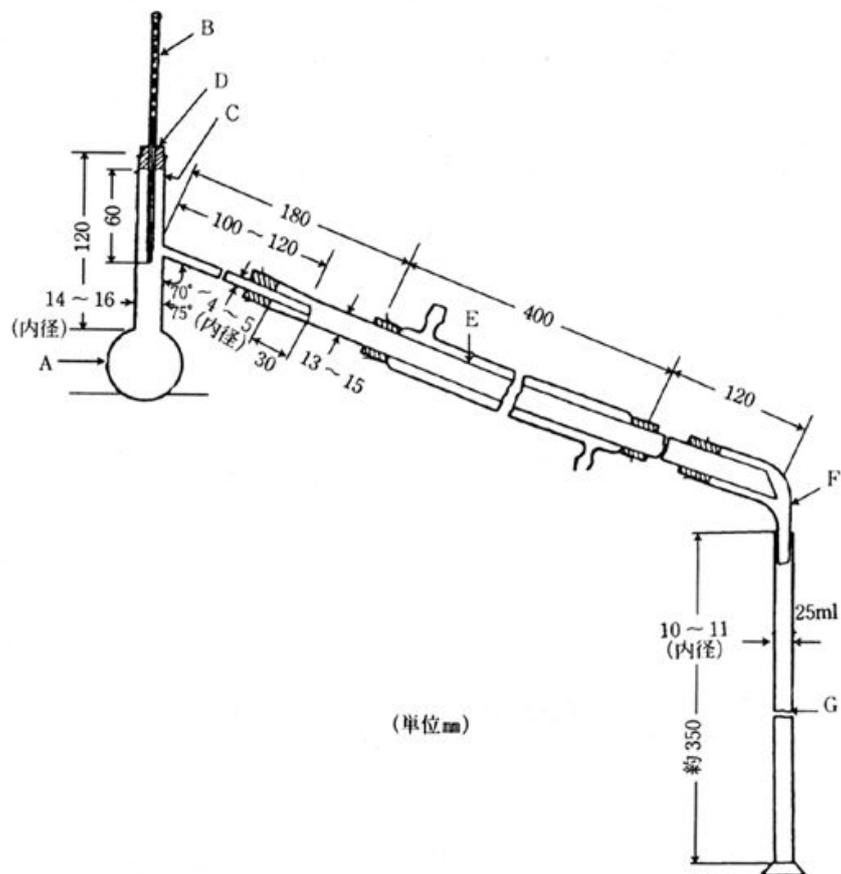
E : 冷却器

F : アダプター

G : メスシリンダー (25mL, 0.1mLの目盛りのあるもの)

ガラス器具類は、よく乾燥したものをを用いる。浸線付温度計Bは、浸線Cが栓Dの下端にくるように、また水銀球の上端が留出口の中央部にくるように付け、蒸留フラスコAに冷却器Eを連結し、EにはアダプターFを接続し、Fの先端は、受器のメスシリンダーGの口にわずかに空気が流通するようにして差し込む。

Aには沸騰石又は毛细管を入れ、Aを覆う高さの風よけを付け、適当な熱源を用いてAを加熱する。ただし、直火で加熱するときは、Aをセラミックセラミックス板(150mm×150mmの金網に厚さ6mmのセラミックセラミックスを固着し、中央部に直径30mmの円形の穴を開けたもの)の穴に載せて加熱する。



### 操作法

あらかじめ液温を測定した試料 25mL を G を用いて量り、A に入れ、G は、洗わずにそのまま受器として用いる。装置が整ったならば、E に水を通し、A を加熱し、約 10 分で留出を始め、別に規定するもののほか、測定温度 200°C 未満のものは 1 分間 4~5 mL、200°C 以上のものは 1 分間 3~4 mL の留出速度で蒸留し、留液の温度を初めの試料の液温と等しくし、留分の容量を量る。

80°C 以下で蒸留し始める液では、あらかじめ試料を 10~15°C に冷却してその容量を量り、蒸留中は G の上部から 25mm 以下を氷冷する。

気圧に対する温度の補正は、0.36kPa につき 0.1°C とし、気圧 101kPa 未満のときはこれを加え、

101kPa を超えるときはこれを減じる。

## 第2法

この方法は、規定の温度範囲が5℃以上のときの液体の沸点の測定及び蒸留試験に用いる。

### 装 置

第1法と同様の装置を用いる。ただし、蒸留フラスコAは容量200mL、首の内径18~24mmで内径5~6mmの留出管が付いているものを用いる。また、直火で加熱するとき用いるセラミックセラミックス板は、中央部に直径50mmの円形の穴を開けたものとする。

