試験

別に規定するものを除き、次の方法により試験を行う。

試料溶液３個以上をとり、原子吸光光度法（フレームレス方式（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、鉛標準液適量を全量ピペットを用いて量り、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を全量ピペットを用いて量り、100mLの全量フラスコに入れ、水を標線まで加えて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℃

⑵⑺　バイオオートグラフ法

バイオオートグラフ法は、ろ紙クロマトグラフ法又は薄層クロマトグラフ法を応用して分離した混合物中の力価を有する成分を、生物学的方法により、確認又はそのおおよその量を測定する方法とする。

操作法

ろ紙、薄層板、培養箱の形状、展開溶媒、常用標準希釈液、試料液、培地、試験菌液（又は試験胞子液）の調製、Rf値、移動距離、測定値、計算及び判定は、各条に規定する。

滅菌した培養箱に、培地及び試験菌液（又は試験胞子液）を加え、平板を作成する。これらの操作は、できる限り無菌的に行う。

ろ紙又は薄層板の原線を等間隔に４等分し、４区画になるよう垂直線を引く。各区画の原線の中央を原点とし、第１の区画から第３の区画までの各原点ごとに、各常用標準希釈液の高濃度のものから、順次５μLずつ、第４の区画の原点には、試料液５μLを、それぞれマイクロピペットを用いて点滴し、しみこませた後、風乾する。

このろ紙又は薄層板を、必要ならば、展開溶媒の気体で飽和した装置の中で30～60分間放置した後、展開溶媒を下降又は上昇させる。温度は、20～30℃とする。溶媒の下達線又は上達線が、ろ紙又は薄層板の下端又は上端より10～30mmに達したとき、展開を止め、ろ紙又は薄層板を取り出し、室温で放置し、溶媒を乾燥除去する。乾燥した後、ろ紙又は薄層板を区画線に沿って４等分し、必要ならば、不要部分を切り捨て、培養箱の培地上に、４切片のろ紙又は薄層板をそれぞれ約15mmの間隔で並べる。この際、ろ紙又は薄層板の各部と培地は、完全に接着するように注意して並べる。５～15分間接触させた後、ろ紙又は薄層板を取り去る。これらの操作は、雑菌が入らないよう注意して行う。培養箱は、32～37℃で17～20時間培養する。

⑵⑻　薄層クロマトグラフ法

薄層クロマトグラフ法は、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

通例、次の方法によるものとする。

薄層板は、50mm×200mm又は200mm×200mmの平滑で均一な厚さのガラス板に適当な器具を用いて、各条に規定する固定相固体の粉末を水で懸濁し、0.2～0.3mmの均一な厚さに塗布する。風乾した後、105～120℃の間の一定温度で30～60分間加熱、乾燥して調製する。ガラス板の代わりに適当なプラスチック板を使うことができる。薄層板は、湿気を避けて保存する。

操作法

別に規定する場合を除き、次の方法によるものとする。

薄層板の下端から約20mmの高さを原線とし、両側から少なくとも10mm離し、原線上に各条に規定する量の試料溶液及び標準液を、マイクロピペットを用いて約10mmの間隔でスポットし、風乾する。次に、この薄層板を展開用容器に入れて密閉し、常温で展開を行う。展開用容器には、あらかじめ展開溶媒を10mmの深さに入れ、展開溶媒の蒸気で飽和しておく。

展開溶媒の先端が原線から各条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、各条に規定する方法により、それぞれのスポットの位置及び色等を調べる。Rf値は、次式により求める。

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

⑵⑼　pH測定法

pHを測定するためには、ガラス電極によるpH計を用いる。

pHは、次式で定義される値である。この値は、厳密な意味での物理化学的な意義をもつものではないが、試料の水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よく一致する。

$$pH=pH_s+\frac{E-E_s}{\alpha}$$

pH_s：pH標準液のpH値

E：試料溶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

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

$$\alpha=\frac{2.3026\times RT}{F}$$

R：気体定数

T：絶対温度

F：ファラデー定数

装置

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、非対称電位調整用つまみ及び温度補償用つまみがある。温度補償用つまみのないものには、温度補償用感温部がある。

pH計は、次の操作法に従い、任意の一種類のpH標準液のpHを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。なお、検出部は、毎回、測定の前に水でよく洗う。

操作法

ガラス電極を、あらかじめ水に数時間浸しておく。pH計は、電源を入れ、５分以上経ってから使用する。検出部をよく水で洗い、付着した水をろ紙等で軽く拭きとる。温度補償用つまみのあるものは、そのつまみをpH標準液の温度と一致させ、検出部を試料溶液のpH値に近いpH標準液中に浸し、２分以上経ってから、pH計の指示がその温度におけるpH標準液のpHになるように調整する。２点で調整する場合は、通例、リン酸塩pH標準液及び試料溶液のpH値に近いpH標準液を用いて、前記に準じて操作する。次に、検出部をよく水で洗い、付着した水をろ紙等で軽く拭きとった後、試料溶液に浸し、測定値を読み取る。

⑶⑽　比重測定法

比重とは、物質の質量とそれと等体積の標準物質の質量の比をいう。

比重$d_t^{t'}$とは、温度t′℃における試料と温度t℃における水（H_2O）との等体積の質量の比をいう。別に規定する場合を除き、測定には、第１法又は第２法を用い、数値に「約」を付記してあるときは、第３法を用いることができる。

操作法

①　第１法　比重瓶による測定法

比重瓶は、通例、内容10～100mLのガラス製容器で、温度計付きのすり合わせの栓と標線及びすり合わせの蓋のある側管とからなる。あらかじめ清浄かつ乾燥した比重瓶の質量Wを量る。次に、栓及び蓋を除き、試料を満たして規定温度t′℃より１～３℃低くし、泡が残らないように注意して栓をする。徐々に温度を上げ、温度計が規定温度を示したとき、標線の上部の試料を側管から除き、側管に蓋をし、外部をよく拭いた後、質量W_1を量る。同じ比重瓶で水を用いて同様に操作し、その規定温度t℃におけるW_2を量る。

$$d_t^{t'}=\frac{W_1-W}{W_2-W}$$