

B 一般試験法

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)。

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からなり、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、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、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。

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、ピーク高さ又はピーク面積を用いて行い、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高さ又はピーク面積との比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量と内標準物質質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、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。
- (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又はピーク面積を縦軸に、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又はピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。

なお、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高さ又はピーク面積は、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を用いてピーク面積として測定する。

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充てん剤を詰めたカラム中に、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からなり、必要に応じてカラムは、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、紫外及び可視の吸光光度計、示差屈折計、蛍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。

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が広がらないことで行う。定量は、ピーク高さ又はピーク面積を用いて行い、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高さ又はピーク面積との比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量と内標準物質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、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。
- (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又はピーク面積を縦軸に、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又はピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。

なお、いずれの方法の場合にもピーク高さ又はピーク面積は、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を用いてピーク面積として測定する。

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、「Clとして0.041%以下(0.30g, 比較液0.01mol/L塩酸0.35ml)」とあるのは、本品0.30g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、Cl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)を加えて中和し、更に硝酸(1→10) 6ml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) 6ml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) 6ml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) 1ml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。

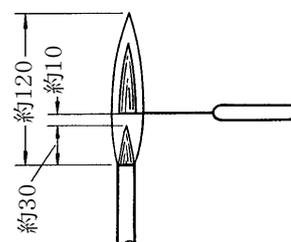
5. 炎色反応試験法

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、その少量を白金線の先端から約5mm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、白金線の先端を試料中に約5mm浸し、静かに引き上げて、以下固体の場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。



(単位 mm)

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、初めは弱く加熱し、徐々に温度を上げて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少量で洗い、エタノールを注意して蒸発した後、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) 25ml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。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. 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(キャリアーガス)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、キャリアーガス導入部、試料導入部、恒温槽に内蔵されたカラム、検出器及び記録装置からなり、必要ならば燃焼ガス、助燃ガス、付加ガスなどの導入装置及び流量制御装置や、ヘッドスペース用試料導入装置などを用いる。キャリアーガス導入部は、キャリアーガスを一定流量でカラム中に送るものである。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、炎光光度検出器等が用いられ、キャリアー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。

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、ピーク高さ又はピーク面積を用いて行い、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高さ又はピーク面積との比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量と内標準物質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、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。
- (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又はピーク面積を縦軸に、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又はピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。
- (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、標準液の添加による被検成分の増加量を横軸に、ピーク面積を縦軸にとり、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高さ又はピーク面積は、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を用いてピーク面積として測定する。

8. 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)を用いて定量する方法で、EDTA溶液による直接滴定法(第1法)と、過量のEDTA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20mlを正確に量り、0.02mol/L EDTA溶液25mlを正確に量って加え、次に水50ml及びアンモニア・塩化アンモニウム緩衝液(pH10.7) 5ml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0.025gを加え、直ちに過量のEDTAを0.02mol/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。

9. 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℃, 3時間)」とあるのは、試料1~2gを精密に量り、105℃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、「0.50%以下(0.5g, 1.3kPa以下, 24時間)」とあるのは、試料約0.5g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、1.3kPa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0.50%以下であることを示す。

操作法

あらかじめひょう量瓶を別に規定する乾燥条件に準じて約30分間乾燥し、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2mm以下の大きさとし、別に規定するもののほか、その1~2gを先のひょう量瓶に入れ、厚

さ5mm以下の層となるように広げた後、その質量を精密に量る。次にこれを乾燥器に入れ、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5～10℃低い温度で1～2時間乾燥した後、別に規定する乾燥条件で乾燥する。

10. 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3mm、下端を外径18mmの輪状にしたもの)

F：浸線付温度計(棒状)

G：補助温度計

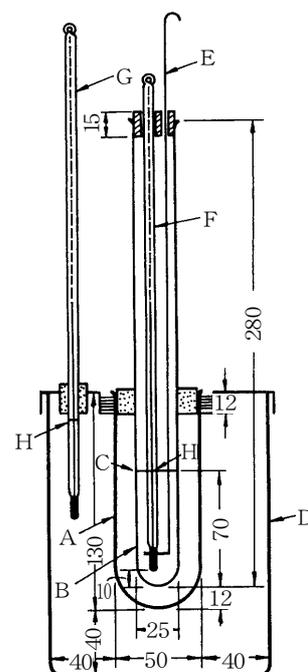
H：浸線

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。

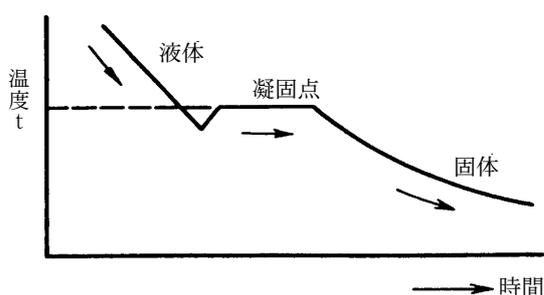
なお試料中に混在する不純物が多い場合は、凝固点曲線は、第2図のようにはならず、第3図、第4図又は第5図のようになる。第4図と第5



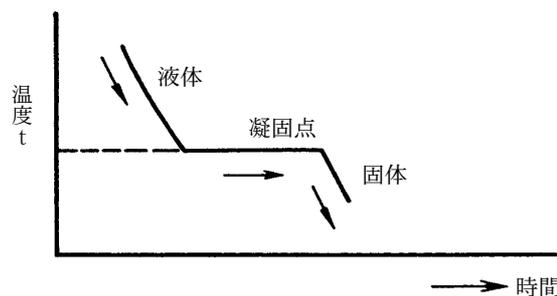
(単位 mm)

第1図

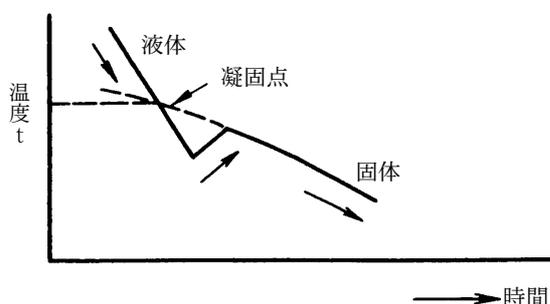
図の場合は、固相と液相の延長線の交点をグラフから求めて凝固点とし、第3図の場合は、第2図に準ずる。



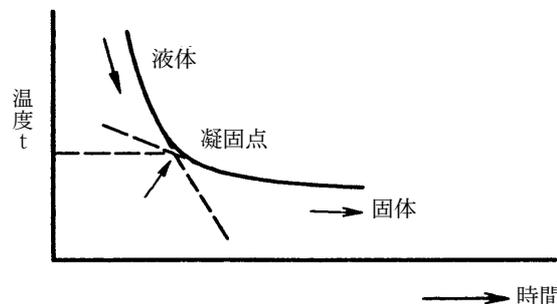
第2図



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。

11. 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1～2g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(0.5g, 1,000℃, 30分間)」とあるのは、試料約0.5g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2mm以下の大きさとし、別に規定する

もののほか、その1~2g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。

12. 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%以下」とあるのは、試料1~2gを精密に量り、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%以下であることを示す。「0.02%以下(5g, 850℃, 30分間)」とあるのは、試料約5gを精密に量り、硫酸を加え、850℃で30分間強熱するとき、その残分が試料の採取量に対して0.02%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、速やかに粉砕して径約2mm以下の大きさとする。別に規定するもののほか、その1~2gを先のるつぼに入れ、その質量を精密に量り、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、放冷する。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、別に規定するもののほか、450~550℃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。

13. 屈折率測定法

屈折率測定法は、試料の空気に対する屈折率を測定する方法である。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り、純度試験に用いる。

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 ℃で測定したときの空気に対する屈折率を意味する。屈折率の測定は、別に規定するもののほか、アッペ屈折計を用い、規定温度の $\pm 0.2^\circ\text{C}$ の範囲内で行う。

14. 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イム方式、電気加熱方式及び冷蒸気方式があり、冷蒸気方式は、更に還元気化法及び加熱気化法に分けられる。フレイム方式は、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。

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) フレイム方式 別に規定する光源ランプを装てんし、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、溶媒をフレイ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イム中に噴霧し、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、加熱モードで、乾燥させ、灰化させ、原子化させ、その吸光度を測定する。
- (3) 冷蒸気方式 別に規定する光源ランプを装てんし、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・試液は、測定の影響とならないものを用いる。