また、受器に用いるメスシリンダーGは、100mLで、1mLの目盛りのあるものとする。

### 操 作 法

あらかじめ液温を測定した試料100mLを1mLの目盛りのあるGを用いて量り、第1法と同様に操作する。

## 3738. メトキシ基定量法

メトキシ基定量法は、試料にヨウ化水素酸を加えて加熱し、生じるヨウ化メチルを臭素で酸化し、生じたヨウ素酸をチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定してメトキシ基を定量する方法である。

### 装 置

概略は、次の図による。

- A：分解フラスコ
- B：ガス導入管
- C：すり合わせ連結部
- D：空冷部
- E：ガス洗浄部
- F：ガラス栓
- G：球面すり合わせ連結部
- H：ガス導管
- J：吸収管
- K：排ガス管

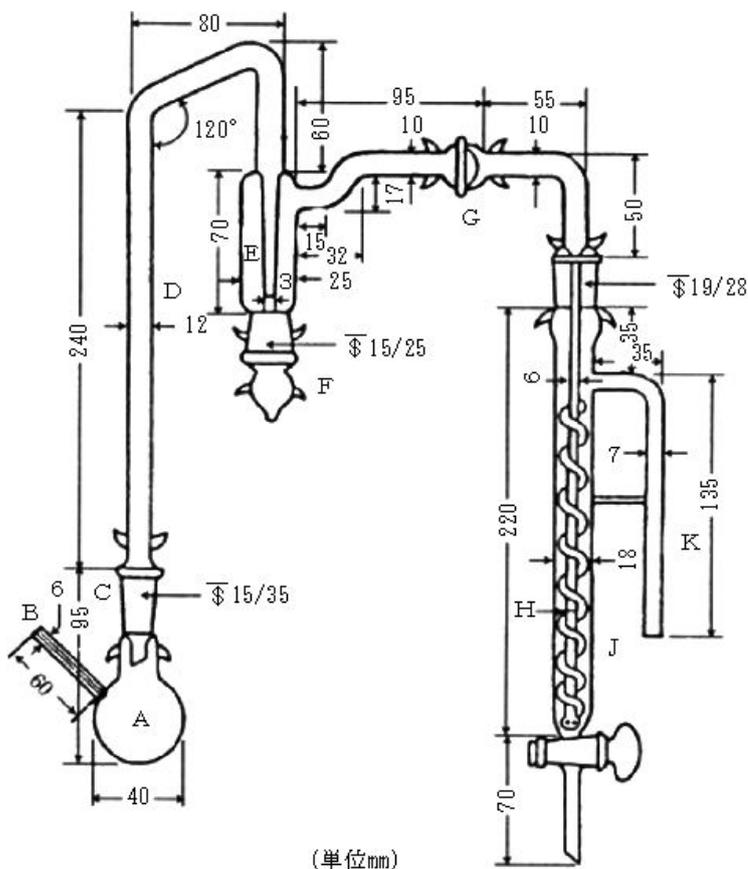
### 洗浄液及び吸収液の調製

洗浄液 赤リン1gを量り、水100mLに懸濁させる。

吸収液 酢酸カリウム15gを量り、酢酸/無水酢酸混液(9:1)150mLを加えて溶かし、この液145mLを量り、臭素5mLを加える。用時調製する。

### 操 作 法

ガス洗浄部Eに洗浄液を約1/2の高さまで入れ、また吸収管Jに吸収液約20mLを入れる。メト



キシ基 ( $\text{CH}_3\text{O} : 31.03$ ) として約 6.5mg に対応する量の試料を精密に量り、分解フラスコ A に入れ、次に沸騰石及びヨウ化水素酸約 6  $\text{mL}$  を加える。A のすり合わせ連結部 C をヨウ化水素酸 1 滴でぬらして空冷部 D に接続し、更に球面すり合わせ連結部 G を適当なグリース（シリコーン油）を付けて連結し、装置を組み立てる。ガス導入管 B より窒素又は二酸化炭素を通じ、適当な調節器を用いて E 中に出る気泡が 1 秒につき 2 個程度になるように調整する。A を油浴に浸し、浴の温度が 20~30 分後に 150°C になるように加熱し、更に A 内の液を 60 分間煮沸する沸騰させる。油浴を外し、ガスを通したまま放冷し、冷後、G を取り外し、J の内容物を、あらかじめ 酢酸ナトリウム酢酸ナトリウム三水合物溶液（1→5）10  $\text{mL}$  を入れた 500  $\text{mL}$  の共栓三角フラスコに流し出し、水で数回洗い込み、更に水を加えて約 200  $\text{mL}$  とする。