

銅剤

〔分 析 法〕

銅：試料を希塩酸に溶解し、アンモニア水を過剰に加えて煮沸し、酢酸を加え 2 分間煮沸後冷却し、ヨウ化カリウム溶液を加えてチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（有機銅製剤の場合は、あらかじめ試料を分解することを必要とする）。

〔操 作 法〕

銅として約 0.1 g を含む資料^{注1)}を正確にはかりとり、希塩酸（1+4）25 mL に溶解する。不溶物のあるときはこれを汙過し水を加えて約 50 mL に希釈する。強アンモニア水を滴加し、初め生成した沈殿が溶解して明らかに藍青色を呈し、アンモニア臭を感ずるまでわずかに過剰に加える。

次にこれを煮沸して過剰のアンモニアを除き、アンモニア臭をほとんど感じなくなったのち酢酸（50 %）約 5 mL を加え 1～2 分煮沸する。冷却したのちヨウ化カリウム溶液

（30%）10 mL を加え、100 mol/m³ チオ硫酸ナトリウム溶液を滴加し、溶液の色が淡黄色になったときでんぷん指示薬約 3 mL を加えて^{注2)}滴定を続け、遊離ヨウ素によって生じた紫黒色が辛うじて消失したときを終点とする。

$$\text{銅 (\%)} = \frac{100 \text{ mol/m}^3 \text{ チオ硫酸ナトリウム溶液の使用量 (mL)} \times 0.006354}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注 1) 試料にひ素を含む場合は、あらかじめ臭化水素酸（比重 1.38）5 mL と濃塩酸 15 mL を加えて砂ざら上で加熱して蒸発乾固し、ふたたび臭化水素酸 5 mL と濃塩酸 15 mL を加えて蒸発乾固し、次に濃塩酸 20 mL を加えて蒸発乾固する。

また有機物の存在によって分析が妨害されるときは、濃塩酸 4 mL と発煙硝酸 20 mL を加えて湯浴上で加熱し、次に金網上で硫酸の発煙が生ずるまで加熱する。冷却したのち蒸留水 3 mL を加えて白煙が生ずるまで加熱して硝酸を完全に除き、有機物を分解してから分析を行なう。

2) できるだけ終点に近づいたときにデンプン指示薬を加えると終点がみやすくなる。

石灰いおう合剤

〔分 析 法〕

全硫化態いおう：少し過剰のアンモニア性塩化亜鉛液でいおうを沈でんさせ、過酸化ナトリウムを加えて酸化し、いおうを硫酸塩とし、塩酸酸性で塩化バリウム溶液を加えて沈でんする硫酸バリウムの重量から全硫化態いおうの百分率を算出する。

〔操 作 法〕

試料 10 g を正確にはかりとり 250 mL のメスフラスコに移し、使用前に煮沸し炭酸ガスをさえぎって室温に冷却した水で直ちに標線まで希釈する。ビーカー（容量 250 mL）にあらかじめ 10～15 mL の水を入れ、試料の希釈液 10 mL をホールピペットにとり、その先端をビーカーの中の水中にわずかに挿入して移し入れ、最後の滴加が終ったときピペットをあげる。試料をはかりとるときはその都度きれいに乾いたピペットを用いる。その溶液中の全いおうを沈でんさせるに必要な量よりもわずかに過剰の塩化亜鉛溶液^{注 1)} 約 5 mL を加え、十分にかきまぜて沝過する。沈でんを冷水で 2 回洗浄し、沝紙と沈でんを沈でん生成に用いたビーカーに移す。水でおおい、ガラス棒で沝紙を砕き、時計ざらでビーカーをおおいながら過酸化ナトリウム約 4 g を加える。しばしばかきまぜながら水浴上で温め、全部のいおうを硫酸に酸化する。酸化の完了は黄色の消失でわかるが、もし必要あれば過酸化ナトリウムを追加する。希塩酸（1+4）でわずかに酸性にし、沝過して沝紙の破片を除き、熱水で十分に洗浄して全容を約 300 mL にする。塩酸 50 mL を加え、煮沸して絶えずかきまぜながら熱した塩化バリウム溶液^{注 2)} を徐々に加える。これを放冷したのち沈でんを定量沝紙で沝過し、塩素イオンの反応を認めなくなるまで熱水で洗浄する。沈でんを乾燥したのち注意して強熱して恒量にする。残分の重量に係数 0.1374 を乗じて全硫化態いおうの量とし、その百分率を算出する。

注 1) ZnCl_2 50 g を水 500 mL に溶解し、強アンモニア水 125 mL および NH_4Cl 50 g を加えて水で 1 L に希釈する。

2) $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 g を水に溶解し、100 mL に希釈する。

水和いおう剤

〔分 析 法〕

全いおう：二硫化炭素によっていおうを抽出し，二硫化炭素を蒸発し，いおうを秤量する．

〔操 作 法〕

いおう 1～2 g を含む試料を容量 50 mL の三角フラスコに正確にはかりとり，二硫化炭素^{注 1)} 約 20 mL を加え，ときどきふりまぜながらしばらく放置していおうを溶かす．ガラス汙過器 3G-4 を用いて吸引汙過し，汙液をあらかじめ重量を秤った容量 200 mL の三角フラスコに集める．残留物を二硫化炭素でよく洗い，汙液と洗液の合量を約 100 mL とする．水浴上で二硫化炭素を留去し，100～105 °C で恒量になるまで乾燥したのち重量を秤り，いおうの百分率を算出する．

注 1) 一級品を蒸留したもの．

除虫菊剤

〔分 析 法〕

ピレトリン：石油エーテル（またはベンゼン）抽出物を水酸化ナトリウムエタノール溶液でけん化し、水蒸気蒸留を行なう。留出液から第一菊酸，残留液から第二菊液をそれぞれ抽出し、水酸化ナトリウム溶液で滴定し、ピレトリン I およびピレトリン II の百分率を算出する。

〔操 作 法〕

1. 除虫菊乳剤

試料 2.5 g を正確にはかり、水蒸気蒸留フラスコ中へ水約 200 mL で洗い込む。希硫酸（1+4）で弱酸性にして水蒸気蒸留を行ない、留出液約 50 mL を得て止める。残留液を冷却したのち長型分液漏斗（容量 500 mL）に移し、水およびエーテル^{注1）}で容器を洗い、食塩を飽和したのち、エーテル 50 mL を加えて数分間激しくふりまぜる。分液後水層に更にエーテル 50 mL を加えてふりまぜ、同様の操作を 3 回反復する。全エーテル溶液を分液漏斗に集め、遊離酸およびその他の可溶物を除去するために水酸化ナトリウム溶液（1 %）を加えて軽くふりまぜる。分液後更に水酸化ナトリウム溶液（1 %）を加えてふりまぜ、残存する可溶物を分ける。2 回の水酸化ナトリウム洗液を分液漏斗（容量 300 mL）に集めて塩析後、エーテル 50 mL を加えてふりまぜ、水 15 mL で洗浄し、分液後全エーテル層を三角フラスコ（容量 300 mL）に集め、湯浴上で完全にエーテルを留去する。この抽出物に 500 mol/m³ 水酸化ナトリウムエタノール溶液 30 mL を加え、還流冷却器を付けて水浴上で約 1.5 時間加熱沸騰して加水分解する。

次にエタノールを完全に留去し、残留物に水 100 mL を加え、よくかきまぜて完全に溶解し、あらかじめ酸性白土 1 g を入れた 250 mL のメスフラスコに洗い入れ、塩化バリウム溶液^{注2）} 30 mL を加え、ふりまぜたのち水を加えて 250 mL にする。汙液 200 mL に硫酸（20 %）を 10 mL 加えて水蒸気蒸留を行ない、留出液 250 mL を得て止める。留出液を長型分液漏斗（容量 500 mL）に移し、ベンゼン 50 mL を加えて数分間激しくふりまぜたのち分液する。この際生ずる白濁は少量の食塩を加えると減少する。水層に更にベンゼンを 50 mL 加えてふりまぜたのち分液する。

各ベンゼン溶液を順次水 10 mL で洗浄し、更に 10 mL の水で洗浄を反復し、ベンゼン溶液を 1 個の分液漏斗中に集め、20 mol/m³ 水酸化ナトリウム標準溶液 10 mL と、あらかじめフェノールフタレイン指示薬 1 滴を加えて 20 mol/m³ 水酸化ナトリウム標準溶液で中和した水 5 mL を加え、2 分間激しくふりまぜ、分液しないで 10 mol/m³ 硫酸標準溶液で逆滴定する。消費された 20 mol/m³ 水酸化ナトリウム標準溶液の量からピレトリン I の量を求め、その百分率を算出する。

前記水蒸気蒸留の残留液は冷却したのち汙過し、蒸留フラスコおよび汙紙を水でよく洗浄し、汙液を長型分液漏斗（容量 500 mL）に移し、食塩を飽和したのちエーテル 50 mL を加えてふりまぜて抽出し、同様の操作を 3 回反復する。各エーテル抽出液を水 10 mL ずつ

で 2 回順次洗浄し、全エーテル溶液を三角フラスコ（容量 300 mL）中に集め、水浴上で加熱してエーテルを留去する。これに中性エタノール 2 mL を加えて溶解したのち水 20 mL を加え、 20 mol/m^3 水酸化ナトリウム標準溶液で滴定し、しばらく淡紅色が残るところを終点とし、その滴定量（mL）からピレトリンⅡの量を求め、その百分率を算出する。

20 mol/m^3 水酸化ナトリウム 1 mL = ピレトリンⅠ 6.56 mg

20 mol/m^3 水酸化ナトリウム 1 mL = ピレトリンⅡ 3.72 mg

注 1) 試薬 1 級品を 1 % 水酸化ナトリウム溶液で洗い、水洗い後塩化カルシウムで脱水して蒸留する。

2) $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 60 g を水 450 mL に溶解する。

2. 除虫菊エキスの調製

試料 1.5 g を正確にとり、エーテル 75 mL を加え水浴中で加熱溶解し、放冷後分液漏斗に移し、水酸化ナトリウム溶液（1 %）50 mL を加えて軽くふりまぜ、以下除虫菊乳剤の場合と同様に操作する。

3. 除虫剤粉剤の調製

試料 15 g を三角フラスコ（容量 300 mL）にはかりとり、ベンゼン 150 mL を加え、約 30 °C で 20 時間浸漬抽出を行ない、滲液 100 mL を丸底フラスコ（容量 15 mL）にとり水浴上で加熱してベンゼンを留去する。この残留物を除虫菊乳剤の場合の最初の水蒸気蒸留の残留物と同様に取り扱い、以下同様に操作する。

生石灰

〔分 析 法〕

カルシウム：修酸アンモニウムで修酸カルシウムを沈でんさせ，これを希硫酸に溶解して過マンガン酸カリウムで滴定する。

ダイアジノン乳剤

ダイアジノン約 1 g を含む試料を分液漏斗（容量 350 mL）に正確にとり^{注1)} エタノール（60 容量 %）100 mL に溶解し、塩化ナトリウム飽和溶液 10 mL および石油エーテル^{注2)} 100 mL を加え、激しく振りまぜて静置する。エタノール層と別の分液漏斗にうつし、再び石油エーテル 100 mL で抽出する。エタノール層を第 3 の分液漏斗にうつし、さらに石油エーテル 100 mL で抽出し、エタノール層をすてる。

三つの石油エーテル層をエタノール（60 容量 %）30 mL で順次洗い、エタノール層をすてる。三つの石油エーテル層を合し無水硫酸ナトリウム約 10 g を加えてときどきまぜながら 5 分間放置したのち乾燥濾紙でこし、少量の石油エーテルで数回洗う。

洗液を濾液に合し石油エーテルを留去し、残渣を氷酢酸^{注3)} 30 mL に溶解する。 α -ナフトールベンゼイン指示薬（1 % ベンゼン溶液）10 滴を加え、 100 mol/m^3 過塩素酸－氷酢酸溶液^{注4)} で滴定し、濃緑色を呈したときを終点^{注5)} とする。