15. 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。

$$\text{アセチル価} = \frac{(a-b) \times 28.05}{\text{アセチル化油の採取量(g)}}$$

$$\text{アルコール類含量} = \frac{\text{アルコールの分子量} \times (a-b) \times 0.5}{[\text{アセチル化油の採取量(g)} - 0.02102(a-b)] \times 1,000} \times 100(\%)$$

$$= \frac{\text{アセチル価} \times \text{アルコールの分子量}}{561.1 - (0.4204 \times \text{アセチル価})} (\%)$$

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。

$$\text{アルコール類含量} = \frac{\text{アルコールの分子量} \times (a-b) \times 0.5}{\text{試料の採取量(g)} \times 1,000} \times 100(\%)$$

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(NH₂OH)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。

$$\text{アルデヒド類又はケトン類含量} = \frac{\text{アルデヒド又はケトンの分子量} \times (a-b) \times 0.5}{\text{試料の採取量(g)} \times 1,000} \times 100(\%)$$

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。

$$\text{アルデヒド類又はケトン類含量} = \frac{\text{アルデヒド又はケトンの分子量} \times (a-b) \times 0.5}{\text{試料の採取量(g)} \times 1,000} \times 100(\%)$$

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1g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(5g, 香料試験法)」とあるのは、本品約5g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。

$$\text{エステル含量} = \frac{\text{エステルの分子量} \times (a-b) \times 0.5}{\text{試料の採取量(g)} \times 1,000} \times 100(\%) = \frac{\text{エステル価} \times \text{エステルの分子量}}{561.1} (\%)$$

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。

6. けん化価

けん化価とは、試料1g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1ml)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)

7. 酸 価

酸価とは、試料1g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10gを精密に量り、中和エタノール約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ミ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。

$$\text{酸価} = \frac{0.1\text{mol/L水酸化カリウム溶液の消費量(ml)} \times 5.611}{\text{試料の採取量(g)}}$$

8. フェノール類含量

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目盛部に上昇させ、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。

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

9. 香料のガスクロマトグラフィー

装 置

一般試験法の項7. 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分間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℃以上の試料に適用する。

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0.25～1μmの厚さで被覆したもの。

カラム温度 50℃から毎分5℃で昇温し、230℃に到達後、4分間保持する。

注入口温度 225～275℃

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分間に現れるように調整する。

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。

カラム温度 50℃で5分間保持し, 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分間に現れるように調整する。

16. 紫外可視吸光度測定法

紫外可視吸光度測定法は, 試料が一定の狭い波長範囲の光を吸収する割合を測定する方法である。物質の液の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(λ_{\max})又は極小波長(λ_{\min})における一定濃度の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液を通過するとき, 透過光の強さ(I)と入射光の強さ(I_0)との比を透過度(T)といい, 透過度の逆数の常用対数を吸光度(A)という。

$$T = \frac{I}{I_0} \quad A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T$$

吸光度(A)は, 液の濃度(c)及び液層の長さ(l)に比例する。

$$A = kcl \quad (k \text{は定数})$$

l を1cm, c を1w/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1cm, c を1mol/Lに換算したときの吸光度を分子吸光係数(E)という。

吸収の極大波長における分子吸光係数は, E_{\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Eを求める場合は、次式による。

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

ただし、 l ：液層の長さ(cm)

a ：測定で得た吸光度

$c(\%)$ ：液の濃度(w/v%)

$c(\text{モル})$ ：液の濃度(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。

装置及び操作法

測定装置として光電分光光度計を用いる。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グステンランプ、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。

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。

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。

17. 色価測定法

色価測定法は、吸光度を測定することにより、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し、必要があれば表に示される希釈倍率に従って正確に希釈する。

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1cm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。

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

ただし、F：測定吸光度が、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	希釈液量(ml)	F
20	0.25	約0.5	0.25g→100ml	100	1
50	0.10	0.5	0.1g→100ml	100	1
100	0.05	0.5	0.5g→100ml→10ml→100ml	1,000	10
200	0.03	0.6	0.6g→100ml→5ml→100ml	2,000	20
400	0.015	0.6	0.3g→100ml→5ml→100ml	2,000	20
500	0.01	0.5	0.2g→100ml→5ml→100ml	2,000	20
700	0.01	0.7	0.2g→100ml→5ml→100ml	2,000	20
800	0.00625	0.5	0.25g→100ml→5ml→200ml	4,000	40
900	0.005	0.45	0.2g→100ml→5ml→200ml	4,000	40
1,000	0.006	0.6	0.3g→100ml→5ml→250ml	5,000	50
1,500	0.003	0.6	0.4g→100ml→5ml→50ml→5ml→50ml	10,000	100
2,000	0.003	0.6	0.3g→100ml→5ml→50ml→5ml→50ml	10,000	100
2,500	0.002	0.5	0.2g→100ml→5ml→50ml→5ml→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。

18. 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 μ g/g以下(1.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液2.0ml)」とあるのは、本品1.0g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 μ 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) 2ml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) 2ml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2ml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2ml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10ml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。更に酢酸(1→20) 2ml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2ml、硫酸5滴及び塩酸2ml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。更に別に規定する量の鉛標準液、酢酸(1→20) 2ml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、石英製又は磁製のるつぼに入れ、初めは注意して弱く加熱し、次に強熱して灰化する。冷後、王水1ml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10ml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) 2mlを加え、必要がある場合はろ過し、水10mlで洗い、ろ液及び洗液をネスラー管に入れ、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王水1ml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50ml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、石英製又は磁製のるつぼに入れ、硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1→10) 10mlを加えて混和し、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱して炭化する。冷後、硫酸1ml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3ml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10ml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。更に、酢酸(1→20) 2ml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マグネシウムのエタノール溶液(1→10) 10mlをとり、エタノールに点火して燃焼させる。冷後、硫酸1ml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。更に、別に規定する量の鉛標準液、酢酸(1→20) 2ml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。

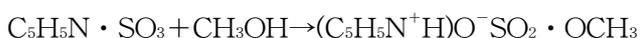
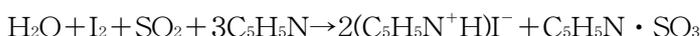
(2) 試験

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、上方及び側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。

19. 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から、電解に要した電気量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(0.5g, 逆滴定)」とあるのは、試料約0.5g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2本の白金電極を浸し、可変抵抗器を適当に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なり変化し、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)。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、ミリボルトメーター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りように判別できる。

(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る。次に、別に規定するもののほか、水分10～50mg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、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。

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

(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20mlを乾燥滴定フラスコに入れ、水分測定用試液を加える。次に、水分10～50mg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。

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

ただし、 f : 水分測定用試液の1mlに対応する水(H₂O)のmg数

f' : 水・メタノール標準液1ml中の水(H₂O)のmg数

2. 電量滴定法

装 置

通例、ヨウ素発生用電解槽、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。

(1) 調製法1

水分測定用陽極液 水分測定用イミダゾール102gを水分測定用メタノール900ml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64gに達したとき、ヨウ素12g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1,000 mlとする。

水分測定用陰極液 塩酸ジエタノールアミン24gを水分測定用メタノール100ml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40g及びジエタノールアミン30gを水分測定用メタノール約200mlに溶かし、乾燥した二酸化硫黄を増量が25gになるまで通じる。炭酸プロピレン50mlを加え、ヨウ素6gを溶かした後、水分測定用メタノールを加えて500ml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30gを水分測定用メタノールに溶かし100ml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100g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) 900ml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64gに達したとき、ヨウ素20g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25gを水分測定用メタノール/ニトロメタン混液(4:1) 1,000ml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1~5mg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、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。

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。

$$\text{水分(H}_2\text{O)} = \frac{\text{ヨウ素の発生に要した電気量(C)}}{10.72 \times \text{試料の採取量(mg)}} \times 100(\%)$$

20. 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4,000~600 cm^{-1} の赤外線が試料を通過するときに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、横軸に波数(cm^{-1})を、縦軸に透過率(%)又は吸光度をとったグラフで示す。

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 $4,000\sim 2,000\text{cm}^{-1}$ 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。

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 $4,000\sim 600\text{cm}^{-1}$ 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 $2,870\text{cm}^{-1}$ 付近の極小と $2,850\text{cm}^{-1}$ 付近の極大における透過率(%)の差は18%以上である。また、 $1,589\text{cm}^{-1}$ 付近の極小と $1,583\text{cm}^{-1}$ 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^{-1})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、 $1,601.2\text{cm}^{-1}$ における吸収波数が $1,601.2\pm 2.0\text{cm}^{-1}$ 、 $1,028.3\text{cm}^{-1}$ における吸収波数が $1,028.3\pm 2.0\text{cm}^{-1}$ 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 $3,000\sim 1,000\text{cm}^{-1}$ 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 $3,000\text{cm}^{-1}$ 付近で 5cm^{-1} 以内、 $1,000\text{cm}^{-1}$ 付近で 1cm^{-1} 以内とする。