振り混ぜながら臭素の赤色が消えるまでギ酸を滴加した後、更に 1  $\text{mL}$  を加える。次にヨウ化カリウム 3 g 及び硫酸（1→20）15  $\text{mL}$  を加え、栓をして軽く振り混ぜ、5 分間放置した後、遊離したヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液 1  $\text{mL}$ ）。ただし、デンプン試液は、終点近くで液の色がうすい黄色になったときに加え、終点は液の青色が消えた点とする。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1  $\text{mL}$  = 0.5172mg  $\text{CH}_3\text{O}$

### 3839. 融点測定法

融点とは、次の方法により測定するとき、固体がその温度又は温度の範囲内で完全に融解する温度をいう。比較的純度が高く、粉末状に試料を調製できる物質の融点は第 1 法により、水に不溶性で粉末にしにくい物質の融点は第 2 法により測定する。

測定は、別に規定するもののほか、第 1 法により行う。 ~~測定の便宜上、固体物質を次の 2 種類に分ける。~~

~~第 1 種物質—粉末にしやういもの~~

~~第 2 種物質—脂肪、脂肪酸、パラフィン、ろう等のよ  
うな粉末にしにくいもの~~

第 1 法 (1) — 第 1 種物質の場合

通例、粉末にしやういものに適用する。

装 置

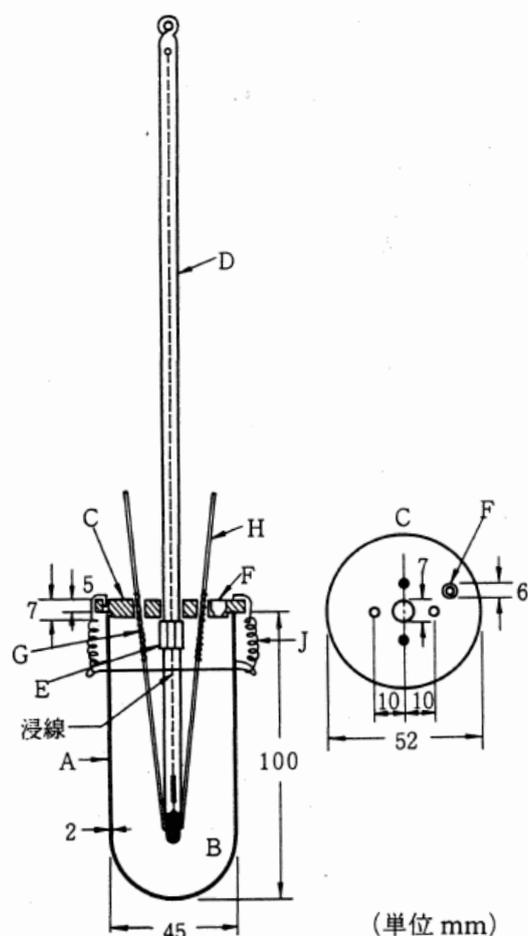
概略は、次の図による。

A : 加熱容器（硬質ガラス製）

B : 浴液（常温における動粘度 50~100 $\text{mm}^2/\text{s}$  の澄明なシリコーン油を用いる。）

C : テフロン製ふた

D : 浸線付温度計（棒状、融点が 50°C 未満のときは 1 号、40°C 以上 100°C 未満のときは 2 号、90°C 以上 150°C 未満のときは 3 号、140°C 以上 200°C 未満のときは 4 号、190°C 以上 250°C 未満のときは 5 号、240°C 以上 320°C 未満のときは 6 号を用いる。）