つぎの式によってダイアジノンの百分率を算出する。

$$\text{ダイアジノン (\%)} = \frac{100 \text{ mol/m}^3 \text{ 過塩素酸－氷酢酸溶液使用量 (mL)} \times 0.030435}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注 1) あらかじめ試料を滴下瓶に入れておき、これより必要量を分液漏斗に滴下し、前後の重量差をはかりとった試料の重量とする。

2) 石油エーテル：沸点 40～70 °C の留分を用いる。

3) 氷酢酸：この分析に用いる氷酢酸は、すべて蒸留して沸点 115～118 °C の留分を取り、更に混在する水を消費するに十分な量の無水酢酸を加える。例えば蒸留した氷酢酸 1 L に無水酢酸 200 g を加える。

4) 100 mol/m^3 過塩素酸－氷酢酸溶液の作り方：過塩素酸 10.2 g を含む過塩素酸水溶液を氷酢酸および無水酢酸に溶解して 1 L にする。例えば過塩素酸水溶液（60 %）17 g を氷酢酸 500 mL に溶解し、これに無水酢酸 34 g を加え、更に氷酢酸を加えて 1 L にする。

その力価（ f ）検定はつぎのとおりとする。標準試薬の炭酸ナトリウムを 110 °C で 2 時間乾燥後約 0.1 g を正確にはかりとり、氷酢酸 50 mL に溶解する。 α -ナフトールベンゼイン指示薬（1 % ベンゼン溶液）10 滴を加えて過塩素酸－氷酢酸溶液で滴定し、濃緑色を呈したとき終点とする。つぎの式によって力価を算出する。

$$\text{力価 (f)} = \frac{\text{炭酸ナトリウム (g)}}{\text{滴定に要した } 100 \text{ mol/m}^3 \text{ 過塩素酸－氷酢酸溶液使用量 (mL)} \times 0.0053}$$

力価の検定は使用の都度行なう。

5) 滴定の終点：滴定の終点はあまり明瞭でなく、特に氷酢酸中に水分が混在するときは不明瞭になるので指示薬を常時より多量（10 滴）に用い、溶液が完全に濃緑色となるときを終点とする。

マラソン粉剤

検量線の作成

標準マラソン約 0.1 g を 100 mL のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノール^{注1)}を用いて定容とする。この液 5 mL をホールピペットで 100 mL のメスフラスコにとり、エタノールで定容とし、この液をマラソンの標準溶液とする。(50 μ g/mL)

標準溶液 10 mL をホールピペットで三角フラスコ(容量 300 mL)にとり、予め 5 $^{\circ}$ C 以下に冷却した 100 mol/m³ 塩酸溶液 30 mL をメスシリンダーを用い、500 mol/m³ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 mL^{注2)}、四塩化炭素^{注3)} 25 mL をそれぞれホールピペットを用いて順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5 $^{\circ}$ C 以下に冷却する。これに硫酸銅溶液(5 %) 2 mL を加え、カラン付の栓^{注4)}をつけて 30 秒間激しくふりまぜて発色せしめ、四塩化炭素層をとり、硫酸銅溶液を加えてから 3 分ないし 6 分の間に波長 420 nm における吸光度を測定する。別に標準溶液の代りにエタノール 10 mL をとり、同様の方法で空試験を行ない、この値を差引き遊離ジチオリン酸エステルによる吸光度を求める。

次に標準溶液 2.5 mL, 5 mL, 7.5 mL, 10 mL をそれぞれホールピペット又はメスピペットを用いて三角フラスコ(容量 300 mL)にとり、エタノールを用いて全容を 10 mL とする。これに 500 mol/m³ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 mL を加えゆるやかにふりまぜ、20 ~ 25 $^{\circ}$ C で 2 分間放置する。これに予め 5 $^{\circ}$ C 以下に冷却した 100 mol/m³ 塩酸溶液 30 mL, 四塩化炭素 25 mL を順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5 $^{\circ}$ C 以下に冷却する。これに硫酸銅溶液(5 %) 2 mL を加え、直ちに栓をつけて 30 秒間激しくふりまぜて発色せしめ、四塩化炭素層をとり、硫酸銅溶液を加えてから 3 分ないし 6 分の間に波長 420 nm における吸光度を測定し^{注5)}、上記空試験の値を差引いて全ジチオリン酸エステルによる吸光度を求める。更に標準溶液 2.5 mL, 5 mL, 7.5 mL, 10 mL の全ジチオリン酸エステルによる吸光度からそれぞれの量に対応する遊離ジチオリン酸エステルによる吸光度を差引いて検量線を作成する。

分析操作

マラソン約 3 mg を含む試料を 100 mL のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノール約 50 mL を加えて、良くふりまぜ、エタノールを用いて定容とする。これを 30 分間放置し、試料溶液とする。試料溶液 10 mL をホールピペットで三角フラスコ(容量 300 mL)にとり、500 mol/m³ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 mL を加えて、ゆるやかにふりまぜ 20 ~ 25 $^{\circ}$ C で 2 分間放置する。以下検量線の作成の場合と同様に操作して吸光度を求める。別に試料溶液 10 mL をとり、100 mol/m³ 塩酸溶液 30 mL, 500 mol/m³ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 mL, 四塩化炭素 25 mL を順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5 $^{\circ}$ C 以下に冷却し、以下検量線作成の場合と同様の方法で得られた値を上記の吸光度から差引き、検量線よりマラソンの量を求め、つぎの式によってマラソンの百分率を算出する。

$$\text{マラソン (\%)} = \frac{\text{マラソン量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

- 注 1) エタノールは生石灰で脱水し，蒸留して用いる．回収エタノールを使用する場合は脱水蒸留の操作を 2 回繰返す．
- 2) 水酸化カリウム 2.8 g を上記エタノール 100 mL にとかす．
- 3) 濃硫酸，希水酸化ナトリウム溶液（1 %）で順次洗い，塩化カルシウムで脱水し，蒸留して用いる．
- 4) 2 個のカランを通してあるガラス栓（又はコルク栓）を用い，取出口のカランの先端には脱脂綿をつめておく．この栓を三角フラスコにつけてさかさにした時，四塩化炭素層を取出せる様にする．
- 5) キュベットは厚さ 10 mm のものを使用する．

マラソン乳剤

検量線の作成

マラソン粉剤の検量線の作成に準ずる。

分析操作

マラソン約 50 mg を含む試料を 100 mL のメスフラスコに正確にはかりとり，エタノールを用いて定容とする．この溶液 5 mL をホールピペットでとり 100 mL のメスフラスコに移し，エタノールを用いて定容とし，これを試料溶液とする．試料溶液 10 mL をホールピペットで三角フラスコ（容量 300 mL）にとり，マラソン粉剤の場合と同様に^{注1)} 操作してマラソン量を求め，つぎの式によってマラソンの百分率を算出する．

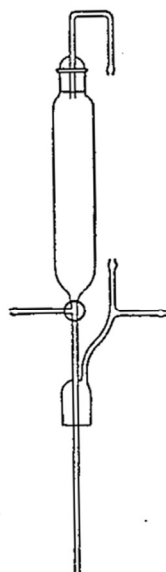
$$\text{マラソン}(\%) = \frac{\text{マラソン量}(\text{g}) \times 200}{\text{試料}(\text{g})} \times 100$$

注 1) 乳剤の場合は 100 mol/m³ 塩酸は 2.5 % の芒硝を溶かしたものをを用いると分離がよい．

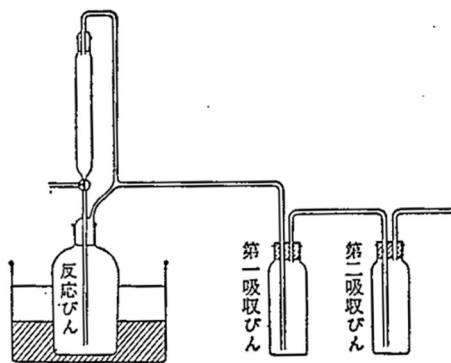
りん化亜鉛剤

100 mol/m³ 過マンガン酸カリウム溶液をホールピペットを用いて正確に第一吸収ビンに 100 mL, 第二吸収ビンに 50 mL 入れる. りん化亜鉛 0.5 g を含む試料を正確にはかりとり, 反応ビンに入れる. 滴下漏斗 (第 1 図) に硫酸 (1:5) 100 mL を入れ, 装置を第 2 図のように連結した後, 窒素ガスを徐々に通ずる. 約 5 分後硫酸 (1:5) 100 mL を滴下漏斗より滴下し, 反応ビンを約 50 °C に加温し, 2.5 時間~3 時間 50±5 °C の温度に保つ. りん化水素が出なくなったのち 10 分間窒素ガスをはげしく通ずる. 窒素ガスの流通を止め, 吸収ビンをはずし, 吸収ビン中の過マンガン酸カリウム溶液を 1 L のビーカーに移す. 修酸硫酸混液^{注 1)} 200 mL で吸収ビンをよく洗って沈でん及びガラス壁についている二酸化マンガンを完全に溶かし, これをビーカー中の過マンガン酸カリウム溶液に合する. 100 mol/m³ 過マンガン酸カリウム溶液で過剰の修酸を滴定し, わずかに赤色を呈したときを終点とする. これに要した 100 mol/m³ 過マンガン酸カリウム溶液の量を A mL とする. 次の式によってりん化亜鉛の百分率を算出する.

$$\text{りん化亜鉛 (\%)} = \frac{[(A + 150) - 150] \times 0.8066}{\text{試料 (g)}}$$



第 1 図



第 2 図

りん化亜鉛定量装置

注 1) 250 mol/m³ 修酸溶液 150 mL をホールピペットを用いて正確にとり, 硫酸 (1:1) 50 mL を加える.

NAC 剤

1. 粉剤

(A) 検量線の作成

1-ナフチル *N*-メチルカーバメート (NAC) の純品^{注1)} 約 100 mg をメスフラスコ 200 mL に正確にはかりとり、メタノール^{注2)} に溶かして定容とし、この溶液 2 mL をホールピペットを用いてメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールで定容とする。この溶液 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL をメスピペットを用いて別々のメスフラスコ 25 mL にとり、メタノールをおぎなって全量を 5 mL としたのち、200 mol/m³ 水酸化カリウム・メタノール溶液 2 mL を加え、ときどきふりまぜながら室温に 20 分間放置する。これにパラニトロベンゼンジアゾニウムフルオロボレート・メタノール溶液 (0.03 %) ^{注3)} 2 mL をふりまぜながら少量ずつ滴下する。滴下が終わったのち室温に 30 分間放置してメタノールで定容とする。これをメタノールを対照にして液層 1 cm で波長 590 nm における吸光度を測定し、濃度吸光度曲線を作図する。

(B) 分析操作

NAC 約 7.5 mg を含む試料を三角フラスコ (容量 100 mL) に正確にはかりとり、これにメタノール 50 mL をホールピペットを用いて加え、ゴム栓をほどこし、水平しんとう機で 30 分間ふりまぜる^{注4)}。これを沓紙を用いて沓過し、ホールピペットを用いて沓液 5 mL をメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールで定容とする。この溶液 4 mL をメスピペットを用いてメスフラスコ 25 mL にとり、以下検量線の作成のときと同様の操作で吸光度を測定し、検量線より NAC の量を求め、つぎの式によって試料中の百分率を算出する。

$$\text{NAC (\%)} = \frac{\text{NAC 量 (g)} \times 125}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

2. 粒剤

試料を乳鉢でよく粉砕したのち、NAC 約 40 mg を含む試料を三角フラスコ (容量 100 mL) に正確にはかりとり、これにホールピペットを用いてメタノール 50 mL を加え、粉剤の場合と同様の操作で抽出する。これを沓紙を用いて沓過し、メスピペットを用いて沓液 1 mL をメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールで定容とする。この溶液 4 mL をメスピペットを用いてメスフラスコ 25 mL にとり、以下検量線の作成のときと同様の操作で吸光度を測定し、検量線より NAC の量を求め、つぎの式によって試料中の百分率を算出する。

$$\text{NAC (\%)} = \frac{\text{NAC 量 (g)} \times 625}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