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。試料は主な吸収帯の透過率が5~80%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1~2mgをめのう製乳鉢で粉末とし、これに赤外吸収スペクトル

用臭化カリウム0.10～0.20g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、0.67kPa以下の減圧下に錠剤の単位面積(cm^2)当たり50～100kN(5,000～10,000kg)の圧力を5～8分間加えて透明な錠剤を製する。通例、同様にして対照臭化カリウム錠剤を製する。

- (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、0.1mm又は0.5mmとする。
- (3) ペースト法 固体試料5～10mgをめものう製乳鉢で粉末とし、流動パラフィン1～2滴を加えてよく練り合わせ、試料ペーストを製する。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、別の窓板で挟んで測定する。
- (4) 液膜法 液体試料1～2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。
- (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、測定する。
- (6) 気体試料測定法 排気した5～10cm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入れて測定する。必要に応じて1m以上の光路をもつ長光路セルを用いることもある。

21. 濁度試験法

濁度試験法は、成分規格・保存基準各条の溶状の項に定めた溶媒に対する溶解性を科学的、客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、物質固有の性状、不純物の存在など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、「ほとんど澄明(1.0g, 水20ml)」とあるのは、本品1.0gを量り、水20mlを加えて溶かした液は、ほとんど澄明であることを示す。

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内で調製し、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%デキストリン溶液0.2ml及び2w/v%硝酸銀溶液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。

ほとんど透明 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%デキストリン溶液0.2ml及び2w/v%硝酸銀溶液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%デキストリン溶液0.2ml及び2w/v%硝酸銀溶液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%デキストリン溶液0.2ml及び2w/v%硝酸銀溶液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%デキストリン溶液0.2ml及び2w/v%硝酸銀溶液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、上方及び側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。

22. 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

あらかじめのつば形ガラスろ過器(1G4)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2.0g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

試料約0.1gを精密に量り、水に溶かして正確に100mlとし、検液とする。別に塩化物イオン及び

硫酸イオンの標準原液それぞれ0.2ml, 1ml, 10ml及び50ml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, 標準液及び標準原液をそれぞれ20 μ l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又はピーク面積を測定し, 検量線を作成する。次に検液の塩化物イオン及び硫酸イオンのピーク高さ又はピーク面積を測定し, 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。

操作条件

検出器 電気伝導度計

カラム充てん剤 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剤を充てんしたもの。

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(pH4.0)

カラム温度 40℃

流量 1.5 ml/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0.03gを精密に量り, 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, 1ml, 10ml及び50ml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, 標準液及び標準原液をそれぞれ100 μ l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又はピーク面積を測定し, 検量線を作成する。次に検液のヨウ化物イオンのピーク高さ又はピーク面積を測定し, 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0.05gを精密に量り, 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0.5ml, 1ml, 10ml及び50ml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, 標準液及び標準原液をそれぞれ20 μ l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又はピーク面積を測定し, 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又はピーク面積を測定し, 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20 μ g/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20 μ g/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2.5gを量り、白金製、石英製又は磁製のるつぼに入れ、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℃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℃で乾燥後、白金製のるつぼに入れ、約450℃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。

6. ヒ素

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 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_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下であることを示す。

操作法

試料0.50gを正確に量り、石英製又は磁製のろつぼに入れ、これに硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1→50) 20ml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 $450\sim 550^\circ\text{C}$ で灰化する。なお炭化物が残るときは、少量の硝酸で潤し、再び強熱して $450\sim 550^\circ\text{C}$ 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、水浴上で加温して溶かし、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及び水を加えて25mlとし、比較液とする。検液及び比較液につきヒ素試験法の装置Cを用いる方法により試験を行うとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。

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0.10gを正確に量り、水に溶かして100mlとし、検液とする。検液 $2\mu\text{l}$ 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) 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0.30gを量り、水に溶かして100mlとし、この液10mlを量り、水を加えて100mlとして検液とし、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30cm上昇したとき展開をやめる。
- (4) 試料0.10gを量り、水に溶かして200mlとして検液とし、(1)と同様に行う。

8. 副成色素

別に規定する量の試料を精密に量り、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0.0100gを量り、別に規定した溶液に溶かして正確に100mlとし、標準原液とする。これらの標準原液1ml, 2ml, 5ml及び10mlを正確に量り、標準原液の調製に用いた溶液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 μ l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 可視吸光光度計(測定波長 成分規格・保存基準各条に規定)
カラム充てん剤 5 μ 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 30 $^{\circ}$ C
流量 1ml/分

9. 未反応原料及び反応中間体

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を量り、別に規定した溶液に溶かして正確に100mlとし、標準原液とする。これらの標準原液1ml, 2ml, 5ml及び10mlを正確に量り、標準原液の調製に用いた溶液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 μ l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。

操作条件

検出器 紫外吸光光度計(測定波長 成分規格・保存基準各条に規定)
カラム充てん剤 5 μ 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 30 $^{\circ}$ C
流量 1ml/分

10. 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2.0gを量り、水100ml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。酢酸エチル抽出液を合わせ、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を、塩酸(3→10) 10mlで3回抽出し、塩酸抽出液を合わせ、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。試料液10mlを正確に試験管にとり、10分間水中で冷やし、臭化カリウム溶液(1→2) 1ml及び亜硝酸ナトリウム溶液(1→30) 0.05mlを加えて混和し、10分間水中で放置する。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1ml及び無水炭酸ナトリウム溶液(1→10) 10mlを入れた25mlのメスフラスコに、水で洗い移して正確に25mlとし、15分間暗所で放置し、検液とする。別に、アニリン0.010gを量り、塩酸(3→10) 30mlに溶かし、更に水を加えて正確に100mlとする。この溶液2mlを正確に量り、塩酸(3→10) 30mlを加えて、更に水を加えて正確に100mlとし、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10mlを25mlのメスフラスコに正確にとり、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1ml及び無水炭酸ナトリウム溶液(1→10) 10mlを入れ、水を加えて正確に25mlとし、対照液とする。比較液測定の場合は、塩酸(3→10) 3ml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1ml及び無水炭酸ナトリウム溶液(1→10) 10mlを入れ、水を加えて正確に25ml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 -ナフチルアミンとして1.0 $\mu\text{g/g}$ 以下(タール色素試験法)」とあるのは、次の方法によるとき、 α -ナフチルアミンが1.0 $\mu\text{g/g}$ 以下であることを示す。

操作法

試料約1g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°C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 α -ナフチルアミン0.010g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1ml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1ml, 2ml, 5ml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。検液及び標準液をそれぞれ100 μl 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 α -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 α -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 α -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(測定波長 304nm)

カラム充てん剤 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4.6 mm, 長さ15cmのステンレス管

カラム温度 40°C

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。

流量 1ml/分

- (3) 本試験法を用いる場合において、例えば、「*p*-クレシジンとして10 μ 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、*p*-クレシジンが10 μ g/g以下であることを示す。

操作法

試料約1g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0.100g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1ml, 2ml, 5ml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。検液及び標準液をそれぞれ100 μ l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*-クレシジンとして求める。

操作条件

検出器 紫外吸光光度計(測定波長 290nm)

カラム充てん剤 5 μ 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15cmのステンレス管

カラム温度 40℃

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。

流量 1ml/分

11. 定量法

(1) 三塩化チタン法

- (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15g及び水を加えて約200mlとし、この液中に二酸化炭素を通じながら、かつ同時に激しく煮沸しながら0.1mol/L三塩化チタン溶液で滴定する。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の代わりに酒石酸水素ナトリウム15gを用いて(i)と同様に行う。
- (iii) クエン酸ナトリウムの代わりに酒石酸水素ナトリウム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SF黄口溶液(1→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の代わりに酒石酸ナトリウム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 あらかじめめるつぼ形ガラスろ過器(1G4)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、

煮沸した後、塩酸(1→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、水浴上で約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→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。

23. 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

あらかじめろつぼ形ガラスろ過器(1G4)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、上澄液を先のろつぼ形ガラスろ過器でろ過する。容器内の不溶物は水約30mlを用いてろ過器に移し、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0.06gを精密に量り、水10ml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、ろ液を検液とする。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、標準液及び標準原液をそれぞれ100 μ l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。まずそれぞれの標準液及び標準原液のヨウ化物イオンのピーク高さ又はピーク面積を測定し、検量線を作成する。次にヨウ化物イオンのピーク高さ又はピーク面積を測定し、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剤を充てんしたもの。

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(pH4.0)