E：温度計固定ばね

F：浴液量加減用小孔

G：コイルスプリング

H：毛細管（内径 0.8～1.2mm，長さ 120mm，壁の厚さ 0.2～0.3mm で一端を閉じた硬質ガラス製のものをを用いる。）

J：テフロン製ふた固定ばね

#### 操 作 法

試料を微細な粉末とし，別に規定するもののほか，デシケーターで約 24 時間乾燥する。また，成分規格・保存基準各条において乾燥物とある場合は，それぞれの成分規格・保存基準各条において規定する乾燥減量の条件で乾燥したものをを用いる。

~~次に、~~この試料を毛細管 H に 入れ、閉じた一端を下にしてガラス板又は陶板上に立てた約 70cm のガラス管の内部に落とし、はずませて固く詰め、厚さ 2.5～3.5mm の層となるように できるだけ堅く詰めする。成分規格・保存基準各条などに（封管中）とある場合は，開いている方の一端を閉じる。また（減圧封管中）とある場合は，開いている方の一端から，減圧（0.67kPa 以下）にしながらか開いている方の一端を弱く加熱して閉じる。

浴液 B を加熱して予想される融点の約 10℃~~以下~~の温度まで徐々に上げ，浸線付温度計 D の浸線を浴液のメニスカスに合わせ，試料を入れた H をコイルスプリング G に差し込み，試料を詰めた部分が D の水銀球の中央にくるようにする。次に 1 分間に約 3℃上昇するように加熱して温度を上げ，予想される融点より約 5℃低い温度から 1 分間に 1℃上昇するように加熱を続ける。

H の内壁と試料との接触部にわずかに浸潤又は崩壊を認めたときの温度を融解し始めの温度とし，試料が完全に融解して透明となったときの温度を融解し終わりの温度とし，融解し終わりの温度を融点とする。

#### ~~(2)~~ 第 2 法

脂肪、脂肪酸、パラフィン、ろう等のような粉末にしにくいものに適用する。種物質の場合

#### 操 作 法

試料をできるだけ低温で融解し，これを，泡が入らないようにして両端の開いた毛細管（第 1 法で規定したものと同様なもので、種物質の場合の装置で両端を開いたもの）中に吸い上げて約 10mm の高さとする。この毛細管 から試料が流出しないように保ち、を約 -10℃~~以下~~で約 24 時間放置するか，少なくとも 2 時間氷冷した後，試料の位置が水銀球の中央外側になるようにゴム輪で温度計に取り付け，これを水を入れたビーカーに入れ，試料の上端を水面下約 10mm の位置に保つ。水を絶えずかき混ぜながら加温し，予想される融点より約 5℃低い温度に達した後は，2 分間に 1℃ずつ上昇するように加熱する。H 中で試料が浮上するときの温度を融点とする。

### 3940. 誘導結合プラズマ発光強度測定分光分析法

誘導結合プラズマ発光強度測定分光分析法は，試料中に含まれる被検元素を，誘導結合プラズマ（ICP）により 原子化し、及び気化励起し，これらにより得られた原子発光スペクトル線の発光強度を測定することにより定量分析を，また，波長をから被検元素同定量（濃度）を測定することにより定性分析を行う方法である。

## 装 置

通例、励起源部、試料導入部、発光部、分光部、~~測光部、及び表示記録データ処理部及び制御システム部~~からなる。励起源部は、~~試料を励起させ、発光させる発光部を維持するための~~電気エネルギーを供給し制御する電源回路及び、~~制御系及び回路からなり、付属としてガス供給源や冷却装置を含む~~。試料導入部は~~発光部に試料を導入するための部分で、~~ネブライザー、~~スプレーチャンバー及び噴霧室ドレントラップ~~からなる。発光部は、~~検液中の被検元素を励起・発光させるための部分で、~~トーチ管及び高周波誘導コイル等からなる。~~トーチは三重管からなり、中心の管から検液が導入される。プラズマを形成するためのガスにはアルゴンを用いる。発光部からの光の観測方式には、プラズマの側面の光を観測する横方向観測方式とプラズマの中心の光を観測する軸方向観測方式がある。分光測光部は発光部から放射された光を効率よく分光部に導く集光系計、スペクトルを分離する回折格子等の~~分光器及び検出器からなる。~~分光器には、波長走査形分光器（モノクロメーター）と波長固定型の同時測定形分光器（ポリクロメーター）がある。なお、190nm以下の真空紫外領域のスペクトル線を測定する場合、分光器内は、真空排気を行うか、アルゴン又は窒素により、空気を置換する必要がある。データ処理部は、データ処理を行い、検量線及び測定結果等を表示する。制御システム部は、最適な条件下で装置を使用するために、ガス流量、トーチ測光位置、励起源部の電力等を制御する。測光部は検出器及び信号処理系からなる。表示記録部には、ディスプレイ、記録装置等がある。方式として、波長走査形分光器を用いる単元素逐次分析方式、波長走査形分光器を用いる多元素逐次分析方式及び波長固定型のポリクロメーターを用いる多元素同時分析方式がある。~~