3. 水和剤

NAC 約 200 mg を含む試料を三角フラスコ (容量 200 mL) に正確にはかりとり、これにホールピペットを用いてメタノール 100 mL を加え、粉剤の場合と同様の操作で抽出する。これを沓紙を用いて沓過し、メスピペットを用いて沓液 1 mL をメスフラスコ 100 mL にとり、メタノールで定容とする。メスピペットを用いてこの溶液 2.5 mL をメスフラスコ 25 mL にとり、以下粉剤の検量線の作成のときと同様の操作で吸光度を測定し、検量線の作成

のときと同様の操作で吸光度を測定し、検量線より NAC の量を求め、つぎの式によって試料中の百分率を算出する。

$$\text{NAC (\%)} = \frac{\text{NAC 量 (g)} \times 4000}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

4. 乳剤

NAC 約 75 mg を含む試料をメスフラスコ 50 mL に正確にはかりとり、展開溶媒^{注5)}に溶かして定容とし、試料溶液とする。

クロマトグラフ用シリカゲル 5 g にエチレングリコール 5 mL を加え、よく混合し、展開溶媒を加えてかゆ状にする。これをクロマトグラフ円筒^{注6)}に 20～30 kPa の圧力を加えてきん密につめてクロマトグラフ円筒を作る。

ホールピペットを用いて試料溶液 2 mL をとり、クロマトグラフ円筒のシリカゲルの表面に加え、20～30 kPa の圧力で押し、溶液が完全に没したならば圧力を除き、展開溶媒 50 mL を加えて溶出量を毎分 1.5～2 mL になるように調節しながら展開する。流出液の最初の 30 mL を三角フラスコ（容量 100 mL）に集め、これに 2～3 粒の小沸石を加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物をメタノールでメスフラスコ 100 mL に洗い込んで定容とする。

ホールピペットを用いてこの溶液 2 mL をメスフラスコ 25 mL にとり、以下粉剤の検量線の作成のときと同様の操作で吸光度を測定し、検量線より NAC の量を求め、つぎの式によって試料中の百分率を算出する。

$$\text{NAC (\%)} = \frac{\text{NAC 量 (g)} \times 1250}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注 1) NAC の純品：アセトンから再結晶した m. p. 139～140 °C のもの。

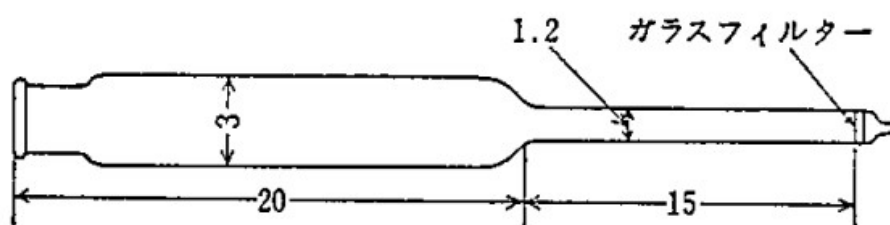
2) メタノール：蒸留精製した無水のもの。

3) パラニトロベンゼンジアゾニウムフルオロボレート試薬 1 級品をかたまりがあれば乳鉢で粉末にし、その 30 mg をメタノールに溶かして 100 mL とする。この溶液は使用の都度調製し、冷蔵庫（5～10 °C）中に保存しておいて用いる。

4) 水平しんとう機がない場合は手でときどきふりまぜてもよい。

5) 展開溶媒：エチレングリコールを飽和したベンゼン。

6) クロマトグラフ円筒：下図の大きさのもの。



クロマトグラフィー用円筒（単位：cm）

CAT水和剤

CAT 約 0.3 g を含む試料を外径 2 cm、長さ 7 cm の円筒濾紙に正確にはかりとり、無水硫酸ナトリウム 5 g を加え、脱脂綿でおおい、図に示す熱抽出装置に入れ、三角フラスコ（容量 100 mL）にジオキサン^{注1)} 70 mL を入れ、装置を連結し、160～170 °C の油浴で 2 時間加熱抽出する。加熱をやめ、ジオキサンの蒸気がサイホンまであがらなくなったら装置が冷えないうちにジオキサン 30 mL で円筒濾紙を洗い、つぎに氷酢酸^{注2)} 50 mL でサイホン付内部円筒、外部円筒および冷却管を洗い、洗液は三角フラスコ内のジオキサン溶液に合する。放冷したのち三角フラスコをとりはずし、 α -ナフトールベンゼイン指示薬^{注3)} 10 滴を加え、100 mol/m³ 過塩素酸-氷酢酸溶液^{注4)} で滴定し、濃緑青色を呈したときを終点とする。

つぎの式により CAT の百分率を算出する。

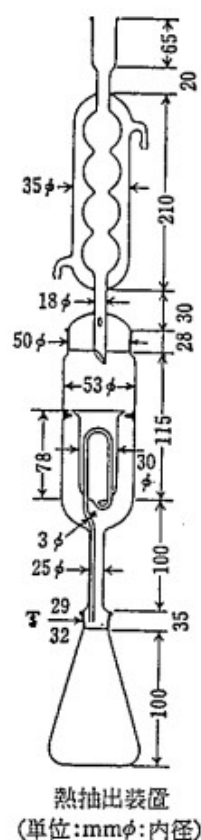
$$\text{CAT} = \frac{100 \text{ mol/m}^3 \text{ 過塩素酸 - 氷酢酸溶液使用量 (mL)} \times 0.020166}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注 1) ジオキサン：試薬 1 級品に金属ナトリウム片を加えて還流煮沸したのち蒸留して沸点 99～102 °C の留分をとる。

2) 氷酢酸：試薬 1 級品に過マンガン酸カリウムを加えて還流煮沸したのち蒸留して 115～8 °C の留分を取り、混在する水を消費するにじゅうぶん量の無水酢酸を加える。たとえば蒸留した氷酢酸 1 l に無水酢酸 200 ml を加える。

3) α -ナフトールベンゼイン指示薬： α -ナフトールベンゼイン 1 g をベンゼン 100 mL に溶解する。 α -ナフトールベンゼイン指示薬のかわりにメチルバイオレット-氷酢酸溶液(0.5%)を用い、淡青緑色を呈したときを終点としてもよい。

4) 100 mol/m³ 過塩素酸-氷酢酸溶液の調製：過塩素酸 10.2 g を含む過塩素酸水溶液を氷酢酸および無水酢酸に溶解して 1 L にする。たとえば特級過塩素酸水溶液(60%) 17 g を氷酢酸 500 mL に溶かし、これに無水酢酸 34 g を加え、さらに氷酢酸を加えて 1 L にする。その正確な濃度はつぎのようにしてきめる。標準試薬の無水炭酸ナトリウムを 110 °C で 2 時間乾燥したのち約 0.1 g を正確にはかりとり、氷酢酸 50 mL に溶解する。 α -ナフトールベンゼイン指示薬(1 % ベンゼン溶液) 10 滴を加えて過塩素酸-氷酢酸溶液で滴定し、濃緑青色を呈したときを終点とする。



$$\text{モル濃度(mol/m}^3\text{)} = \frac{\text{炭酸ナトリウム (g)} \times 1000 \times 1000}{100 \text{ mol/m}^3 \text{ 過塩素酸 - 氷酢酸溶液使用量 (mL)} \times 53}$$

モル濃度の測定は使用のたびに行なう。

チウラム水和剤

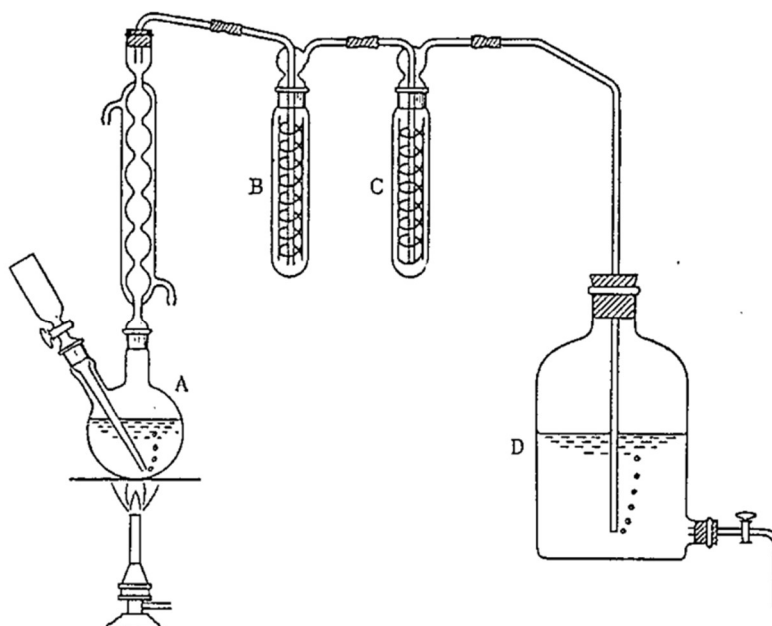
TMTD 約 0.25 g を含む試料を反応フラスコ（容量 300 mL）に正確にはかりとり，水 5 mL，硫化ナトリウム（七水塩）^{注1)} 1 g を加えて加熱溶解する．図の第 1 の吸尿管に酢酸鉛溶液（10 %）50 mL，第 2 の吸尿管に 2000 mol/m³ 水酸化カリウムメタノール溶液 50 mL を入れて連結し，水槽の活栓を開き，1 分間に 150～200 mL の割合で排水，吸引しながら熱した 550 mol/m³ 硫酸 50 mL を吸気孔より徐々に注入したのち静かに 60 分間煮沸して反応を完全に行なう．

反応が終了したのち第 2 の吸尿管の内容物を水 75～100 mL で三角フラスコ（容量 500 mL）に洗い入れる．これにフェノールフタレイン指示薬 2～3 滴を加え，酢酸（30 %）で中和したのち 50 mol/m³ ヨウ素溶液を滴下し黄色の消失がゆるやかになったとき水 250 mL およびでんぷん指示薬 5 mL を加える．ふたたび 50 mol/m³ ヨウ素溶液を滴下し，淡青色が最初に現われたときを終点としてこれに要した 50 mol/m³ ヨウ素溶液の量を A mL とする．

別に同様の方法で空試験を行ない，これに要した 50 mol/m³ ヨウ素溶液の量を B mL とする．つぎの式によって TMTD の百分率を算出する．

$$\text{TMTD}(\%) = \frac{(A - B) \times 0.01202}{\text{試料(g)}} \times 100$$

注 1) 硫化ナトリウムは潮解したものは使用してはならない．



A：反応フラスコ（容量 300 mL） B：第 1 吸尿管 C：第 2 吸尿管 D：水槽（容量 10 L）
チウラム剤分析装置

クロルピクリン剤

1. クロルピクリンを 99 % 以上含有する製剤

以下に記した操作条件により，ガスクロマトグラムを記録し，各ピーク面積を半値幅法（ピークの半値幅×ピークの高さ）によって求め，クロルピクリンのピーク^{注1)}の面積の全ピーク面積に対する百分率を算出し²⁾，これをクロルピクリンの重量 % とする．

