装置

通例、自動ビュレット２本、滴定フラスコ（250mL）、かき混ぜ器及び定電圧電流滴定装置からなる。

カールフィッシャー試液は吸湿性が非常に強いため、装置は、外部からの吸湿を防ぐようにする。防湿には、シリカゲル又は塩化カルシウム（水分測定用）等を用いる。

試薬・試液

カールフィッシャー用メタノール　メタノール1,000mLにマグネシウム末５g（4.5～5.4g）を加え、水分吸収管（水分測定用塩化カルシウム）を付けた還流冷却器を取り付けて加熱し、必要ならば、塩化第二水銀0.1g（0.05～0.14g）を加えて反応を促進させる。ガスの発生が止んだ後、湿気を遮ってメタノールを蒸留し、湿気を避けて保存する。本品１mL中の水分は、0.5mg以下とする。

カールフィッシャー用ピリジン　ピリジンに水酸化カリウム又は酸化バリウムを加え、密栓し、数日間放置した後、そのまま湿気を遮って蒸留し、湿気を避けて保存する。本品１mL中の水分は、１mg以下とする。

カールフィッシャー試液

調製　ヨウ素63g（62.5～63.4g）をカールフィッシャー用ピリジン100mLに溶かし、氷冷し、乾燥二酸化イオウを通じ、その増量が32.3gに達したとき、二酸化イオウを通じることを止め、カールフィッシャー用メタノールを加えて500mLとし、24時間以上放置した後用いる。この試液は、日時の経過と共に変化するので、用時標定する。遮光して湿気を避け、冷所に保存する。

標定　操作法に従い、カールフィッシャー用メタノール25mLを乾燥滴定フラスコにとる。これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定して、フラスコ内を無水の状態にしておく。次に、水約50mgを0.1mgの桁まで量り、30秒以内に滴定フラスコに入れ、激しくかき混ぜながら、カールフィッシャー試液で終点まで滴定する。カールフィッシャー試液の１mLに対応する水（H_2O）のmg数fを次式により求める。

$$f=\frac{\text{水（}H_2O\text{）の採取量（mg）}}{\text{水（}H_2O\text{）の滴定に要したカールフィッシャー試液の量（mL）}}$$

水・メタノール標準液

調製　カールフィッシャー用メタノール500mLを1,000mLの乾燥全量フラスコに入れ、水2.0mLを加え、カールフィッシャー用メタノールを標線まで加えて1,000mLとする。

この標準液の標定は、カールフィッシャー試液の標定に続いて行う。遮光して湿気を避け、冷所に保存する。

標定　操作法に従い、カールフィッシャー用メタノール25mLを乾燥滴定フラスコにとる。これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定して、フラスコ内を無水の状態にしておく。次に、全量ピペットを用いてカールフィッシャー試液10mLを加え、調製した水・メタノール標準液で終点まで滴定する。水・メタノール標準液１mL中の水（H_2O）のmg数f′を次式により求める。

$$f'=\frac{f\times10}{\text{滴定に要した水・メタノールの標準液の量（mL）}}$$

操作法

カールフィッシャー試液による滴定は、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節して一定の電流（５～10マイクロアンペア）を流しておき、カールフィッシャー試液を滴加した場合、滴定が進むにつれて、回路中のマイクロアンメーターの針が大きく振れ、数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると、マイクロアンメーターの振れ（50～150マイクロアンペア）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。ただし、逆滴定の場合、カールフィッシャー試液が過量に存在する間はマイクロアンメーターの針が振り切れ、終点に達すると急に元の位置に戻る。マイクロアンメーターの代わりにマジックアイ付電位差計を用いてもよい。

カールフィッシャー試液による滴定は、別に規定する場合を除き、次のいずれかの方法によるものとする。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

別に規定する場合を除き、次の方法によるものとする。

カールフィッシャー用メタノール25mLを乾燥滴定フラスコに入れ、これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定して、フラスコ内を無水の状態にしておく。次に、水分10～50mgを含む量の試料を有効数字３桁まで量り、その数値を記録し、30秒以内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カールフィッシャー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、その質量を量り、30秒以内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。

$$\text{水（}H_2O\text{）}\%=\frac{\text{試液の滴定に要したカールフィッシャー試液の量（mL）}\times f}{\text{試料の量（mg）}}\times100$$

②　逆滴定

別に規定する場合を除き、次の方法によるものとする。

カールフィッシャー用メタノール25mLを乾燥滴定フラスコに入れ、これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定し、フラスコ内を無水の状態にしておく。次に、水分10～50mgを含む量の試料を有効数字３桁まで量り、その数値を記録し、30秒以内に滴定フラスコに入れ、過量のカールフィッシャー試液の一定量を加え、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら水・メタノール標準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、その質量を量り、30秒以内に滴定フラスコに入れ、過量のカールフィッシャー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滴定を行う。

$$\text{水（}H_2O\text{）}\%=\frac{\text{カールフィッシャー試液の量（mL）}\times f-\text{滴定に要した水・メタノール標準液の量（mL）}\times f'}{\text{試料の量（mg）}}\times100$$

⑱　生菌剤試験法

生菌剤試験法は、微生物学的方法又は化学的方法により試料中の生菌の同定を行う試験法である。この試験に使用する水、試薬・試液及び計量器・用器は、必要に応じ無菌のものを用いる。

培地の種類並びにその組成及びpH

別に規定する場合を除き、次の表に掲げる組成及びpHを有するものを使用する。ただし、培地の成分として単に「ペプトン」と記載してある場合は、カゼイン製ペプトンを用いても差し支えない。培地のpHの調整は、１mol/L水酸化ナトリウム試液又は１mol/L塩酸試液を用い、滅菌後のpHが所定のものとなるようにする。