## 操 作 法

常時通電されている部分に異常がないことを確認した後、励起源部及び冷却装置の電源スイッチを入れる。真空型分光器を用いて真空紫外域の発光線を測定する場合には、発光部と分光器の間の光軸をアルゴン又は窒素で十分に置換しておく。アルゴン又は窒素を所定の流量に設定し、高周波電源を入れ、プラズマを生成点灯する。~~水銀ランプの発光線装置に指示された方法~~を用いて分光器の波長校正を行う。

別に規定する方法で調製した検液、標準液又は比較液を導入し、適当な発光スペクトル線の発光強度を測定する。

定量は、通例、次のいずれかの方法による。なお、定量に際しては、干渉及びバックグラウンドを考慮する必要がある。

- (1) 検量線法 3種以上の濃度の異なる標準液を調製し、それぞれの標準液につき、その発光強度を測定し、得られた値から検量線を作成する。次に測定可能な濃度範囲に調製した検液の発光強度を測定した後、検量線から被検元素量（濃度）を求める。
- (2) 標準添加法 同量の検液3個以上をとり、それぞれに被検元素が段階的に含まれるように標準液を添加し、更に溶媒を加えて一定容量とする。それぞれの溶液につき、発光強度を測定し、横軸に添加した標準被検元素量（濃度）、縦軸に発光強度をとり、グラフにそれぞれの値をプロットする。プロットから得られた回帰線を延長し、横軸との交点と原点との距離から被検元素量（濃度）を求める。ただし、この方法は、(1)による検量線が原点を通る直線の場合のみに適用できる。
- (3) 内標準法 内標準元素の一定量に対して標準被検元素を段階的に加えた標準液を数種類調製する。それぞれの液につき、各元素の分析線波長で標準被検元素による発光強度及び内標準元素による発光強度を同一条件で測定し、標準被検元素による発光強度と内標準元素による発光強度の比を求める。横軸に標準被検元素量（濃度）、縦軸に発光強度の比をとり、検量線を作成する。次に、標

準液の場合と同量の内標準元素を加えた検液を調製し、検量線を作成したときと同一条件で得た被検元素による発光強度と内標準元素による発光強度との比を求め、検量線から被検元素量（濃度）を求める。

注意：試験に用いる試薬・試液及びガスは測定のためにならないものを用いる。

#### 4041. 油脂類試験法

油脂類試験法は、香料以外の脂肪酸、高級脂肪族アルコール類、脂肪酸のエステル類などの油脂類のエステル価、けん化価、酸価、水酸基価及びヨウ素価を測定する方法である。

##### 1. エステル価

エステル価とは、試料 1 g 中のエステルをけん化するに要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「125～164（油脂類試験法）」とあるのは、次の方法によるとき、エステル価が、125～164であることを示す。

##### 操 作 法

別に規定するもののほか、けん化価及び酸価を測定し、次式によりエステル価を求める。

$$\text{エステル価} = \text{けん化価} - \text{酸価}$$

##### 2. けん化価

けん化価とは、試料 1 g 中のエステルのけん化及び遊離酸の中和に要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

##### 操 作 法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料約 1 g を精密に量り、三角フラスコに入れ、エタノール (95) 40 mL を加え、必要があれば加温して溶かし、エタノール製水酸化カリウム試液 3.5w/v % 水酸化カリウム・エタノール試液 20 mL を正確に量って加え、還流冷却器を付けて水浴中で 30 分間、時々フラスコを振り混ぜながら加熱する。冷後、フェノールフタレイン試液数滴を加え、直ちに過量の水酸化カリウムを 0.5mol/L 塩酸で滴定する。ただし、冷時濁りを生じるときは、温時滴定する。別に空試験を行い、次式によりけん化価を求める。

$$(a-b) \times 28.05$$

$$\text{けん化価} = \frac{\quad}{\quad}$$

試料の採取量 (g)

