4　確認試験

3　追加試験において、試料１ｇについてのパラ―フエニルアゾアニリンの量が30μgを超えて検出されたときは、次の⑴及び⑵の試験により、これがパラ―フエニルアゾアニリンによるものであることを確認しなければならない。

⑴　ガスクロマトグラフ質量分析法

ガスクロマトグラフ質量分析法において、３　追加試験⑴　試験溶液の調製によつて得た試験溶液をスキヤンモード（範囲［m／z］＝60～300）で測定し得られたパラ―フエニルアゾアニリンのマススペクトルと、パラ―フエニルアゾアニリン標準液を同様にして測定した際のマススペクトルが一致することを確認しなければならない。

⑵　高速液体クロマトグラフ法

３　追加試験⑴　試験溶液の調製によつて得た試験溶液及びパラ―フエニルアゾアニリン標準液をそれぞれ一定量採り、不活性ガス気流下でメチル―tert―ブチルエーテルを除去後、一定量のメタノールに溶解させる。このメタノール溶液から５～20μl採り、次の操作条件で試験を行う。試験溶液のクロマトグラム上に、パラ―フエニルアゾアニリン標準液のピークと保持時間が一致するピークが存在しなくてはならない。

操作条件

原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質とそれ以外の物質のピークが重複しないような条件を適切に選択することが望ましい。

カラム管　内径4.6μm、長さ150㎜のステンレス管を用いる。

カラム充填剤　粒径３～５μmのオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

カラム温度　30～40℃

検出器　紫外可視検出器

検出波長　240、280、305、380nm等

移動相　溶離液１：溶離液２＝90：10の状態から22.5分間かけて直線的に溶離液１：溶離液２＝45：55とし、その後、５分間かけて直線的に溶離液１：溶離液２＝５：95とした後、溶離液１：溶離液２＝５：95で１分間保持する。次いで、0.5分間かけて直線的に溶離液１：溶離液２＝90：10とし、溶離液１：溶離液２＝90：10で６分間保持する。

流速　毎分0.6mlで27.5分間保持した後、１分間かけて直線的に毎分２mlとする。その後、2.5分間かけて直線的に毎分0.6mlとし、毎分0.6mlで４分間保持する。

5　試薬、標準液等

⑴　メチル―tert―ブチルエーテル

日本工業規格試薬特級を用いる。

⑵　メタノール

日本工業規格試薬特級を用いる。

⑶　ｎ―ヘキサン

日本工業規格試薬特級を用いる。

⑷　水酸化ナトリウム・メタノール溶液

水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）20ｇをメタノール100mlに溶解させたものを用いる。

⑸　水酸化ナトリウム水溶液

水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）２ｇを精製水98mlに溶解させたものを用いる。

⑹　精製水

日本薬局方精製水を用いる。

⑺　クエン酸緩衝液

クエン酸一水和物（日本工業規格試薬特級）12.526ｇ及び水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）6.320ｇを精製水に溶かし、1,000mlとする。この緩衝液はクエン酸として0.06mol／ｌ、pH＝6.0である。

⑻　亜ジチオン酸ナトリウム水溶液

亜ジチオン酸ナトリウム（日本工業規格試薬特級）20ｇを精製水に溶かし、100mlとしたものを用いる。用時調製する。

⑼　ケイソウ土カラム

内径25～30㎜、長さ130～150㎜で先端にガラスフイルター等が装着されたガラス又はポリプロピレン製カラムにケイソウ土20ｇを詰めたものを用いる。自ら充填するか、同等の充填済み製品を使用する。

⑽　パラ―フエニルアゾアニリン標準液

パラ―フエニルアゾアニリン10㎎を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に10mlとする。ここから１mlを採り、メタノールで正確に10mlとする。その１mlを正確に採り、メチル―tert―ブチルエーテルで正確に10mlとする。更に、ここから３mlを正確に採りメチル―tert―ブチルエーテルで正確に５mlとしたものをパラ―フエニルアゾアニリン標準液とする。

⑾　内部標準液

内部標準物質として、そのモニターイオンが対象物質に含有される他の芳香族アミン等のフラグメントイオンとクロマトグラム上で重複しないようなものを選択する。ナフタレン―d_8、ベンジジン―d_8、アントラセン―d_{10}等が使用できる。その内部標準物質を正確に10㎎採り、メタノールで正確に10mlとする。その２mlを採り、メチル―tert―ブチルエーテルで正確に10mlとする。この溶液を１～５ml採り、メチル―tert―ブチルエーテルで正確に10mlとしたものを内部標準液とする。

⑿　アニリン・１，４―フエニレンジアミン混合標準液

アニリン及び１，４―フエニレンジアミンそれぞれ10㎎を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に10mlとする。ここから１mlを採り、メタノールで