カラム温度 40℃

流量 1.5ml/分

3. 重金属

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「Znとして50 μ g/g以下(タール色素レーキ試験法、重金属(1))」とあるのは、次の(1)の方法によるとき、重金属が、Znとして50 μ g/g以下であることを示す。

操作法

試料2.5gを量り、石英製又は磁製のるつぼに入れ、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、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℃で灰化するまで強熱し、放冷する。これに塩酸5ml及び硝酸1mlを加えて塊を十分に碎き、水浴上で蒸発乾固する。更に、塩酸5mlを加えて塊を十分に碎き、再度水浴上で蒸発乾固する。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、水浴上で蒸発乾固する。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5ml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。

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10.0ml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10.0ml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) 鉄 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、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

- (3) その他の重金属 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(1→10)を加えて約pH 4とした後、水を加えて50mlとし、検液とする。別に空試験液20ml及び鉛標準液2.0ml

を量り、ネスラー管に入れ、検液の場合と同様に操作して、比較液とする。両液に硫化ナトリウム試液2滴ずつを加えて振り混ぜ、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. 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 $\mu\text{g/g}$ 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、バリウムが、Baとして500 $\mu\text{g/g}$ 以下であることを示す。

操作法

試料約1g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。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とし、比較液とする。検液及び比較液につき、誘導結合プラズマ発光強度測定法により試験を行うとき、検液の発光強度は、比較液の発光強度以下である。

5. ヒ素

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「As₂O₃として4.0 $\mu\text{g/g}$ 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、As₂O₃として4.0 $\mu\text{g/g}$ 以下であることを示す。

操作法

試料0.50gを量り、石英製又は磁製のるつぼに入れ、これに硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1→10) 20ml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450～550℃で灰化する。なお炭化物が残る場合は、少量の硝酸で潤し、再び強熱して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、水浴上で加熱し、冷後、水を加えて25mlとし、検液とする。別に、ヒ素標準液2.0ml及び水を加えて25mlとし、比較液とする。検液及び比較液につき、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、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。

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 μl 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、500mlの広口三角フラスコに入れ、硫酸(1→20) 20mlを加え、よく振り混ぜた後、熱湯50mlを加え、加熱して溶かす。更に熱湯150mlを加えた後、クエン酸ナトリウム15gを加え、この液中に二酸化炭素を通じながら、かつ同時に激しく煮沸しながら0.1mol/L三塩化チタン溶液で滴定する。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の代わりに酒石酸水素ナトリウム15gを用いて(1)と同様に行う。
- (3) クエン酸ナトリウムの代わりに酒石酸水素ナトリウム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(1→1,000) 10mlを用い、別に空試験を行い補正する。

24. 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分解し、硫酸アンモニウムとし、そのアンモニアを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0.02~0.03g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5g、硫酸銅0.5g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容量が留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(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，液の赤紫色が微灰黄色を経て微灰緑色になるときとする。別に空試験を行い補正する。

0.05mol/L硫酸1ml=1.401mg N

(2) セミマイクロケルダール法

装 置

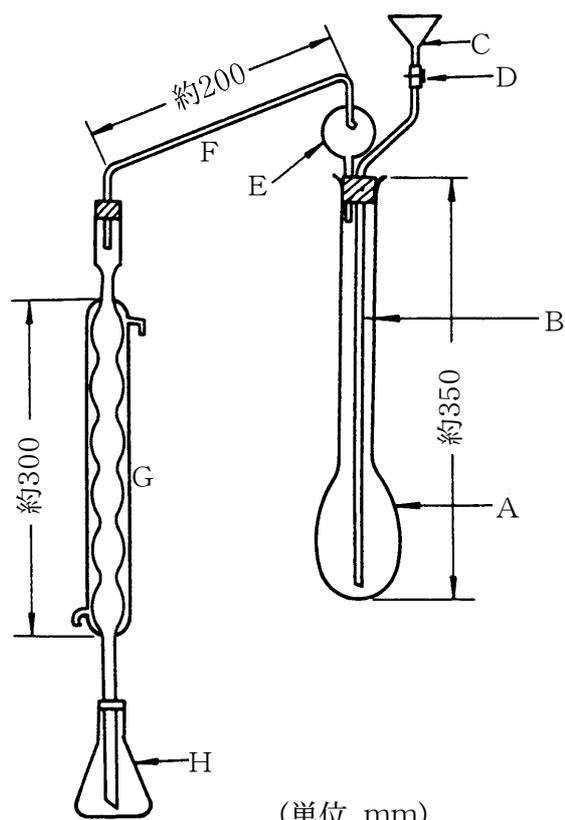
総硬質ガラス製で，その概略は次の図による。ただし，接続部は，すり合わせにしてもよい。装置に用いるゴムは，すべて水酸化ナトリウム溶液(1→25)中で10～30分間煮沸し，次に水中で30～60分間煮沸し，最後に水でよく洗ってから用いる。

- 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，斜めに切ってある。)
- K：吸収用フラスコ

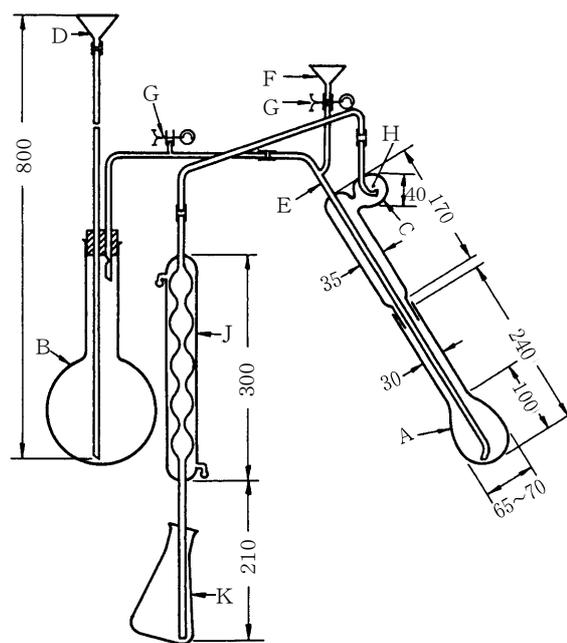
操 作 法

別に規定するもののほか，窒素2～3mgに対応する量の試料を精密に量り，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10gと硫酸銅1gの混合物の粉末1g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7mlを加える。

次にAを振り動かしながら，過酸化水素1ml



(単位 mm)



(単位 mm)

を少量ずつ内壁に沿って注意して加える。Aをセラミック金網又はセラミック板上で加熱し、液が青色澄明となり、Aの内壁に炭化物を認めなくなった後、更に1～2時間加熱を続ける。必要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20mlを注意しながら加えて冷却する。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。吸収用フラスコKにはホウ酸溶液(1→25) 15ml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) 30mlを加え、注意して水10ml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80～100ml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、0.005mol/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。

0.005mol/L硫酸1ml=0.1401mg N

25. 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。

亜鉛塩

- (1) 亜鉛塩の中性～アルカリ性の溶液に硫化ナトリウム試液を加えるとき、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フェロシアン化カリウム溶液(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) 5mlに塩酸(1→4) 5ml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) 5mlに過マンガン酸カリウム溶液(1→300) 0.1mlを加え、これに硫酸(1→20) 1ml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とき、特異なにおいのある黄褐色のガスを発生し、硫酸第一鉄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、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き、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121～123℃である。
- (2) 安息香酸塩の溶液(1→20)を中和し、塩化第二鉄溶液(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、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) 酢酸塩にエタノール及び少量の硫酸を加えて加熱するとき、酢酸エチルのにおいを発する。
- (3) 酢酸塩の溶液(1→20)を中和し、塩化第二鉄溶液(1→10)を加えるとき、液は赤褐色を呈し、煮沸するとき、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5mlに塩酸2ml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→1,000) 5mlに水酸化ナトリウム溶液(1→2,500) 1ml及びヨウ化カリウム試液0.2mlを加えるとき、液は黄色となり、これにデンプン試液0.5ml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) 5mlに過マンガン酸カリウム溶液(1→300) 0.1mlを加え、これに硫酸(1→20) 1ml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、あらかじめレゾルシン溶液(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5ml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を加えるとき、液は著しく紅色を呈する(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を加えるとき、液は紅色を呈さず、又は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

- (1) 第一鉄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

- (1) 第二鉄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

- (1) 第二銅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、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) 第二銅塩の溶液に新たに調製したフェロシアン化カリウム溶液(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。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。

26. 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 $10\mu\text{g/g}$ 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 $10\mu\text{g/g}$ 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・酢酸ナトリウム緩衝液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・酢酸ナトリウム緩衝液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0.5g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・酢酸ナトリウム緩衝液20mlを加えて検液とする。比較液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(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。