ただし、

a : 空試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

b : 本試験における 0.5mol/L 塩酸の消費量 (mL)

##### 3. 酸価

酸価とは、試料 1 g を中和するに要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「15 以下（油脂類試験法）」とあるのは、次の方法によるとき、酸価が、15 以下であることを示す。

##### 操 作 法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料の酸価に応じて表の試料の採取量を精密に量り、エタノール (95) / ジエチルエーテル混液 (1 : 1) 50  $\text{mL}$  を加え、必要があれば加温して溶かし、検液とする。冷後、フェノールフタレイン試液 ~~数~~ 2 ~ 3 滴を加え、~~0.1 mol / L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.1 mol / L 水酸化カリウム・エタノール溶液で 30 秒間持続する紅淡赤色を呈するまで滴定し、次式により酸価を求める。ただし、冷時濁りを生じるときは、温時滴定する。使用する溶媒は、あらかじめ使用前にフェノールフタレイン試液 2 ~ 3 滴を指示薬として 30 秒間持続する淡赤紅色を呈するまで ~~0.1 mol / L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.1 mol / L 水酸化カリウム・エタノール溶液を加える。

$$0.1 \text{ mol / L 水酸化カリウム・エタノール溶液の消費量 (mL)} \times 5.611$$

$$\text{酸価} = \frac{\text{試料の採取量 (g)}}{\text{酸価} = \text{試料の採取量 (g)}}$$

表

酸価	試料の採取量
5 未満	10 g
5 以上 15 未満	5 g
15 以上 50 未満	3 g
50 以上 120 未満	1 g
120 以上	0.5 g

#### 4. 水酸基価

水酸基価とは、試料 1 g を次の条件でアセチル化するとき、水酸基と結合した酢酸を中和するに要する水酸化カリウム (KOH) の mg 数である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「155~187 (油脂類試験法) ただし、酸価は 0 とみなす。」とあるのは、次の方法によるとき、酸価 ~~は~~ を 0 とみなして ~~た~~ とき水酸基価が 155~187 であることを示す。

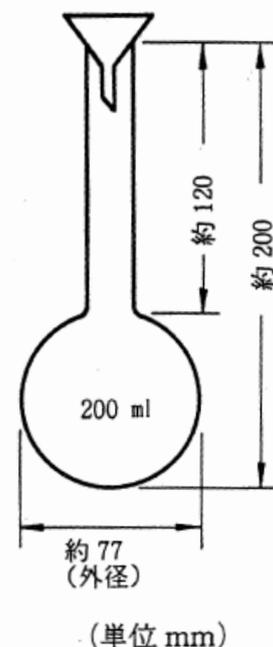
#### 操 作 法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料約 1 g を精密に量り、図のようなに示す丸底フラスコに入れ、無水酢酸・ピリジン試液 5  $\text{mL}$  を正確に量って加え、フラスコの口に小漏斗を載せ、95~100°C の油浴中に底部を約 1 cm 浸して 1 時間加熱する。冷後、水 1  $\text{mL}$  を加えてよく振り混ぜ、更に 10 分間加熱し、冷後、漏斗及びフラスコの首部をエタノール (95) 5  $\text{mL}$  で洗い込み、過量の酢酸を ~~0.5 mol / L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5 mol / L 水酸化カリウム・エタノール溶液で滴定する (指示薬 フェノールフタレイン試液 1  $\text{mL}$ )。別に空試験を行い、次式により水酸基価を求める。

$$(a - b) \times 28.05$$

$$\text{水酸基価} = \frac{\text{水酸基価} = \text{試料の採取量 (g)}}{\text{水酸基価} = \text{試料の採取量 (g)}} + \text{酸価}$$



試料の採取量 (g)

ただし、a : 空試験における ~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 の消費量 (mL)

b : 本試験における ~~0.5mol/L エタノール製水酸化カリウム溶液~~ 0.5mol/L 水酸化カリウム・エタノール溶液 の消費量 (mL)

