(ii)　第２法

基質溶液の調製

フィチン酸ナトリウム0.8ｇ（0.75～0.84ｇ）を量り、0.25mol／Ｌ酢酸ナトリウム塩酸混液（pH5.5）を加えて溶かし、塩酸でpHを5.5に調整した後、100mLの全量フラスコに入れ、同混液を標線まで加えて100mLとする。

反応停止発色液の調製

（略）

操作法

（略）

検量線の作成

（略）

(iii)　（略）

(iv)　第４法

基質溶液の調製

あらかじめフィチン酸ナトリウムをデシケーター（シリカゲル）中で24時間以上乾燥し、その2.0ｇ（1.95～2.04ｇ）を量り、0.25mol／Ｌ酢酸ナトリウム塩酸混液（pH5.5）200mLを加えて溶かし、６mol／Ｌ塩酸でpHを5.5に調整した後、250mLの全量フラスコに入れ、同混液を標線まで加えて250mLとする。

反応停止発色液の調製

モリブデン酸アンモニウム100.0ｇ（99.95～100.04ｇ）に水を加えて溶かし、25％アンモニウム水10mLを加えた後、水を加えて1,000mLとし、モリブデン酸アンモニウム試液を調整する。バナジン酸アンモニウム2.35ｇ（2.345～2.354ｇ）に50～60℃に温めた水400mLを加えて溶かし、硝酸（１→３）20mLを加え、更に水を加えて1,000mLとし、バナジン酸アンモニウム試液とする。

モリブデン酸アンモニウム試液１容量に、バナジン酸アンモニウム試液１容量及び硝酸（１→３）２容量を加え、混合する。反応停止発色液は用時調整する。

操作法

試料溶液は、各条で規定する方法で調整する。試料溶液0.1mLをマイクロピペットを用いて量り、12×150㎜の試験管に入れ、ポリソルベート20添加(0.01％)0.25mol／L酢酸ナトリウム塩酸混液（pH5.5）0.3mLをマイクロピペットを用いて加え、混合し、37±0.5℃に加温し、５分間放置する。この試料溶液に、あらかじめ37±0.5℃に加温した基質溶液0.8mLをマイクロピペットを用いて加え、混合し、37±0.5℃で正確に30分間放置する。その後、反応停止発色液0.8mLをマイクロピペットを用いて加え、混合し、試験反応液とする。別に試料溶液0.1mLをマイクロピペットを用いて量り、12×150㎜の試験管に入れ、ポリソルベート20添加（0.01％）0.25mol／L酢酸ナトリウム塩酸混液（pH5.5）0.3mLをマイクロピペットを用いて加え、混合し、37±0.5℃に加温し、５分間放置する。この試料溶液に反応停止発色液0.8mLをマイクロピペットを用いて加えた後、あらかじめ37±0.5℃に加温した基質溶液0.8mLをマイクロピペットを用いて加え、混合し、試験対照溶液とする。

試験反応溶液及び試験対照溶液を室温で10分間放置した後、11,000×ｇで３分間遠心分離を行い、得られた上澄液につき、水を対照液として波長415nmにおける吸光度OD_T及びOD_{TB}を測定する。

(ii)　第２法

基質溶液の調製

フィチン酸ナトリウム0.8ｇ（0.75～0.84ｇ）を量り、pH5.5に調整した0.25mol／Ｌ酢酸塩酸緩衝液を加えて溶かし、塩酸でpHを5.5に調整した後、100mLの全量フラスコに入れ、同緩衝液を標線まで加えて100mLとする。

反応停止発色液の調製

（略）

操作法

（略）

検量線の作成

（略）

(iii)　（略）

（新設）