27. 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。

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。

別に規定する量の試料を量り、白金製又は石英製のるつぼに入れ、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 $450\sim 550^{\circ}\text{C}$ で灰化するまで強熱する。残留物に少量の硝酸(1→150)を加えて溶かし、更に硝酸(1→150)を加えて10mlとし、検液とする。

また、別に規定するもののほか、鉛標準液1.0mlを量り、硝酸(1→150)を加えて10mlとし、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。

操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

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℃

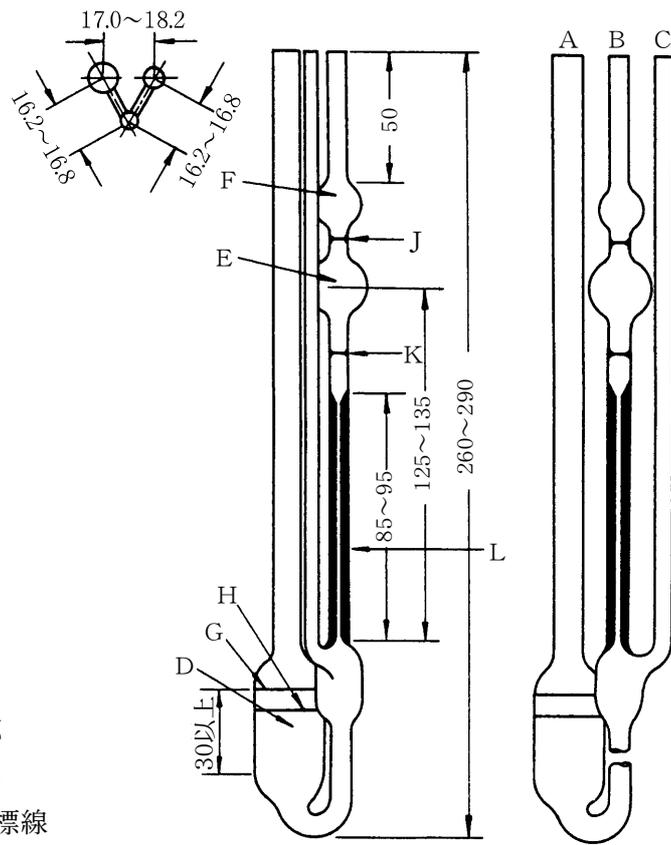
28. 粘度測定法

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(mm²/s)及びミリパスカル秒(mPa·s)を用いる。

第1法 毛細管粘度計法

装置

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、次の図に示すウペローデ型粘度計を用いる。



- 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

(単位 mm)

毛細管の内径と測定に適する動粘度の範囲との大体の関係を表に示す。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)	動粘度の範囲(mm ² /s)
0.56~0.60	2~ 10
0.75~0.79	6~ 30
0.85~0.89	10~ 50
1.07~1.13	20~ 100
1.40~1.46	60~ 300
1.61~1.67	100~ 500
1.92~1.98	200~ 1,000
2.63~2.71	600~ 3,000
3.01~3.11	1,000~ 5,000
3.58~3.66	2,000~ 10,000
4.68~4.88	6,000~ 30,000
5.33~5.55	10,000~ 50,000
6.41~6.67	20,000~ 100,000

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。

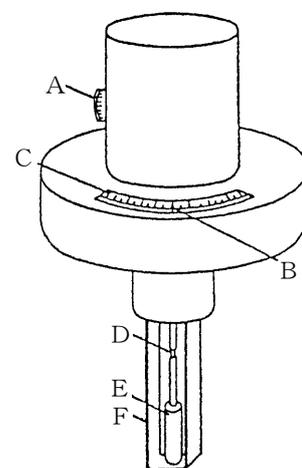
$$\nu = kt$$

ただし、kは、粘度計の定数であり、あらかじめ蒸留水又は粘度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

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、1,500～2,500mPa·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1,500～2,500mPa·sであることを示す。また、成分規格・保存基準各条で30,000～40,000mPa·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30,000～40,000mPa·sであることを示す。

回 転 数 ローターの種類	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	1,000

29. 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。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を用いて10mm以上の間隔で、スポットの直径が約3mm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。

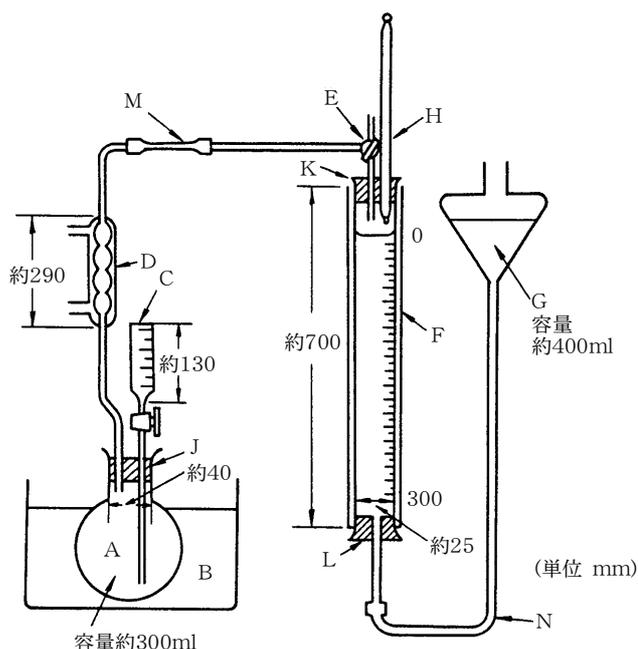
30. 発生ガス測定法

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1ml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100gを量り、水350mlを加えて溶かし、炭酸水素ナトリウム1g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100ml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。)2.0gを和紙に包んで投入し、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)20ml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℃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℃を読み取る。次式により標準状態における発生ガス量V₀(ml)を求める。別に空試験値v(ml)を求め補正する。

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

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)

31. pH測定法

pHは、ガラス電極によるpH計を用いて測定する。

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。

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

pH_s : 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_s : 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2.3026RT/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°C	0.05519	35°C	0.06114
10°C	0.05618	40°C	0.06213
15°C	0.05717	45°C	0.06313
20°C	0.05817	50°C	0.06412
25°C	0.05916	55°C	0.06511
30°C	0.06015	60°C	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(1.0g、水20ml)と規定する場合は、本品1.0g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、液性の基準として用いる。pH標準液の調製に用いる水は、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か月以内に使用する。

シュウ酸塩pH標準液 pH測定用四シュウ酸カリウムを粉末とし、デシケーターで乾燥した後、その12.71gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に1,000mlとする。

フタル酸塩pH標準液 pH測定用フタル酸水素カリウムを粉末とし、110°Cで恒量になるまで乾燥した後、その10.21gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に1,000mlとする。

リン酸塩pH標準液 pH測定用リン酸一カリウム及びpH測定用無水リン酸二ナトリウムを粉末とし、110°Cで恒量になるまで乾燥した後、リン酸一カリウム3.40g(0.025グラム分子量)及びリン酸二ナトリウム3.55gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に1,000mlとする。

ホウ酸塩pH標準液 pH測定用ホウ酸ナトリウムをデシケーター(水で潤した臭化ナトリウム)中に放置し、恒量とした後、その3.81gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に1,000ml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で恒量になるまで乾燥する。その2.10gを正確に量る。pH測定用炭酸ナトリウムを300～500℃で恒量になるまで乾燥し、その2.65gを正確に量る。両者を合わせ、水を加えて溶かし、正確に1,000ml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5gをフラスコに入れ、水1,000ml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。

温度	シュウ酸塩 pH標準液	フタル酸塩 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	9.46	10.32	13.43
5℃	1.67	4.01	6.95	9.39	10.25	13.21
10℃	1.67	4.00	6.92	9.33	10.18	13.00
15℃	1.67	4.00	6.90	9.27	10.12	12.81
20℃	1.68	4.00	6.88	9.22	10.07	12.63
25℃	1.68	4.01	6.86	9.18	10.02	12.45
30℃	1.69	4.01	6.85	9.14	9.97	12.30
35℃	1.69	4.02	6.84	9.10	9.93	12.14
40℃	1.70	4.03	6.84	9.07		11.99
50℃	1.71	4.06	6.83	9.01		11.70
60℃	1.73	4.10	6.84	8.96		11.45

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、検出された起電力に対応するpHを指示する指示部からなる。指示部には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±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計は、電源を入れて5分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。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、リン酸塩pH標準液に浸し、非対称電位調整用つまみを用いて液性を一致させ、次に試料の液のpH値に近いpH標準液に浸し、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みを用いて同様に操作する。