操作条件

ガスクロマトグラフ装置：熱伝導型検出器をそなえたもの

カラム：内径 4 mm，長さ 3 m，銅あるいはステンレス製

カラム充填物^{注3)}：30 重量 % ポリエチレングリコール 6000/耐火煉瓦 C-22

カラムおよび検出器の温度：100 °C

キャリアーガス：ヘリウム

キャリアーガスの流速：70 mL/分

検出器のフィラメント電流：180 mA（室温）

検出器の感度（レンジ）：クロルピクリンのピークについては 128 mV，不純物のピークについてはその装置の最大感度（2 mV）

記録紙の送り速度：1 cm/分

試料の量：10 μ L

2. クロルピクリンを 80 % 含有する製剤

（A）検量線の作成

クロルピクリンの純品^{注4)} 1～3 g の範囲を数点，ガラス共栓三角フラスコ（容量 50 mL）に正確にはかりとり，これに内部標準物質^{注5)}として四塩化炭素^{注6)}約 2 g を正確に加えてよく混合し，重量比（クロルピクリン/四塩化炭素）0.5～1.5 にわたる数種の混合物をつくる．その 20 μ L をマイクロ注射器でとり検出器の感度（レンジ）：32～64 mV 以外は前項 99 % 以上含む製剤の場合と同様の操作条件により，ガスクロマトグラムを記録しピーク面積を半値幅法で測定する．そして重量比をタテ軸に，ピーク面積比を横軸にとり，検量線を作図する．

（B）分析操作

クロルピクリン約 2 g を含む試料をガラス共栓三角フラスコ（容量 50 mL）に正確にはかりとり，これに四塩化炭素約 2 g を正確に加え，よく混合する．その 20 μ L をとり，検量線を作成したときと同一条件でガスクロマトグラムを記録し，ピーク面積比を検量線により重量比に換算し，試料中のクロルピクリンの重量百分率を算出する．

注 1) この操作条件におけるクロルピクリンの保持時間は約 8 分であるが，不純物のピークの検出には保持時間約 20 分まで行なう．

2) クロルピクリンと不純物とはピークの検出感度が異なるので，感度によるピーク面積の換算を行なう．

- 3) 耐火煉瓦 C-22 (355~425 μ m) 100 g を丸底フラスコ (容量 500 mL) にとり, これにポリエチレングリコール 6000, 30 g をクロロホルム 300 mL にとかして加え, よく混合する. これよりクロロホルムを水浴中で留去し, これを蒸発皿に移し, 110 $^{\circ}$ C の電気乾燥器中で乾燥する. このカラム充てん物をバイブレーターを用いてカラムに均一に充てんする.
- 4) 99 % 以上含有する製剤の項に記した方法により純度を分析したもの.
- 5) 試料に内部標準物質を加えないでガスクロマトグラムをとり, 四塩化炭素の位置にピークがないことをたしかめる. ピークが認められる場合は他の内部標準物質 (たとえばモノクロルベンゼンなど) を使用する.
- 6) 蒸留精製し不純物のピークを認めないもの.

D-D 剤

試料 5 mL をガラス共栓三角フラスコ 25 mL にとって重さを正確にはかり、これに内標準物質としてシクロヘキサノン^{注 1)}2 mL を加え、ふたたび重さを正確にはかる。この混合液 10～15 μ L をマイクロ注射器を用いてつぎの操作条件に調整した装置に注入し、ガスクロマトグラムを記録する。シスおよびトランス 1,3-ジクロルプロペン、シクロヘキサノンのピーク面積を半値幅法（半値幅×高さ）により測定し、つぎの式に代入して試料中のシスおよびトランス 1,3-ジクロルプロペンの百分率を算出する。

$$\text{シス 1,3-ジクロルプロペン (\%)} = \frac{ACP}{ACH} \times FCP \times \frac{WCH}{WS} \times 100$$

$$\text{トランス 1,3-ジクロルプロペン (\%)} = \frac{ATP}{ACH} \times FTP \times \frac{WCH}{WS} \times 100$$

ここに ACP, ATP, ACH はそれぞれシス、トランス 1,3-ジクロルプロペンとシクロヘキサノンのピーク面積。

WCH, WS はそれぞれシクロヘキサノン、試料の採取量 (g) FCP, FTP はそれぞれシスおよびトランス 1,3-ジクロルプロペンとシクロヘキサノンのピーク面積比から重量比に換算する係数

$$FCP : 1.138 \qquad FTP : 1.145$$

操作条件

装 置：熱伝導度検出器つきガスクロマトグラフ

分離管：内径 4 mm, 長さ 2 m, 銅あるいはステンレス製

充てん剤：ポリエチレングリコール 6000, 30 %/耐火レンガ C-22 (355～425 μ m)

分離管温度：100 $^{\circ}$ C

試料気化室温度：約 160 $^{\circ}$ C

キャリアーガスおよび流速：ヘリウム 70 mL/分

検出器フィラメント電流：180 mA

検出器感度(レンジ)：16～32 mV

記録紙送り速度：1 cm/分

注 1) 特級試薬を用い、ガスクロマトグラムに不純物が認められるときは蒸留精製する (b. p. 157 $^{\circ}$ C).

MEP 剤

1. 乳剤

(A) 検量線の作成

(i) 遊離 MNP

3-メチル-4-ニトロフェノール (MNP) の純品^{注1)} 100 mg を正確にはかりとり、メタノールを用いてメスフラスコ 100 mL に洗い移してとかし、定容とする。この液 5 mL をホールピペットを用いてメスフラスコ 100 mL にとり、メタノールで定容とし、これを標準溶液とする。

標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL をホールピペットを用いて別々のメスフラスコ 50 mL にとり、炭酸ナトリウム溶液 (0.1 %) 5 mL を加え、メタノールで定容とし、波長 400 nm における吸光度をメタノールを対照として測定する。各測定値より空試験値を減じて検量線を作成する。

(ii) 全 MNP

前項の標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL をホールピペットを用いて別々のメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールを加えておのおの全容を 10 mL とする。5000 mol/m³ 水酸化カリウム溶液 10 mL を加え、50 % (v/v) メタノールで定容とし、波長 400 nm における吸光度を 50 % メタノールを対照として測定し、空試験値を減じて検量線を作成する。

(B) 分析操作

(i) 遊離 MNP

MEP 約 100 mg を含む試料をメスフラスコ 50 mL に正確にはかりとり、メタノールを加えてとかし、定容とし、これを試料溶液とする。

試料溶液 1 mL をホールピペットを用いてメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールを加えて全容を約 40 mL とし、約 10 °C に冷却する。あらかじめ冷却した 0.1 % 炭酸ナトリウム溶液 5 mL を加え^{注2)}、ただちにメタノールで定容とし、1 分以内に波長 400 nm における吸光度をメタノールを対照として測定する。測定値より空試験値を減じ、検量線によって遊離 MNP を算出する。

(ii) 全 MNP

前項の試料溶液 10 mL をホールピペットを用いてメスフラスコ 50 mL にとり、メタノールで定容とする。この液 1 mL をホールピペットを用いてすりあわせ三角フラスコ (容量 100 mL) にとり、5000 mol/m³ 水酸化カリウム溶液 10 mL を加え、還流冷却器をつけて水浴上で 30 分間煮沸する。放冷後メタノール 9 mL を加え、50 % (v/v) メタノールを用いて三角フラスコの内容をメスフラスコ 50 mL に洗い移して定容とする。この液の波長 400 nm における吸光度を 50 % (v/v) メタノールを対照として測定し、空試験を減じ、検量線によって全 MNP を算出する。

(iii) MEP

次式により MEP の百分率を算出する。

$$\text{MEP (\%)} = \frac{[\text{全 MNP}(\mu\text{g}) \times 25 - \text{遊離 MNP}(\mu\text{g}) \times 5] \times 1.81}{\text{試料重量 (mg)}}$$

2. 粉剤，水和剤

(A) 検量線の作成

乳剤の分析法に準ずる

(B) 分析操作

(i) 遊離 MNP

MEP 約 16 mg を含む試料を三角フラスコ（容量 100 mL）に正確にはかりとり，メタノール 50 mL をホールピペットを用いて加え，密栓して 30 分間ふりまぜたのち，乾いた No. 5C の濾紙で手早く濾過して濾液を試料溶液とする．

試料溶液 5 mL をホールピペットを用いてメスフラスコ 50 mL にとり，乳剤の項に準じて遊離 MNP を求める．

(ii) 全 MNP

前項の試料溶液 1 mL をホールピペットを用いてすりあわせ三角フラスコ（容量 100 mL）にとり，以下乳剤の項に準じて全 MNP を求める．

(iii) MEP

次式により MEP の百分率を算出する．

$$\text{MEP (\%)} = \frac{[\text{全 MNP}(\mu\text{g}) \times 5 - \text{遊離 MNP}(\mu\text{g})] \times 1.81}{\text{試料重量 (mg)}}$$

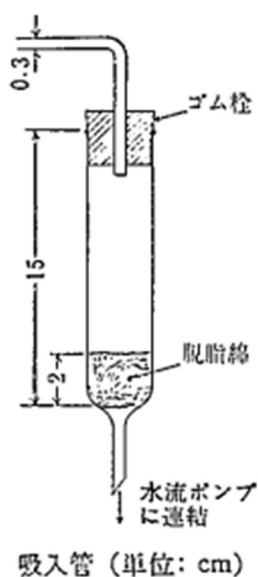
注 1) 水から再結晶し，デシケーター中で恒量になるまで乾燥した融点 129～130 °C のものを用いる．

2) ホールピペットの先の穴を大きくしたものを用い手早く加える．

ジメトエート乳剤

ジメトエート約 500 mg を含む試料を容量 20 mL の共栓三角フラスコに正確にはかりとり (A mg) , エタノール 5 mL を加えて重量をはかり (B mg) , よくふりまぜる. この液約 0.1 mL を容量 0.5 mL の注射器^{注1)}を用いて, シリカプレート^{注2)}の下端から 2.5 cm の位置に両端 3 cm ずつ残して点線状に添付する (C mg) . 別にジメトエートの位置を知るために両端から 1 cm の点に試料溶液を 1 滴ずつ添付する. ベンゼン-アセトン混合液 (7:3) を展開溶媒とし, 上昇法で 10 cm 展開を行なう^{注3)} (通常 20~30 分を要する) .

プレートを展開槽から出して風乾し, プレートの両端の試料に 0.5 % 塩化パラジウム-塩酸 (1+3) 溶液を噴霧する^{注4)} . 黄色に発色したジメトエートのスポット (Rf 約 0.4) にはさまれた部分のプレートに短波長の紫外線^{注5)}を照射し, 暗紫色を呈する部分に印をつける. その部分のシリカをミクロスパーテルでかきおこし, 吸入管 (図) に完全に吸い取る. メタノールで湿した脱脂綿でミクロスパーテルおよびシリカを吸いとったあとのガラス面をふいて, その脱脂綿を吸入管に入れる. 吸いこみ口のガラス管に付着したシリカをメタノールで吸入管に洗い入れ, メタノールの量が 5~10 mL になったとき, 吸いこみ口にゴム球を付し, 圧力をかけてジメトエートを溶出させ, 50 mL のメスフラスコに受ける. メタノールの全量が約 45 mL になるまでこの操作を繰り返す, メタノールを加えて定容とする.



この液 10 mL をホールピペットを用いて容量 30 mL のナス型フラスコにとり, ガラス玉 (直径 2~3 mm) 1 個を入れ, フラスコを 70~90 °C の水浴にひたし減圧で溶媒を留去する. 溶媒が留去されたらただちに水浴から出し, 水^{注6)}を用いて残留物をとかし, 容量 500 mL のヨウ素フラスコに洗い移し, 全量を約 100 mL とする.

12.5 mol/m³ 臭素液^{注7)} 10 mL をホールピペットを用いて加え, 次に塩酸 5 mL をすみやかに加え, ただちに密栓してふりまぜる. 正しく 5 分間放置したのち, 1000 mol/m³ ヨウ化カリウム溶液 5 mL を臭素ガスが逃げないように注意しながら加え, 密栓してふりまぜ, ただちに 10 mol/m³ チオ硫酸ナトリウム溶液^{注8)}で滴定し, 溶液の色が淡黄色になったとき 0.5 % デンプン指示薬^{注9)} 1 mL を加えて滴定をつづけ遊離ヨウ素によって生じた紫黒色がかろうじて消失したときを終点とする (D mL) . 別にメタノール 10 mL をナス型フラスコにとり, 同様の操作によって空試験を行なう (E mL) .