#### 5. ヨウ素価

ヨウ素価とは、次の条件で測定するとき、試料 100 g に吸収されるハロゲンの量をヨウ素 (I) に換算した g 数である。

#### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料のヨウ素価に応じて、表の試料の採取量を小ガラス容器に 正確精密 に量り、500 mL の共栓 三角 フラスコ中に容器と共に入れ、シクロヘキサン 20 mL を加えて溶かし、正確にウィイス試液 25 mL を加え、よく混和する。密栓して遮光し、20~30℃で 30 分間 (ヨウ素価が 100 以上のときは 1 時間) 時々振り混ぜて放置する。次にヨウ化カリウム溶液 (1→10) 20 mL 及び水 100 mL を加えて振り混ぜた後、遊離したヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する (指示薬 デンプン試液 1 mL)。別に空試験を行い、次式によりヨウ素価を求める。

$$(a - b) \times 1.269$$

ヨウ素価 =  $\frac{\text{試料の採取量 (g)}}{\text{---}}$

試料の採取量 (g)

ただし、a : 空試験における 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム 溶液 の消費量 (mL)

b : 本試験における 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム 溶液 の消費量 (mL)

表

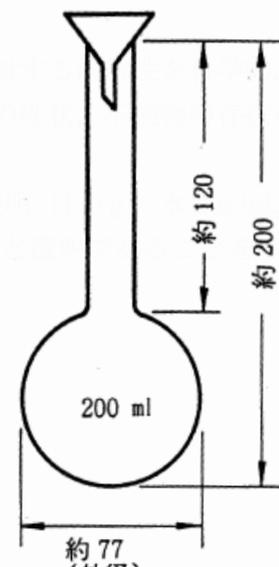
ヨウ素価	試料の採取量
30 未満	<del>1.0</del> <u>1</u> g
30 以上 50 未満	0.6 g
50 以上 100 未満	0.3 g
100 以上	0.2 g

#### ☆42. 溶状試験法

濁度溶状試験法は、成分規格・保存基準各条の溶状の項に定めた溶状を 観 的に判定するための方法である。溶状を観察することにより、物質を簡単に判別することができる。

以下、本試験法を用いる場合の溶状の項において、例えば、「ほとんどあるのは、本品 1.0 g を量り、水 20 mL を加えて溶かした液は、ほ

操作法



(1) 検液の調製

別に規定するもののほか、溶状の項に規定した溶液をネスラー管又は適当な容器内で調製し、必要があれば20mLをネスラー管にとり、検液とする。

(2) 標準液の調製

**濁度標準原液** 0.1mol/L塩酸14.1mLを正確に量り、水を加えて正確に50mLとする。この液1mLは、塩素(Cl) 1mgを含む。

**濁度標準液** **濁度標準原液** 1mLを正確に量り、水を加えて正確に100mLとする。この液1mLは、塩素(Cl) 0.01mgを含む。

(3) 基準液の調製

澄明 **濁度標準液** 0.2mLを量り、水を加えて20mLとする。この液に硝酸(1→3) 1mL、~~2w/v%デキストリン~~デキストリン水和物溶液(1→50) 0.2mL及び~~2w/v%~~硝酸銀溶液(1→50) 1mLを加え、振り混ぜた後、直射日光を避けて15分間放置する。

ほとんど澄明 **濁度標準液** 0.5mLを量り、水を加えて20mLとする。この液に硝酸(1→3) 1mL、~~2w/v%デキストリン~~デキストリン水和物溶液(1→50) 0.2mL及び~~2w/v%~~硝酸銀溶液(1→50) 1mLを加え、振り混ぜた後、直射日光を避けて15分間放置する。

わずかに微濁 **濁度標準液** 1.2mLを量り、水を加えて20mLとする。この液に硝酸(1→3) 1mL、~~2w/v%デキストリン~~デキストリン水和物溶液(1→50) 0.2mL及び~~2w/v%~~硝酸銀溶液(1→50) 1mLを加え、振り混ぜた後、直射日光を避けて15分間放置する。

微濁 **濁度標準液** 6mLを量り、水を加えて20mLとする。この液に硝酸(1→3) 1mL、~~2w/v%デキストリン~~デキストリン水和物溶液(1→50) 0.2mL及び~~2w/v%~~硝酸銀溶液(1→50) 1mLを加え、振り混ぜた後、直射日光を避けて15分間放置する。

混濁 **濁度標準原液** 0.3mLを量り、水を加えて20mLとする。この液に硝酸(1→3) 1mL、~~2w/v%デキストリン~~デキストリン水和物溶液(1→50) 0.2mL及び~~2w/v%~~硝酸銀溶液(1→50) 1mLを加え、振り混ぜた後、直射日光を避けて15分間放置する。