以上の調整が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取った後、試料の液に浸し、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、誤差が大きいため、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) 試料の液の温度は、pH標準液の温度と等しいことが望ましい。

32. 比重測定法

比重とは、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_t^t)とは、試料と蒸留水とのそれぞれ t °C、 t °Cにおける等体積の質量比をいい、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°Cにおける等体積の質量比(d_{20}^{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10～100mlの瓶で、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(W)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 °C)より1～3°C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(W_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 °C)における質量(W_2)を精密に量り、次式により比重(d_t^t)を求める。

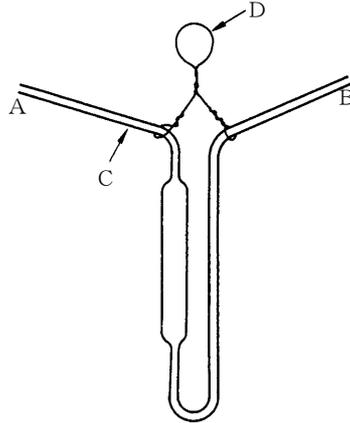
$$d_t^t = \frac{W_1 - W}{W_2 - W}$$

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1～10ml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(W)を精密に量る。次に規定温度より3～5°C低くした試料中に標線のない方の細管Bを浸し、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 °C)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(W_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 °C)における質量(W_2)を精密に量り、次式により比重(d_t^t)を求める。

$$d_t^t = \frac{W_1 - W}{W_2 - W}$$



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、泡がなくなつ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 °Cにおいて二種類の標準物質(密度 ρ_{s1} 、 ρ_{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 ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{s}^{-2}$)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 °Cにおける水の密度 ρ_{s1}^t は別表より求め、乾燥空気の密度 ρ_{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。

$$\rho_{s2}^t = 0.0012932 \times \{273.15 / (273.15 + t)\} \times (p / 101.325)$$

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 ρ_{s1}^t を用い、次式より試料の密度 ρ_T^t を求めることができる。

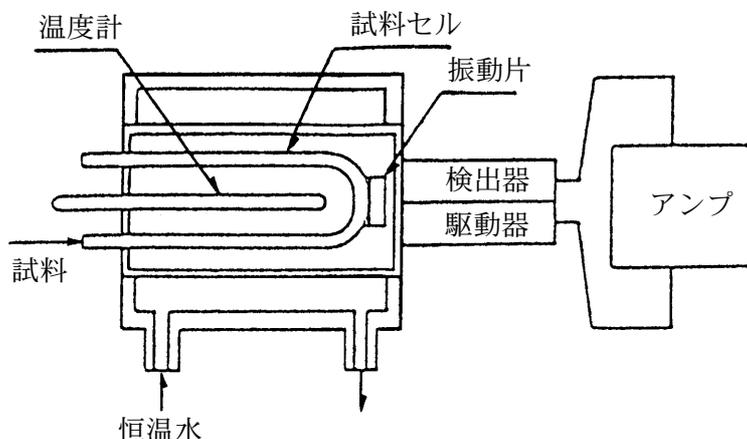
$$\rho_T^t = \rho_{s1}^t + K_t (T_T^2 - T_{s1}^2)$$

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 ρ_{s1}^t を用いて次式より求められる。

$$d_t^t = \rho_T^t / \rho_{s1}^t$$

装 置

振動式密度比重計は、通例、内容積約1ml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' ℃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、水の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_f 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 ρ_{s1}^t 並びに試料セル定数 K_f より、試料の密度 ρ_T^t を求める。また、必要があれば、温度 t ℃の水に対する試料の比重 d_t^t は、表に示した水の密度 ρ_{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 ³)						
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

33. 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)及び大腸菌試験が含まれる。試験を行うに当たっては、外部からの微生物汚染が起こらないように、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、試料として試験を行う。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、寒天平板混釈法、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。ただし、試料の性質によっては、これと異なる量のものを使用しなければならない場合がある。試料液は、pH6～8に調整する。試料液は調製後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。

操作法

(1) 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0.45 μ m以下の適当な材質のものを使用する。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。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枚のフィルターで10 ml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枚のフィルター当たり10～100個の集落が出現す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、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・グリセロール(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。一希釈段階につき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・グリセロール(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1,000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。

下記の量の試料を加えた場合に 微生物の増殖が観察された試験管の数			試料1g又は1ml 当たりの微生物 の最確数	最確数の95% 信頼限界
試験管当たり 0.1g又は0.1ml	試験管当たり 0.01g又は0.01ml	試験管当たり 1mg又は1 μ l		
0	0	0	<3	0-9.4
0	0	1	3	0.1-9.5
0	1	0	3	0.1-10
0	1	1	6.1	1.2-17
0	2	0	6.2	1.2-17
0	3	0	9.4	3.5-35
1	0	0	3.6	0.2-17
1	0	1	7.2	1.2-17
1	0	2	11	4-35
1	1	0	7.4	1.3-20
1	1	1	11	4-35
1	2	0	11	4-35
1	2	1	15	5-38
1	3	0	16	5-38
2	0	0	9.2	1.5-35
2	0	1	14	4-35
2	0	2	20	5-38
2	1	0	15	4-38
2	1	1	20	5-38
2	1	2	27	9-94
2	2	0	21	5-40
2	2	1	28	9-94
2	2	2	35	9-94
2	3	0	29	9-94
2	3	1	36	9-94
3	0	0	23	5-94
3	0	1	38	9-104
3	0	2	64	16-181
3	1	0	43	9-181
3	1	1	75	17-199
3	1	2	120	30-360
3	1	3	160	30-380
3	2	0	93	18-360

3	2	1	150	30-380
3	2	2	210	30-400
3	2	3	290	90-990
3	3	0	240	40-990
3	3	1	460	90-1,980
3	3	2	1,100	200-4,000
3	3	3	>1,100	

培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験

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* (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を用い、30～35℃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・ブドウ糖ブロス又はサブロー・ブドウ糖寒天培地を用い、20～25℃で2～3日間、*A. niger* 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を用い、20～25℃で5～7日間培養する。

培養液の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を調製する。*A. niger* の胞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* は安定な胞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. 大腸菌試験

本試験は、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。

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。

試験の手順

試料液10ml(試料1g又は1ml相当量)を量り、乳糖ブイヨン培地又はBGLB培地を加えて100mlとし、30～35℃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、マッコンキー寒天培地上に塗抹し、30～35℃で18～24時間培養する。周囲に赤味がかか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、

30～35℃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, フォーゲス・プロスカウエル試験及びクエン酸利用試験)及び44.5℃での生育試験を行い, IMViC試験のパターンが「++-」で44.5℃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。

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, 乳糖ブイヨン培地, 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, 乳糖ブイヨン培地等を用いて, 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。

3. 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。

(1) 緩衝液

(i) リン酸緩衝液(pH7.2)

保存溶液: リン酸一カリウム34gを水約500mlに溶かす。水酸化ナトリウム試液約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。高圧蒸気滅菌後, 冷所で保存する。用時, 保存溶液を800倍に希釈し, 121℃で15～20分間滅菌して用いる。

(ii) ペプトン食塩緩衝液(pH7.0)

リン酸一カリウム	3.56g
リン酸二ナトリウム	18.23g
塩化ナトリウム	4.30g
ペプトン	1.0g
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pH6.9～7.1。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。

(2) 培地

(i) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地

カゼイン製ペプトン	15.0g
ダイズ製ペプトン	5.0g
塩化ナトリウム	5.0g
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pH7.1～7.5。

(ii) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

カゼイン製ペプトン	17.0g
ダイズ製ペプトン	3.0g
塩化ナトリウム	5.0g
リン酸二カリウム	2.5g
ブドウ糖	2.5g
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pH7.1～7.5。

(iii) 抗生物質添加サブロー・ブドウ糖寒天培地

ペプトン(肉製品及びカゼイン製)	10.0g
ブドウ糖	40.0g
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

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。滅菌後の液性はpH5.4～5.8。

(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
リン酸一カリウム	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分間高压蒸気滅菌する。

(viii) ジクロラン・グリセロール(DG18)寒天培地

ペプトン	5.0g
ブドウ糖	10.0g
リン酸一カリウム	1.0g
硫酸マグネシウム	0.5g
ジクロラン	2.0mg
グリセロール	220.0g
寒天	15.0g
クロラムフェニコール	0.10g
水	1,000ml

グリセロール及びクロラムフェニコール以外の成分を混和し、加温溶解後、グリセロール及び6ml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分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH5.4～5.8。

(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分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH6.7～7.1。滅菌後はできるだけ速やかに冷却する。