次の式によりジメトエートの百分率を算出する.

$$\text{ジメトエート (\%)} = \frac{(E - D) \times 0.1638}{A \times \frac{C}{B} \times \frac{10}{50}} \times 100$$

注 1) 試料を添付するとき以外は、注射器の針先にゴムの小片を刺して内容液が蒸発しないようにする。

なお、重量法の代わりにジメトエート約 1 g を含む試料を 10 mL のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノールで定容とし、その 0.1 mL を容量補正を行なったマイクロシリンジなどを用いてプレートに添付してもよい。

- 2) 薄層クロマトグラフ用シリカゲル 27 g に焼石膏 3 g を加え、乳鉢中でよくかきまぜ、水 40 mL を加えてすみやかにかきまぜ、さらに水 20 mL を追加して激しくかきまぜ、アプリケーターを用いてガラス板 (20×20 cm) 上に 500 μ の厚さに広げる。このとき水を最初に加えてから広げ終わるまで 4 分以内に行なうようにする。室温で約 30 分間自然乾燥したのち、130 $^{\circ}$ C で 1 時間以上加熱して活性化する。放冷後、シリカゲルを入れた容器中に保存し、1 週間以内に使用する。
- 3) 展開する 30 分前に展開溶媒で湿した沔紙を展開槽の壁に貼り、槽内を溶媒の蒸気で飽和させておく。展開溶媒は約 5 mm の深さに入れる。
- 4) 0.5 % 塩化パラジウム-塩酸 (1+3) 溶液をプレートの両端に噴霧するとき、中央部の試料にかからないように注意する。
- 5) 250 nm を中心とする短波長の紫外線を用いる。
- 6) この分析において使用する水は、すべて新しく調製した脱イオン水または煮沸して二酸化炭素を除去した蒸留水を用いる。
- 7) 特級試薬の臭素酸カリウム 0.7 g と特級試薬の臭化カリウム 4 g をとくして 1 L とし、密栓して保存する。
- 8) 特級試薬のチオ硫酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 26 g を水にとくして 1 L とし、ソーダ石灰管をつけて冷暗所に保存し、使用する当日に 10 倍にうすめる。ヨウ素標準溶液または標準試薬のヨウ素酸カリウムを用いて正確な濃度をきめる。
- 9) 特級試薬を用いる。

テトラジホン乳剤・水和剤・粉剤

1. 試薬および装置

テトラジホン純品：エタノールを用いて再結晶する．m.p. 145～146 °C．

有機溶剤：試薬 1 級品を総ガラス製蒸留装置を用いて蒸留する．とくにメタノールについては波長 250 nm と 277 nm に吸収のないことを確かめておく．

吸入管（第 1 図），紫外線照射器，横型展開そう，アルミナプレート：MPP 剤の公定検査法に準ずる．

2. 検量線の作成

テトラジホン純品約 50 mg を正確に秤りとり，100 mL のメスフラスコに移し，メタノールで定容とする．この液 10 mL をホールピペットで 50 mL のメスフラスコにとりメタノールで定容とし，標準溶液とする．標準溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL をホールピペットで別々の 50 mL のメスフラスコにとり，メタノールで定容とする．これらの液について，波長 250 nm における吸光度と 277 nm における吸光度とを測定し，その差を求めて検量線を作成する．

3. 分析操作

A. 乳剤

テトラジホン約 30 mg を含む試料を正確に秤りとり，10 mL のメスフラスコに移しエーテルで定容とする．

この液 1 mL をホールピペットで乾式アルミナプレートの下端から 3 cm の位置に両端 2 cm ずつ残して線状に添付する．横型展開そう中で n-ヘキサン-エーテル混合液 (9:1 v/v) を用いて上昇法で 10 cm 展開する (7 分を要す)．展開後，暗所でプレートに紫外線 (中心波長 250 nm) を照射し，暗紫色を呈する部分 (Rf 値約 0.3) に印をつけておく．20 分間放置し，溶媒を蒸発させたのち，印をつけた部分のアルミナを吸入管に吸いとり．吸入管の内壁を洗うようにしてメタノール約 10 mL を加え，よくかき混ぜ，吸い込み口に加圧用ゴム球をつけ，圧力を加えてテトラジホンを溶出させ，50 mL のメスフラスコに受ける．この操作を 4 回くり返し，メタノールで定容とする．

この液 5 mL をホールピペットで 25 mL のメスフラスコにとり，メタノールで定容とする．この液について波長 250 nm と 277 nm とにおける吸光度をそれぞれ測定し，その差を求め，検量線によって，テトラジホンの量を算出する．

B. 水和剤

テトラジホン約 80 mg を含む試料を吸入管に正確に秤りとり，濾過助剤^{注1)} 0.1～0.5 g を加え，エーテル約 20 mL を加えてよくかき混ぜ，吸い込み口に加圧用ゴム球をつけ，圧力を加えてテトラジホンを溶出させ 200 mL のナス型フラスコに受ける．この操作を 4 回くり返す．

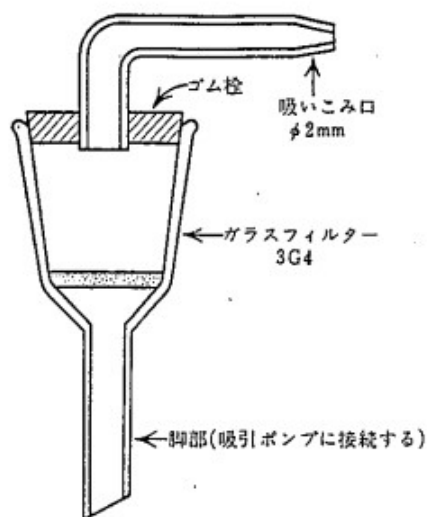
この溶出液を液量が約 5 mL となるまで濃縮し，放冷したのち 25 mL のメスフラスコに洗い移し，エーテルで定容とする．

この液 1 mL をとり，以下乳剤の分析操作法に準ずる．

C. 粉剤

テトラジホン約 80 mg を含む試料を吸入管に正確に秤りとり，濾過助剤約 1 g を加え，以下水和剤の分析操作に準ずる．

注 1) フィルターセル，たとえばセライト 545



第 1 図 吸入管

ジチアノン水和剤

1. 試薬

ジチアノン純品：ベンゼンを用いて再結晶する．m. p. 208 °C（分解）．

アセトン：1 級試薬に過マンガン酸カリウムを加えて 1 時間還流煮沸し，無水硫酸ナトリウムで脱水し，蒸留する．

メタノール：1 級試薬を蒸留する．

3 % 硫化ナトリウム溶液：特級硫化ナトリウム ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 30 g を水にとかして 1 L とする．使用のたびに作製する．開封後長時間たったものは使用しない．

2. 検量線の作成

ジチアノンの純品約 100 mg を正確にはかりとり，100 mL のメスフラスコ中にアセトンで洗い移してとかし，定容とする．この液 2, 3, 4 mL をホールピペットで別々の 100 mL のメスフラスコにとり，メタノールで定容として標準溶液とする．

おのおのの濃度の標準溶液 5 mL を別々の 25 mL のメスフラスコにホールピペットでとり，20～25 °C の恒温水槽にひたす．20～25 °C の 3 % 硫化ナトリウム溶液を手早く加えて定容とし，軽く数回ふりまぜ，375 nm における吸光度を水を対照として測定する^{注 1)}．

メタノール 5 mL を同様に処理して空試験値を測定し，各測定値から減じて検量線を作成する．

3. 分析操作

ジチアノン約 150 mg を含む試料を正確にはかりとり，100 mL のメスフラスコにアセトンで洗い移して定容とし，ときどきふりまぜながら 1 時間放置する．上澄液 1 mL をホールピペットで 50 mL のメスフラスコにとり，メタノールで定容とする^{注 2)}．

この液 5 mL をホールピペットで 25 mL のメスフラスコにとり，以下検量線の作成と同様に処理して吸光度を測定し，空試験値を減じ，検量線によってジチアノンの量を求める．

注 1) 吸光度の測定は硫化ナトリウム溶液を加えてから 1～3 分の間に数回行ない，その最高値をとる．

2) この液が濁っている場合には乾いた濾紙で手早く濾過し，中心の部分をとる．

2,4 PAナトリウム一水化物およびジメチルアミン除草剤

1. 試薬および装置

2,4-ジクロルフェノキシ酢酸 (2,4 PA) 標準品: ベンゼンを用いて再結晶する.

m. p. 139~140 °C.

有機溶剤: 試薬 1 級品を蒸留する.

ジメトキシプロパン-メタノール溶液: 使用のたびに 2,2-ジメトキシプロパン, メタノール, 塩酸をそれぞれ 6:2.5:0.2 (容量比) の割で混合し, 2,4 PA 0.1 g に対し, この液 1 mL の割で加える.

装 置: 熱伝導度検出器つきガスクロマトグラフ.

分 離 管: 内径 4 mm, 長さ 2 m, ステンレス製.

充てん剤: アピエゾングリース L 20 %/セライト 545 (250~355 μ m).

内標準物質: ジエチルフタレート (DEP).

2. 検量線の作成

2,4-ジクロルフェノキシ酢酸 (2,4 PA) の標準品約 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 g を正確にはかり, それぞれ容量 50 mL の共栓三角フラスコにとり, ジメトキシプロパン-メタノール溶液 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL を加えてふりまぜ, 密栓して 4 時間放置する.

つぎにエーテル 50 mL で分液漏斗に洗いうつし, 1 % 炭酸ナトリウム溶液 10 mL で洗い, ついで水 5 mL で洗う. エーテル層を容量 100 mL の共栓三角フラスコにうつし水浴上でエーテルを留去し, これに内標準物質としてジエチルフタレート (DEP) 約 0.2 g を正確に加え, アセトン 2 mL を加えてふりまぜる^{注1)}. その 10 μ L をマイクロ注射器でとり, 下記の操作条件により, クロマトグラムを記録し, 2,4 PA メチルおよび DEP のピーク面積を半値幅法で測定し, ピーク面積比を求め, 重量比に対する検量線を作成する.

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度: 230 °C

試料気化室温度: 270 °C

キャリアーガス流速: ヘリウム 20 mL/分

検出器フィラメント電流: 180 mA

感度 (レンジ): 16 mV

記録紙送り速度: 2 cm/分

3. 分析操作

2,4 PA 約 0.2 g を含む試料を正確にはかりとり, 水 50 mL で分液漏斗に洗いうつして溶かし, 2000 mol/m³ 塩酸 5 mL を加えてふりまぜエーテル 50 mL で 2 回抽出する. エーテル層を合わせ, 水 30 mL で洗い水浴上でエーテルを留去する. 硫酸デシケーター中で一夜減圧乾燥したのち, ジメトキシプロパン-メタノール溶液 2 mL を加えてふりまぜ, 密栓して, 4 時間放置し, メチルエステルとする.

以下検量線作成のときと同様に操作し, 試料中の 2,4 PA の量を求め, それぞれ次式を用いて

有効成分の量を算出する.

$$\text{2,4 PA ナトリウム一水化物 (\%)} = \frac{\text{2,4 PA (g)} \times 1.181}{\text{試 料 (g)}} \times 100$$

$$\text{2,4 PA ジメチルアミン (\%)} = \frac{\text{2,4PA (g)} \times 1.204}{\text{試 料 (g)}} \times 100$$

注 1) 標準品と内標準物質の重量比 (2,4 PA/DEP) は 0.5~1.5 となる.

MCPナトリウム除草剤

1. 試薬および装置

2-メチル-4-クロルフェノキシ酢酸 (MCP) 標準品 : MCP をベンゼンを用いて再結晶する.
m. p. 119~120 °C.

内標準物質 : ジメチルフタレート (DMP) .

その他の試薬および装置は 2,4 PA ナトリウム一水化物剤および 2,4 PA ジメチルアミン剤に準ずる.

2. 検量線の作成

内標準物質としてジメチルフタレート (DMP) を使用する以外は 2,4 PA ナトリウム一水化物剤および 2,4 PA ジメチルアミン剤に準ずる.