(4) 試験

別に規定するもののほか、検液と同容量の基準液をネスラー管にとり、直射日光を避けて、30秒～5分間振り混ぜた後、~~上側方~~及び側方上方から観察して濁度を比較するとき、検液の呈する濁度は、規定する用語に対応する基準液の示す濁度より濃くない。また、澄明又はほとんど澄明と規定された液は、浮遊物などの異物の混入をほとんど認めない。

#### 4243. 硫酸塩試験法

硫酸塩試験法は、試料中に混在する硫酸塩の許容限量を試験する方法である。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「SO<sub>4</sub>として0.024%以下(1.0g, 比較液0.005mol/L硫酸0.50mL)」とあるのは、本品1.0gを量り、試料とし、試験を行い、比較液には、0.005mol/L硫酸0.50mLを用いて試験を行うとき、硫酸塩が、SO<sub>4</sub>として0.024%以下であることを示す。

#### 操作法

(1) 検液及び比較液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

試料の量のみを規定する場合は、規定する量の試料を量り、ネスラー管に入れ、水約 30mL を加えて溶かし、液がアルカリ性の場合は、塩酸（1→4）を加えて中和し、更に塩酸（1→4） 1 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。また、試料液を調製する場合は、試料液をネスラー管に入れ、塩酸（1→4） 1 mL 及び水を加えて 50mL とし、検液とする。別のネスラー管に別に規定する量の 0.005mol/L 硫酸を量って入れ、塩酸（1→4） 1 mL 及び水を加えて 50mL とし、比較液とする。検液が澄明でない場合は、両液を同じ条件でろ過する。

## (2) 試験

別に規定するもののほか、検液及び比較液に塩化バリウム塩化バリウム二水和物溶液（3→25） 2 mL ずつを加えてよく混和し、10 分間放置した後、両ネスラー管を、黒色を背景とし、側方及び上方から観察して濁度を比較するとき、検液の呈する濁度は、比較液の呈する濁度より濃くない。

### 4344. 硫酸呈色物試験法

硫酸呈色物試験法は、試料を硫酸に溶かすとき、硫酸によって容易に呈色する不純物の許容限度を試験する方法である。

#### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

あらかじめ無色の硬質試験管を 94.5～95.5%硫酸硫酸呈色物用硫酸でよく洗う。別に規定するもののほか、試料が固体の場合は、試験管に 94.5～95.5%硫酸硫酸呈色物用硫酸 5 mL を入れ、別に規定する量の試料を粉末として少量ずつ加え、ガラス棒でかき混ぜて完全に溶かす。試料が液体の場合は、別に規定する量を量り、試験管に入れ、94.5～95.5%硫酸硫酸呈色物用硫酸 5 mL を加えて振り混ぜる。この間、発熱して温度が上昇するものは冷却し、温度の影響のあるものは標準温度に保ち、15 分間放置する。別に規定する比色標準液を別の同質同形の試験管に入れ、比較液とする。両管を、白色を背景とし、上方側方及び側方上方から観察して比色するとき、試料の呈する色は、比較液の色より濃くない。

また、試料を硫酸と加熱して溶かすように規定した場合は、試料と硫酸とを試験管に入れ、規定に従い加熱した後、比色する。

### 4445. ろ紙クロマトグラフィー

ろ紙クロマトグラフィーは、ろ紙を用い、混合物を移動相で展開させてそれぞれの成分に分離する方法であり、物質の確認又は純度の試験などに用いる。

#### 操作法

別に規定するもののほか、次の方法による。

別に規定するクロマトグラフィー用ろ紙の一端から 40mm の所ところに鉛筆で線を引き、この線上に別に規定する量の検液と対照液をマイクロピペット又は毛細管を用いて付け、風乾する。このとき、検液を付けたスポットと対照液を付けたスポットとの中心間の距離は、約 25mm とする。次に、あらかじめ別に規定する展開溶媒を入れ、その蒸気で飽和させておいた高さ約 500mm の展開用容器に、この

ろ紙を入れ，ろ紙が器壁に接触しないように注意して，糸又は針金で栓に垂直につるし，ろ紙の下端約 10mm を展開溶媒中に浸し，容器を密閉して放置する。展開溶媒が試料を付けた点より別に規定する距離まで上昇したとき，ろ紙を容器から取り出し，風乾した後，別に規定する方法によって検液と対照液とのそれぞれから得られたスポットの位置及び色などを比較観察する。