(x) 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	10.0g
乳糖	10.0g
ウシ胆汁末	20.0g
ブリリアントグリーン	0.0133g
水	1,000ml

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pH7.0～7.4。

(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分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH6.9～7.3。

(xii) 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	10.0g
リン酸二カリウム	2.0g
乳糖	10.0g
寒天	15.0g
エオシン	0.40g
メチレンブルー	0.065g
水	1,000ml

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pH6.9～7.3。

34. 比旋光度測定法

旋光度は、光学的活性物質又はその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 α_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℃で測定したときの旋光度を意味し、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℃、層長は100mm、光線はナトリウムスペクトル中のD線で測定した旋光度 α_D^{20} を示す。

比旋光度 $[\alpha]_x^t$ は、次の式で表す。

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

ただし、t : 測定時の温度

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

α : 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(mm)

c : 測定した液1ml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, 「 $[\alpha]_D^{20} = +20.5 \sim +21.5^\circ$ (1g, 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1g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。

35. 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_2O_3)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_2O_3 として $4.0 \mu g/g$ 以下(0.25g, 第1法, 装置A)」とあるのは, 本品0.25gを量り, 試料とし, 第1法により検液を調製し, 装置Aを用いる方法により試験を行うとき, ヒ素が, As_2O_3 として $4.0 \mu g/g$ 以下であることを示す。

装置 A

概略は, 図1による。

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

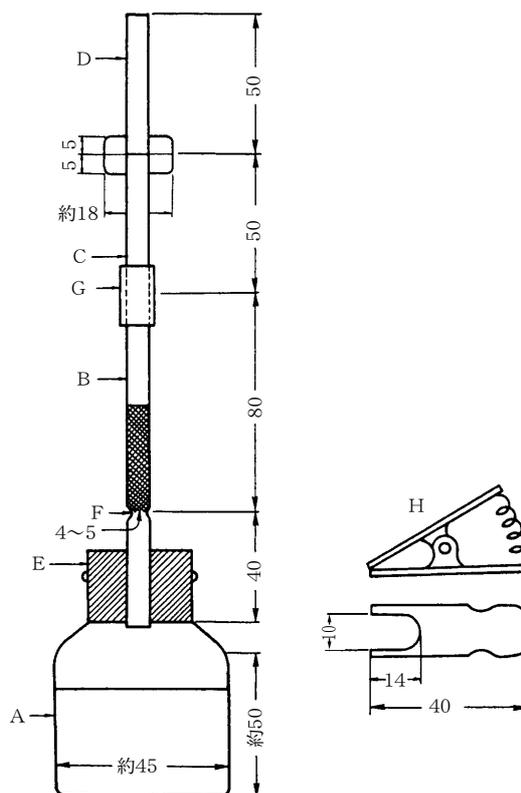
H : クリップ

ガラス管Bにはガラス繊維をF部から約30mmの高さまで詰め, 酢酸鉛試液及び水の等容量の混液で均等に潤し, 管の下端から静かに吸引してガラス繊維及び器壁から過量の液を除いておく。

使用の直前, ガラス管C及びDの接続部に臭化第二水銀紙を挟み, クリップHで両管を固定する。

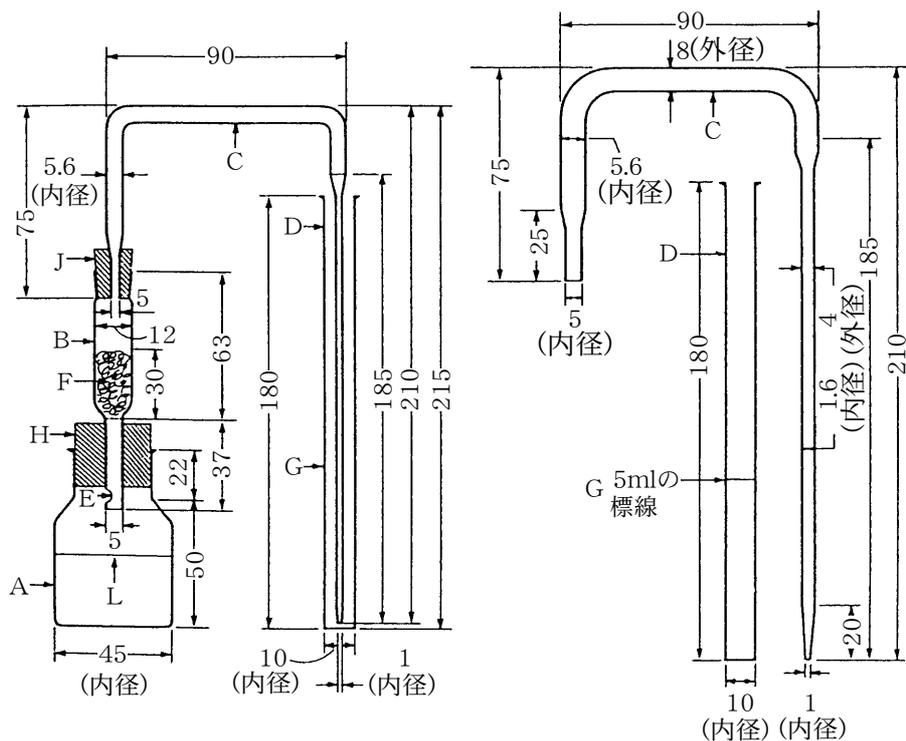
装置 B

概略は, 図2による。



(単位 mm)

図1



(単位 mm)

図2

- A : 発生瓶(肩までの容量約70ml)
- B : 排気管
- C : ガラス管(内径5.6mm, 吸気管に入れる部分は先端を内径1mmに引き伸ばす。)
- D : 吸気管(内径10mm)
- E : 小孔
- F : ガラス繊維(約0.2g)
- G : 5mlの標線
- H及びJ : ゴム栓
- L : 40mlの標線

排気管Bに約30mmの高さにガラス繊維Fを詰め、酢酸鉛試液及び水の等容量混液で均等に潤した後、下端から弱く吸引して、過量の液を除く。これをゴム栓Hの中心に垂直に差し込み、Bの下部の小孔Eは下にわずかに突きでるようにして発生瓶Aに付ける。Bの上端にはガラス管Cを垂直に固定したゴム栓Jを付ける。Cの排気管側の下端はゴム栓Jの下端と同一平面とする。

装置 C

概略は、図3による。

- A : 定量ポンプ
- B₁, B₂ : 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

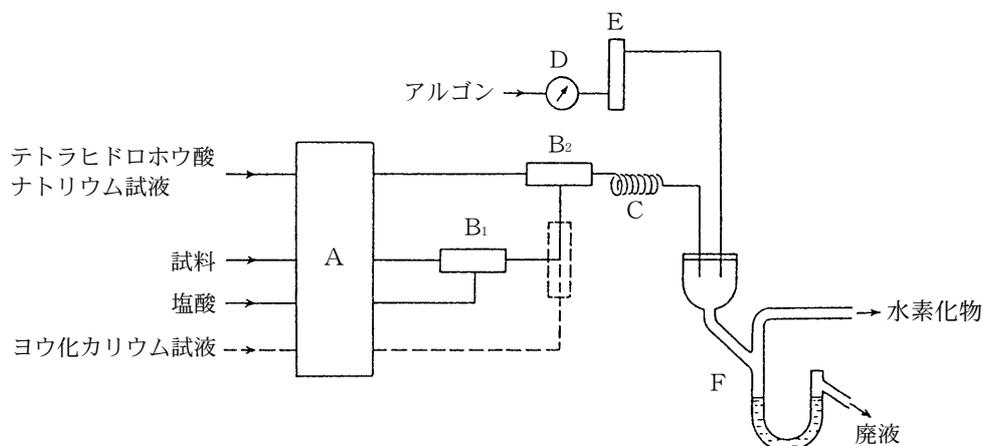


図3

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5ml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5ml及び硫酸1ml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10ml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2mlとなるまで蒸発し、水を加えて5ml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、硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1→50) 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のエタノール溶液(1→50)で潤し、再び強熱して450～550℃で灰化する。冷後、残留物に塩酸3mlを加え、水浴上で加温して溶かし、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、硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1→10) 10mlを加え、エタノールに点火して燃焼させた後、徐々に加熱した後、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のエタノール溶液(1→50)で潤し、再び強熱して、450～550℃で灰化する。冷後、残留物に塩酸3mlを加え、水浴上で加温して溶かし、検液とする。