3. 分析操作

分析操作は 2,4 PA ナトリウム一水化物剤および 2,4 PA ジメチルアミン剤に準ずる.
ただし, 試料中の有効成分の量はつぎの式によって算出する.

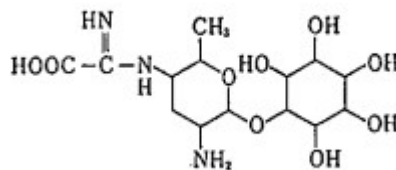
$$\text{MCP ナトリウム (\%)} = \frac{\text{MCP (\%)} \times 1.110}{\text{試 料 (\%)}} \times 100$$

カスガマイシンの主成分とする製剤

(液剤・水和剤・粉剤)

I. カスガマイシンの定義及び解説

I-1. カスガマイシンは、*Streptomyces kasugaensis* の培養液から得られる抗生物質で、次に示される化学構造を有するものである。その他の方法で得られた同一物質もカスガマイシンという。



I-2. 「標準カスガマイシン」とは、常用標準カスガマイシンの力価を定めるため、農林省農薬検査所によって指定された一塩酸カスガマイシンの結晶 ($C_{14}H_{26}O_9N_3 \cdot H_2O \cdot HCl$) をいう。

I-3. カスガマイシンの「力価」とは、製剤中に含まれるカスガマイシンの重量 (μg , mg または g) をいう。60 °C, 670 Pa またはそれ以下の減圧下で 3 時間乾燥した標準カスガマイシン 1.14 μg (重量) はカスガマイシン 1 μg (力価) を含有する。

I-4. 「常用標準カスガマイシン」とは、カスガマイシン製剤の力価を定めるための標準として、独立行政法人農薬検査所によって指定された一塩酸カスガマイシンの結晶をいう。

I-5. 常用標準カスガマイシンの本質及び純度

常用標準カスガマイシンはカスガマイシンの一塩酸塩の白色結晶粉末である。

その純度は次のとおりである。

- (1) 力価は、850 μg (力価) / mg 以上である。
- (2) 含湿度は 5.0 % 以下である。
- (3) 無菌である。

II. カスガマイシンの力価試験

II-1. 円筒 (カップ)

不銹鋼の円筒で外径 8 $\pm$ 0.1 mm, 内径 6 $\pm$ 0.1 mm, 高さ 10 $\pm$ 0.1 mm であること。

II-2. 培地

培地は目的に応じて下記 (次頁) 処方のものを用いる。

II-3. 常用標準カスガマイシン希釈液

常用標準カスガマイシンを I-3 に準じて乾燥し、その適当量を正確にはかりとり、無菌の蒸留水にとかして 3.0 mg (力価) / mL の原液をつくる。原液は 10 °C 以下に保存し 7 日間使用することができる。この原液から 1000/15 mol/m^3 リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 300 μg (力価) / mL およびさらに上記緩衝液で正確に 2 倍に希釈した 150 μg (力価) / mL の希釈液をつくる。

II-4. 試料の調製

II-4-A. 液剤 カスガマイシンとして約 30 mg を含む試験品を 100 mL 容メスフラスコに

正確にはかりとり，1000/15 mol/m³ リン酸緩衝液（pH 7.0）で定容とし，300 μg（力価）/mL（推定値）の試料液とする．さらに上記緩衝液で正確に 2 倍希釈して 150 μg（力価）/mL（推定値）の試料希釈液をつくる．

II-4-B. 水和剤 カスガマイシンとして約 15 mg を含む試験品を 200 mL 容共栓フラスコに正確にはかりとり，陽イオン表面活性剤^{注1)} 加用 1000/15 mol/m³ リン酸緩衝液^{注2)}（pH 7.0）を 50 mL 加える．室温で 10 分間容器ごと振りまぜたのち，定量濾紙（No. 5A）で濾液し，300 μg（力価）/mL（推定値）の試料液とする．さらに 1000/15 mol/m³ リン酸緩衝液（pH 7.0）で正確に 2 倍に希釈して 150 μg（力価）/mL（推定値）の試料希釈液をつくる．

培地番号	1	2
使用目的	種層及び基層用	継代保存用
ブドウ糖	5 g	
ペプトン	5 g	5 g
グルタミン酸		2 g
ナトリウム		
りん酸二水素		2 g
カリウム		
塩化マグネシウム		1 g
硫酸第一鉄		0.1 g
ショ糖		20 g
酵母エキス		2 g
寒天末	10～15 g	10～15 g
蒸留水	加えて 1000 mL	加えて 1000 mL
滅菌後の pH	7.0	7.0

II-4-C. 粉剤 カスガマイシンとして約 15 mg を含む試験品を 200 mL 容共栓フラスコに正確にはかりとり，陽イオン表面活性剤^{注1)} 加用 1000/15 mol/m³ リン酸緩衝液^{注2)}（pH 7.0）を 50 mL 加える．室温で約 1 分間はげしく振りまぜ，さらに 10 分間容器ごと振りまぜる．この液を遠心分離（3,000 回転/分、10 分間）し，その上澄液を定量濾紙（No. 5A）で濾過した液を 300 μg（力価）/mL（推定値）の試料液とする．さらに 1000/15 mol/m³ リン酸緩衝液（pH 7.0）で正確に 2 倍に希釈して 150 μg（力価）/mL（推定値）の試料希釈液をつくる．

II-5. 試験菌浮遊液の調製

試験菌には *Pseudomonas fluorescens* NIHJ B-254 を用いる．試験菌は 2 号培地に培養して保存する．これを 2 号培地の試験管斜面に 25° ～27 °C で 7 日間培養し，無菌の蒸留水で 3 回洗ったのち，ふたたび無菌の蒸留水に浮遊させる．明瞭な阻止帯をあらわすために種層用寒天に加える試験菌浮遊液の適当量をあらかじめ定めておく．

II-6. 平板の調製

滅菌したペトリ皿（内径 90 mm）に 1 号培地 20 mL を注いで水平に置き凝固させ基層とする。種層用寒天 100 mL を溶かして 45° ～48 °C に冷却し、II-5 の菌浮遊液を加えてよく混和する。その 4 mL を基層平板上に一様に広げて固化させる。4 個の円筒を種層上半径約 2.5 cm の円周上に約 90 ° の間隔で置く。この際には、それを約 1.3 cm の高さから機械的に落とす。

II-7. 試験法

各試験品について平板 5 枚を使用する。各平板の第 1 の円筒には常用標準カスガマイシンの 300 μ g（力価）/mL 希釈液、第 2 の円筒には常用標準カスガマイシン 150 μ g（力価）/mL 希釈液、残りの 2 個の円筒には試験品の 300 μ g（力価）/mL（推定値）および 150 μ g（力価）/mL（推定値）の試料希釈液をそれぞれみたく。平板を定温器中に納め、26° ～28 °C で 16～20 時間培養ののち、おのこの阻止円の直径を 0.5 mm まで正確にはかる。

II-8. 力価の計算

阻止円の測定値を下表の相当欄に記入する。ただし常用標準カスガマイシンの 300 μ g（力価）/mL と 150 μ g（力価）/mL 希釈液の阻止円の直径がそれぞれ S_H 、 S_L に相対し、対応する試験品希釈液の阻止円の直径が U_H 、 U_L である。

	U_H	U_L	S_H	S_L
i	mm	mm	mm	mm
ii				
iii				
iv				
v				
計	ΣU_H	ΣU_L	ΣS_H	ΣS_L

円筒内の液体の力価（ P ）と阻止円の直径（ d ）との間には $d = \alpha \log P + \beta$ （ α 、 β は常数）の関係式が成立するから、常用標準カスガマイシンの力価（ P_s ）に対する試験品の力価（ P_v ）の比 $\theta \left(= \frac{P_v}{P_s} \right)$ は次式を計算して求める。

$$\log \theta = \frac{(\Sigma U_H + \Sigma U_L) - (\Sigma S_H + \Sigma S_L)}{(\Sigma U_H + \Sigma S_H) - (\Sigma U_L + \Sigma S_L)} \times \log 2$$

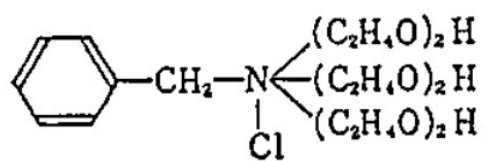
求めた力価の比が $1.5 > \theta > 0.5$ の範囲外に出る場合にはこの結果を考慮して、試験品の表示力価を適宜に修正して試験を繰返す。

II-9. 結果の判定

上記の方法で試験した結果、表示力価の 85～130 % を含むとき合格とする。

注 1) 陽イオン表面活性剤

この試験に用いる陽イオン表面活性剤は、benzyl tri (di-oxyethylene) -ammonium chloride でつぎの化学構造を有し、農林省農薬検査所によって指定された製品である。



注 2) 陽イオン表面活性剤加用りん酸緩衝液

りん酸二水素カリウム (KH_2PO_4)	3.6 g
りん酸水素二ナトリウム ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	14.3 g
陽イオン表面活性剤	2.5 g
蒸留水を加えて 1 L とする.	

2, 4 PA エチル除草剤（水和剤および粒剤）

1. 試薬および装置

2, 4-ジクロルフェノキシ酢酸エチル（2, 4 PA エチル）標準品：

分取ガスクロマトグラフを用いて精製する． b. p. 174 °C/2400 Pa

有機溶剤：1 級品を蒸留する．

1000 mol/m³ 硫酸：特級品を用いてつくる．

内標準物質：ジメチルフタレート（DMP）

装置，分離管，充てん剤：2, 4 PA ナトリウム－水化物剤の公定検査法に準ずる．

2. 検量線の作成

2, 4-ジクロルフェノキシ酢酸エチル（2, 4 PA エチル）の標準品約 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 g をそれぞれ容量 50 mL の共せん三角フラスコに正確にはかりとり，これに内標準物質としてジメチルフタレート（DMP）約 0.2 g を正確にはかりとって加え，アセトン 2 mL を加えてふりまぜる．⁽¹⁾ その 10 μ L をマイクロ注射器でとり，2, 4 PA ナトリウム－水化物剤の公定検査法と同様の操作条件でクロマトグラムを記録し，2, 4 PA エチルおよび DMP のピーク面積を半値巾法で測定し，ピーク面積比を求め，重量比に対する検量線を作成する．

3. 分析操作

2, 4 PA エチル約 0.2 g を含む試料を正確にはかり，容量 300 mL の三角フラスコにとり，エタノール 100 mL を加え，水浴上で 1 時間還流煮沸する．放冷後，ガラス濾過器（G3）で濾過し約 50 mL のエタノールで洗い，洗液を濾液に合わせ 1000 mol/m³ 硫酸 0.4 mL を加えロータリーエバポレーターを用いてエタノールを留去する．⁽²⁾ 残留物をエーテル 50 mL で容量 200 mL の分液漏斗に移し，水 50 mL で洗い，水浴上でエーテルを留去する．硫酸デシケーター中で減圧乾燥したのち内標準物質として DMP 約 0.2 g を正確にはかりとって加え，アセトン 2 mL を加えてふりまぜる．

以下，検量線の作成のときと同様に操作し，試料中の 2, 4 PA エチルの量を検量線より求め百分率を算出する．

注：（1）標準品と内標準物質の重量比（2, 4 PA エチル/DMP）は 0.5～1.5 となる．

（2）通常の減圧蒸留装置を用いて留去するときは，過小の測定値を得ることがあるので，ロータリーエバポレーターを使用すること．

MC P エチル除草剤（水和剤及び粒剤）

1. 試薬および装置

2-メチル-4-クロルフェノキシ酢酸エチル（MC P エチル）標準品：分取ガスクロマトグラフを用いて精製する． b. p. 158 °C / 2100 Pa

内標準物質：ジ-n-プロピルフタレート（DPP）

有機溶剤	}	2, 4 PA エチル剤の分析法に準ずる。
1000 mol/m ³ 硫酸		
装 置		
分 離 管		
充てん剤		

2. 検量線の作成および分析操作

内標準物質としてジ-n-プロピルフタレート（DPP）を使用するほかは 2, 4 PA エチル剤に準ずる．

PAP 乳剤

1. 試薬および装置

PAP 純品：エタノール，n-ヘキサンを用いて再結晶^{注1)}

内標準物質：ジブチルフタレート（DBP），特級品

装 置：熱伝導度検出器つきガスクロマトグラフ^{注2)}

分 離 管：内径 4 mm，長さ 1 m，ステンレス製

充 て ん 剤：シリコン HV グリース 15 %/クロモソルブ W (AW) (180~250 μ m)