(2) 試験

別に規定するもののほか、次の方法による。

(i) 装置Aを用いる方法 検液を発生瓶に入れ、ブ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、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5mlを加えて室温で10分間放置したのち、次に水を加えて40mlとし、無ヒ素亜鉛2g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5mlを入れた吸尿管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。吸尿管をはずし、必要があればピリジンを加えて5ml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、ヒ素標準液2.0ml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を加えて2～3分間放置した後、酸性塩化第一スズ試液5ml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) 装置Cを用いる方法 検液4mlに塩酸1ml及びヨウ化カリウム溶液(1→10) 1mlを加え、水浴上70℃で4分間加温した後、水を加えて20mlとする。装置にアルゴンを流しながら、この溶液及び適当な濃度の塩酸(1～6mol/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1～10ml/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っては、検液を直接又は水で適当な濃度に希釈後、この溶液及び適当な濃度の塩酸(1～6mol/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、水素化ヒ素を発生させる。発生した水素化ヒ素と廃液を気液セパレータFで分離した後、水素化ヒ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の指示値を読むとき、その値は、比較液のものより大きくない。

ただし、比較液の調製は、検液の試験と同時に、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、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流量や、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。

36. 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には沸騰石又は毛細管を入れ、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をセラミック板(150mm×150mmの金網に厚さ6mmのセラ
ミックを固着し、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。

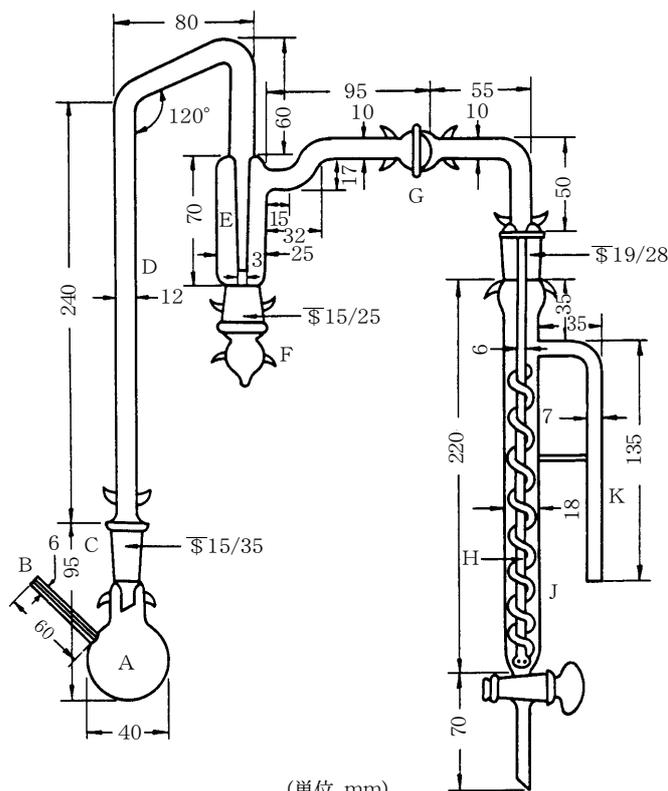
37. メトキシ基定量法

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



(単位 mm)

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(CH_3O ：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6ml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℃になるように加熱し、更に60分間煮沸する。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溶液(1→5) 10mlを入れた500ml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200ml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1mlを加える。次にヨウ化カリウム3g及び硫酸(1→20) 15ml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1ml)。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1ml=0.5172mg CH_3O

38. 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。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 粉末にしやすいもの

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

(1) 第1種物質の場合

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 $50\sim 100\text{mm}^2/\text{s}$ 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。)

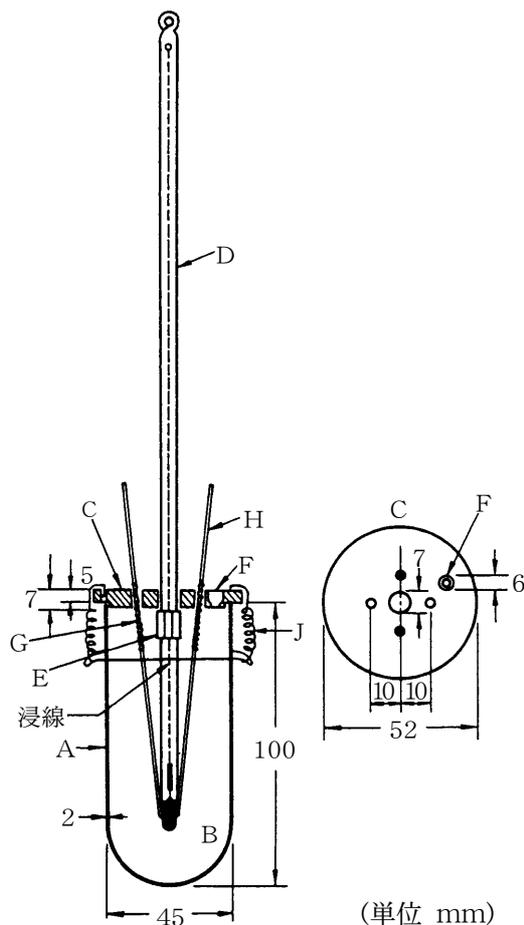
E：温度計固定ばね

F：浴液量加減用小孔

G：コイルスプリング

H：毛細管(内径 $0.8\sim 1.2\text{mm}$ 、長さ 120mm 、壁の厚さ $0.2\sim 0.3\text{mm}$ で一端を閉じた硬質ガラス製のものを用いる。)

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する。次に、この試料を毛細管Hに厚さ $2.5\sim 3.5\text{mm}$ の層となるようにできるだけ強く詰める。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°C 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°C 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°C 低い温度から1分間に 1°C 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、これを両端の開いた毛細管(第1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。この毛細管を約10℃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。

39. 誘導結合プラズマ発光強度測定法

誘導結合プラズマ発光強度測定法は、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から被検元素量(濃度)を測定する方法である。

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部からなる。励起源部は、試料を励起させ、発光させるための電気エネルギーを供給し制御する電源、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。試料導入部はネブライザー及び噴霧室からなる。発光部は、トーチ管及び高周波誘導コイル等からなる。分光部は集光計、回折格子等の分光器からなる。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、プラズマを点灯する。水銀ランプの発光線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妨げとならないものを用いる。

40. 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1g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1g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1gを精密に量り、三角フラスコに入れ、エタノール40ml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20ml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。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)

3. 酸 価

酸価とは、試料1g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/ジエチルエーテル混液(1:1) 50ml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滴を加え、0.1mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液で30秒間持続する紅色を呈するまで滴定し、次式により酸価を求める。ただし、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を指示薬として30秒間持続する紅色を呈するまで0.1mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液を加える。

$$\text{酸価} = \frac{0.1\text{mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液の消費量(ml)} \times 5.611}{\text{試料の採取量(g)}}$$

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

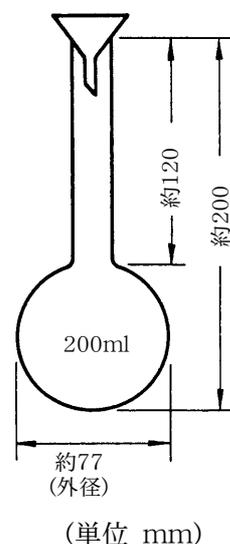
水酸基価とは、試料1gを次の条件でアセチル化するとき、水酸基と結合した酢酸を中和するに要する水酸化カリウム(KOH)のmg数である。

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0とみなしたとき水酸基価が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1gを精密に量り、図のような丸底フラスコに入れ、無水酢酸・ピリジン試液5mlを正確に量って加え、フラスコの口に小漏斗を載せ、95～100℃の油浴中に底部を約1cm浸



して1時間加熱する。冷後、水1ml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5mlで洗い込み、過量の酢酸を0.5mol/Lエタノール製水酸化カリウム溶液で滴定する(指示薬 フェノールフタレイン試液1ml)。別に空試験を行い、次式により水酸基価を求める。

$$\text{水酸基価} = \frac{(a-b) \times 28.05}{\text{試料の採取量(g)}} + \text{酸価}$$

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100g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に量り、500mlの共栓フラスコ中に容器と共に入れ、シクロヘキサン20mlを加えて溶かし、正確にウィイス試液25ml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) 20ml及び水100ml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1ml)。別に空試験を行い、次式によりヨウ素価を求める。

$$\text{ヨウ素価} = \frac{(a-b) \times 1.269}{\text{試料の採取量(g)}}$$

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液の消費量(ml)

表

ヨウ素価	試料の採取量
30未満	1.0 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

41. 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度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、「SO₄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_4 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) 1ml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) 1ml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) 1ml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溶液(3→25) 2ml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。

42. 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5ml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5ml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、上方及び側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。

43. 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。