2. 検量線の作成

PAP の純品約 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 g をそれぞれ容量 25 mL の共せん三角フラスコに正確にはかりとり，これに DBP 約 0.2 g を正確にはかりとって加え，トルエン 2 mL を加えてふりまぜる．その 4 μ L をマイクロ注射器でとり，下記の操作条件によりクロマトグラムを記録し，PAP および DBP のピーク面積を半値幅法で測定し，ピーク面積比を求め重量比に対する検量線を作成する．

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度：195 $^{\circ}$ C

試料気化室温度：約 210 $^{\circ}$ C

キャリアーガス流速：ヘリウム 60 mL/分

検出器フィラメント電流：200 mA

感度（レンジ）：4 mV

記録紙送り速度：20 mm/分

3. 分析操作

PAP 約 0.2 g を含む試料を容量 25 mL の共せん三角フラスコに正確にはかりとり，これに DBP 約 0.2 g を正確にはかりとって加え，トルエン 2 mL を加えてふりまぜ試料溶液とする．

以下，検量線作成のときと同様の操作を行ない，試料中の PAP の量を検量線より求め，百分率を算出する．

注 1) PAP 純品の調製法：

PAP 原体 10 g を 100 mL 三角フラスコにとり，エタノール 10 mL，n-ヘキサン 5 mL を加えて溶解する．-5 $^{\circ}$ C まで，かきまぜながら徐々に冷却し，PAP の結晶を少量加えると結晶が析出する．

結晶を減圧濾過し，冷却した n-ヘキサンので洗浄したのち，デシケーターに入れて減圧乾燥する．白色結晶 m. p. 16~17 $^{\circ}$ C ．

- 2) 試料注入口に固体試料用器具（試料筒，閉そく弁，および閉そく弁スプリング）があるものはこれを除去する.

ストレプトマイシンを主成分とする製剤

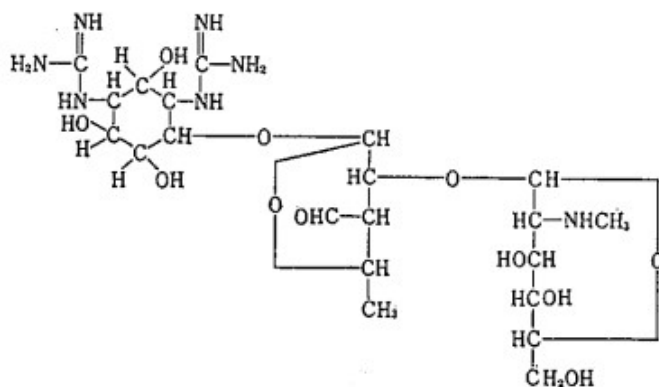
(液剤・水和剤・粉剤)

I. ストレプトマイシンの定義及び解説

I-1. ストレプトマイシンは *Streptomyces griseus* の培養液から得られる抗生物質で、次(次頁)に示される化学構造を有するものである。その他の方法で得られた同一物質もストレプトマイシンという。

I-2. 「標準ストレプトマイシン」とは、常用標準ストレプトマイシンの力価を定めるため Department of Health, Education and Welfare : Food and Drug Administration, U. S. A. から国立感染症研究所に送付された特定製造番号の塩酸ストレプトマイシン塩化カルシウムの結晶をいう。

I-3. ストレプトマイシンの「力価」とは、製剤中に含まれるストレプトマイシン塩基の重量 (μg , mg 又は g) をいう。56 $^{\circ}\text{C}$, 670 Pa 又はそれ以下の減圧下で 4 時間乾燥した標準ストレプトマイシン 1.38 μg (重量) は、ストレプトマイシン 1 μg (力価) を含有する。



Streptose

meso- (2,4-Diguanidinotrihydroxycyclohexyl) - α -glucoside
of 2-(4-methyl- α -L-glucopyranosaminido)-3-C-formyl-5-
desoxy-L-lyxose (streptomycin, $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_{12}$)

I-4. 「常用標準ストレプトマイシン」とは、ストレプトマイシン製剤の力価を定めるための標準として、国立感染症研究所によって製造された特定製造番号の硫酸ストレプトマイシン又は塩酸ストレプトマイシン塩化カルシウムの結晶をいう。

I-5. 常用標準ストレプトマイシンの本質及び純度

常用標準ストレプトマイシンは硫酸ストレプトマイシン又は塩酸ストレプトマイシン塩化

カルシウムの結晶である。

その純度は次のとおりである。

- (1) 力価は、 $650 \mu\text{g}$ (力価) /mg 以上である。
- (2) 含湿度は 5.0 % 以下である。
- (3) 無菌である。

II. ストレプトマイシンの力価試験

II-1. 円筒 (カップ)

不銹鋼の円筒で外径 $8 \pm 0.1 \text{ mm}$ ，内径 $6 \pm 0.1 \text{ mm}$ ，高さ $10 \pm 0.1 \text{ mm}$ であること。

II-2. 培地

培地は目的に応じて下表のものをを用いる。

培地番号	1 号	2 号
使用目的	種層及び基層用	継代保存及び増殖用
ペプトン	5.0 g	10.0 g
肉エキス	3.0 g	5.0 g
塩化ナトリウム		2.5 g
寒天	15.0 g	15.0 g ~ 20.0 g
蒸留水	加えて 1,000 mL	加えて 1,000 mL
滅菌後の pH	7.8 ~ 8.0	6.5 ~ 6.6

II-3. 常用標準ストレプトマイシン希釈液

常用標準ストレプトマイシンを I-3 に準じて乾燥し，その適当量を正確にはかりとり，無菌の 50 mol/m^3 リン酸緩衝液 (pH 6.0) にとかして $400 \mu\text{g}$ (力価) /mL の原液を作る。原液は 15°C に保存し 30 日間使用することができる。この原液から 100 mol/m^3 リン酸緩衝液 (pH 7.8~8.0) で $8.0 \mu\text{g}$ (力価) /mL およびさらに正確に 4 倍に希釈した $2.0 \mu\text{g}$ (力価) /mL の希釈液をつくる。

II-4. 試料の調製

II-4-A. 液剤・水和剤 ストレプトマイシンとして約 40 mg を含む試験品を 100 mL 容メスフラスコに正確にはかりとり，無菌の蒸留水で標線まで満たす。室温で約 10 分間振りまぜたのち，上澄液を $400 \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定量) の試料原液とする。この原液を 100 mol/m^3 リン酸緩衝液 (pH 7.8~8.0) で正確に希釈して $8.0 \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料液とする。さらに上記緩衝液で正確に 4 倍に希釈して $2.0 \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料希釈液とする。

II-4-B. 粉剤 ストレプトマイシンとして約 40 mg を含む試験品を 200 mL 容共栓フラスコに正確にはかりとり，これに無菌の蒸留水 100 mL を試験品と液とをよくなじませるように徐々に加えて室温で約 15 分間振りまぜる。この液を遠心分離 (3,000 回転/分，15 分間) して，上澄液を $400 \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料原液とする。この原

液を 100 mol/m^3 リン酸緩衝液 (pH 7.8~8.0) で正確に希釈して $8.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料液とする。さらに上記緩衝液で正確に 4 倍に希釈して $2.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料希釈液とする。

II-5. 試験菌の孢子浮遊液の調製

試験菌には枯草菌 *Bacillus subtilis* PCI 219 を用いる。試験菌は 2 号培地に培養して保存する。これをルービンの中の 2 号培地に $32\sim37\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1 週間培養して孢子をつくらせる。孢子を無菌の蒸留水に浮遊させ 30 分間遠心沈でん (3,000 回転/分) して、その上澄液を捨てたものに無菌の蒸留水適当量を加えてふりまぜたのち 24 時間間隔で $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ に 30 分間 2 回加熱し、5 分間遠心沈でん (1,000 回転/分) してその上層液を採取し、明瞭な阻止帯をあらわすために種層用寒天に加える孢子浮遊液の適当量を予め定めておく。

II-6. 平板の調製

滅菌したペトリ皿 (内径約 90 mm) に 1 号培地 20 mL を注いで水平に置き凝固させて基層とする。種層用寒天は融解後 $60\sim62\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却し、II-5 の菌浮遊液を加えてよく混和し、その 4 mL を基層平板上に一様に拡げて固化させる。4 固の円筒を種層上半径 2.5 cm の円周上約 90° の間隔で置く。この際には、それを約 1.3 cm の高さから機械的に落とす。

II-7. 試験法

各試験品について平板 5 枚を使用する。各平板の第 1 円筒には、常用標準ストレプトマイシンの $8.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL 希釈液、第 2 の円筒には、常用標準ストレプトマイシンの $2.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL 希釈液、残りの 2 箇の円筒には $8.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) および $2.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL (推定値) の試料希釈液をそれぞれみたく。平板をふ卵器中に納め、 $32\sim37\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 16~18 時間培養する。培養ののち、おのこの阻止円の直径を 0.5 mm まで正確にはかる。

II-8. 力価計算

阻止円の測定値を下表の相当欄に記入する。但し常用標準ストレプトマイシンの $8.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL と $2.0 \text{ } \mu\text{g}$ (力価) /mL の阻止円の直径がそれぞれ S_H 、 S_L に相対し、対応する試料希釈液の阻止円の直径が U_H 、 U_L である。

	U_H	U_L	S_H	S_L
i	mm	mm	mm	mm
ii				
iii				
iv				
v				
計	ΣU_H	ΣU_L	ΣS_H	ΣS_L

円筒内の液体の力価 (P) と阻止円の直径 (d) との間には $d = \alpha \log P + \beta$ (α , β は常数) の関係式が成立するから常用標準ストレプトマイシンの力価 (P_S) に対する試験品の力価

(P_U) の比 $\theta \left(= \frac{P_U}{P_S} \right)$ は次式を計算して求める。

$$\log \theta = \frac{(\sum U_H + \sum U_L) - (\sum S_H + \sum S_L)}{(\sum U_H + \sum S_H) - (\sum U_L + \sum S_L)} \times \log 4$$

求めた力価の比が $1.5 > \theta > 0.5$ の範囲外に出る場合にはこの結果を考慮して，試験品の表示力価を適宜に修正して試験を繰返す．

II-9. 結果の判定

上記方法で試験した結果，表示力価の 90～125 % を含むとき合格とする．

ストレプトマイシン及びオキシテトラサイクリンを成分とする

抗生物質剤（アグリマイシン）

1. ストレプトマイシン

試料の調製は次のように行ない、ストレプトマイシンを含む抗生物質剤の検査法に準ずる。

試験品のストレプトマイシン 300 mg（力価）に対応する量（推定値）を正確に秤量し、100 mol/m³ リン酸カリウム緩衝液（pH 7.8～8.0）100 mL を加えてよくふりまぜた後濾過して試料原液を作る。更にこれを 100 mol/m³ リン酸カリウム緩衝液（pH 7.8～8.0）で正確に希釈して 8 μg（力価）/mL（推定値）及び 2 μg（力価）/mL（推定値）の試料希釈液を作る。

2. オキシテトラサイクリン

オキシテトラサイクリン約 30 mg を含む試料を 100 mL のメスフラスコに正確にはかりとり、10 mol/m³ 塩酸溶液を加えて定容とし、よくふりまぜた後乾燥濾紙でこす。濾液 3 mL をメスピペットでとり、100 mL のメスフラスコに移してクラークラップス混合緩衝溶液（pH 2.0）^{注1)}で定容とする。この溶液の波長に 353 nm おける吸光分光光度計で測定する。

別に同様の方法で行なった空試験の吸光度を差引きオキシテトラサイクリンによる吸光度（E 353）を求める。

つぎの式によってオキシテトラサイクリンの百分率を算出する。

$$\text{オキシテトラサイクリン(\%)} = \frac{\frac{E_{353}}{36.6} \times 100 \times \frac{100}{3}}{\text{試料(mg)}} \times 100$$

注1) 200 mol/m³ 塩酸溶液 10.6 mL に 200 mol/m³ 塩化カリウム溶液 50 mL を加え、水で全量を 200 mL とする。

BPMC 乳剤

1. 試薬および装置

有機溶剤：蒸留精製して用いる。

BPMC 純品：工業用 BPMC 原体 100 g をエーテル-ヘキサン混合液 (3:10 V/V) にとかし、アセトン-ドライアイス中で冷却し結晶を析出させる。この操作を 5~6 回くり返す。M.P. 31 °C

分解液：150 mol/m³ 水酸化カリウム-メタノール溶液。

発色剤：0.03 % パラニトロベンゼンジアゾニウムフルオルボレート-メタノール液，使用のつど調製。

シリカプレート	}	CMP 乳剤の公定検査法に準ずる。
展開槽		
紫外線照射器		
吸入管		

2. 検量線の作成

BPMC 純品約 60 mg を 100 mL のメスフラスコに正確に秤りとり，メタノールを加えて定容とする。この液 2 mL をホールピペットを用いて 50 mL のメスフラスコにとり，メタノールを加えて定容とし標準液とする。

標準液 1, 2, 3, 4, 5 mL をホールピペットを用いて別々の 25 mL のメスフラスコにとり，メタノールを加えて内容を 5 mL とし，分解液 1 mL を加え，45 °C の水浴中で 40 分間分解反応を行なう。

分解後直ちに氷水中に浸し 12 分間冷却し，ふりまぜながらこの液に発色剤 2 mL を滴下する。室温に 20 分間放置し，メタノールで定容とする。

この液を波長 515 nm でメタノールを対照として吸光度を測定し，から試験値を減じ，検量線を作成する。

3. 分析操作

BPMC 約 120 mg を含む試料を 100 mL のメスフラスコに正確に秤りとり，アセトンで定容とする。

この液 1 mL をホールピペットを用いて，シリカプレートに下端から 3 cm の位置に両端 2.5 cm ずつ残して帯状に添付する。ヘキサン-酢酸エチル混合液 (70:30 V/V) を展開剤として上昇法で 12 cm 展開する。プレートを風乾し，紫外線を照射して暗紫色部分 (R_f 0.4) に印をつける。その部分のシリカをミクロスパーテルでかきおこし，吸入管に吸いとり。メタノールでしめした脱脂綿でミクロスパーテルおよびシリカを吸いとったあとのガラス面をふきとり，吸入管に入れる。吸入管の内壁を洗うようにしてメタノール 10~20 mL を加え，かきまぜ，吸引濾過し，濾液を 100 mL のメスフラスコに受ける。メタノールの量が約 90 mL

になるまでこの操作をくり返し，メタノールで定容とする．

この液 5 mL をホールピペットを用いて 25 mL のメスフラスコにとり，以下検量線作成のときと同様に操作して吸光度を求め，検量線より BPMC の量を求め，次式により試料中の百分率を算出する．

$$\text{BPMC (\%)} = \frac{\text{BPMC (mg)} \times 100 \times \frac{100}{5}}{\text{試料 (mg)}} \times 100$$

- 1) デシケータに入れ冷暗所に保存する．

カルタップ水溶剤

1. 試薬

カルタップ塩酸塩標準品：メタノールを用いて再結晶する．分解点 183. D °C

カルタップ標準液：カルタップ塩酸塩標準品約 100 mg を 100 mL のメスフラスコに正確に秤りとり，メタノールで定容とする．

発色剤：5,5-ジチオビス-（2-ニトロ安息香酸）50 mg を 100 mL のメスフラスコに正確に秤りとり，メタノールで定容とする．

緩衝液：500 mol/m³ リン酸，500 mol/m³ ほう酸および 500 mol/m³ 酢酸をそれぞれ 80 mL とり，水で 1 L にする．これに 200 mol/m³ 水酸化ナトリウム溶液を加えて PH を 9.0 に調整する．

メタノール：試薬特級

2. 検量線の作成

カルタップ標準溶液 8 mL を 100 mL のメスフラスコに正確にとり，メタノールで定容とする．この液 1, 2, 3, 4 mL を 50 mL のメスフラスコにホールピペットを用いてとり，メタノールを加えてそれぞれ 4 mL にする．この液に発色剤 2 mL を加えてふりまぜ 20±1 °C の緩衝液を加えて定容とする．これを 25±1 °C の恒温槽中につけ正確に 60 分間放置したのち，すみやかに波長 412 nm における吸光度を緩衝液を対照として測定し，から試験値を減じ，検量線を作成する．

3. 分析操作

カルタップ約 100 mg を含む試料を容量 200 mL の共せん三角フラスコに正確に秤りとり，メタノール 100 mL を加えて 60 分間振とう抽出する．

抽出液を濾過し，濾液 5 mL を 50 mL のメスフラスコにとり，メタノールで定容とする．この液 2 mL を 50 mL のメスフラスコにとり，メタノール 2 mL，発色剤 2 mL を加えてふりまぜる．これに 20±1 °C の緩衝液を加えて定容としたのち，25±1 °C の恒温槽につける．正確に 60 分間放置したのち，以下検量線の作成のときと同様に操作して吸光度を求め，検量線よりカルタップ塩酸塩の量を求め，次式により試料中の百分率を算出する．

$$\text{カルタップ塩酸塩 (\%)} = \frac{\text{カルタップ塩酸塩(mg)} \times \frac{100}{5} \times \frac{50}{2}}{\text{試料(mg)}} \times 100$$

キャプタン水和剤

1. 試薬および装置

キャプタン純品：クロロホルムを用いて 1 回，つぎにアセトンを用いて再結晶する．(m. p. 172 °C)

キャプタン標準溶液：キャプタン純品 1 g を 25 mL のメスフラスコに秤りとり，クロロホルムで定容とする．

内標準物質溶液：ジブチルフタレート (DBP) (試薬特級) 1.5 g を 100 mL メスフラスコに秤りとり，クロロホルムで定容とする．

装置：水素炎イオン化検出器つきガスクロマトグラフ内径 3 mm，長さ 1.5 m，パイレックスガラス製，シリコンガム SE52，3 % クロモソルブ G (AW-DMCS)，180～250 μ m.

2. 検量線の作成

キャプタン標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL をそれぞれ容量 25 mL の共栓三角フラスコに正確にとり，内標準溶液 3 mL を加え，クロロホルムで全量約 10 mL とする．よくふりまぜた後，その 3 μ L をマイクロ注射器でとり，下記の操作条件によりガスクロマトグラムを記録する．キャプタンおよび DBP のピーク面積を半値巾法で測定し，ピーク面積比を求め，重量比に対する検量線を作成する．

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度	: 200 °C
試料気化室温度	: 230 °C
キャリアーガス圧	: 60 kPa (N ₂)
水素ガス流速	: 45 mL/分
空気流速	: 600 mL/分
検出器感度	: 10 ² M Ω , 0.32 V
記録紙送り速度	: 20 mm/分

3. 分析操作

キャプタン約 120 mg を含む試料を容量 50 mL の共栓三角フラスコに秤りとり，これに内標準溶液 3 mL，クロロホルム約 15 mL を加え，30 分間はげしく振とうする．ガラスフィルター (3G4) で汙過し，残渣を 50 °C に温めたクロロホルム 10 mL で 2 回洗い，汙液に洗液を合わせ，50 °C 以下で減圧濃縮し，液量を約 10 mL とし，これを試料溶液とする．以下検量線作成の場合と同様に操作し，試料中のキャプタン量を検量線より求め，百分率を算出する．

ベンチオカーブ除草剤（乳剤）

1. 試薬および装置

ベンチオカーブ純品：減圧蒸留し、沸点 140 °C/13 Pa 付近の留分を集め、ヘキサンを用いて再結晶する。（f.p 3.3 °C）

ベンチオカーブ標準溶液：ベンチオカーブ純品約 1 g を 100 mL のメスフラスコに秤とり、アセトンで定容とする。

内標準物質溶液：安息香酸ベンジル（試薬特級）5 g を 100 mL のメスフラスコに秤とり、アセトンで定容とする。

内標準 10 倍希釈液：内標準溶液 5 mL をホールピペットで 50 mL のメスフラスコにとり、アセトンで定容とする。

装置：水素炎イオン化検出器つきガスクロマトグラフ（オンカラム方式）。

分離管：内径 3 mm, 長さ 1.5 m, パイレックスガラス製。

充てん剤：シリコン OV-17.2 %/クロモソルブ G (AW-DMCS) , 180~250 μ m.

2. 検量線の作成

ベンチオカーブ標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL をそれぞれ 10 mL のメスフラスコに正確にとり、内標準 10 倍希釈液 3 mL を正確に加え、アセトンで定容とする。その 1 μ L をマイクロ注射器でとり、下記の操作条件によりガスクロマトグラムを記録する。ベンチオカーブおよび安息香酸ベンジルのピーク高を測定し、ピーク高比を求め、重量比に対する検量線を作成する。

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度：220 °C

試料気化室温度：270 °C

キャリアーガス圧：100 kPa (N₂)

水素ガス流速：25 mL/分

空気流速：650 mL/分

検出器感度：10 M Ω 0.01 V

記録紙送り速度：10 mm/分

3. 分析操作

ベンチオカーブ約 0.15 g を含む試料を 50 mL のメスフラスコに秤とり、内標準溶液 2 mL を加え、アセトンで定容とする。以下検量線作成の場合と同様に操作し、試料中のベンチオカーブ量を検量線より求め、百分率を算出する。

TPN水和剤

1. 試薬および装置

TPN 純品：アセトンを用いて再結晶する。（m. p. 250～251 °C）

内標準物質： β -ナフチルフェニルケトン（ β -NPK）試薬特級.

内標準物質溶液： β -NPK 1000 mg を 100 mL のメスフラスコに正確に秤りとり，アセトンで定容とする.

装置：水素炎イオン化検出器（FID）つきガスクロマトグラフ

カラム：内径 3 mm，長さ 1 m，ホウケイ酸ガラス製

充てん剤：SP2401-3 %/ガスクロム Q（150～180 μ m）

2. 検量線の作成

TPN 純品を 30～130 mg の範囲で 5 点それぞれ容量 25 mL の共せん三角フラスコに正確に秤りとり，これらに内標準物質溶液 5 mL を正確に加え，さらにアセトンで全量を約 15 mL とし，よく振り混ぜたのち，その 4 μ L をマイクロ注射器でとり，下記の操作条件によりガスクロマトグラムを記録する．TPN および β -NPK のピーク面積比を求め，TPN に対する検量線を作成する．

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度：170 °C

試料気化室温度：250 °C

キャリアーガス圧力：60 kPa (N₂)

水素ガス圧力：100 kPa

空気圧力：50 kPa

検出器感度：10 M Ω ，0.08 V

記録紙送り速度：20 mm/分

3. 分析操作

TPN 約 75 mg を含む試料を，容量 25 mL の共せん三角フラスコに正確に秤りとり，内標準物質溶液 5 mL を正確に加え，さらにアセトンで全量を約 15 mL とし，約 50 °C の水浴中で温めながら 10 分間よく振り混ぜたのち，ガラス濾過器（3G4）で濾過し，濾液 4 μ L をマイクロ注射器でとり，以下検量線の作成の場合と同様に操作し，試料中の TPN 量を検量線より求め百分率を算出する．

トリフルラリン除草剤（乳剤）

1. 試薬および装置

トリフルラリン純品：ベンゼンを用いて再結晶する．（m. p. 48 °C）

トリフルラリン標準溶液：トリフルラリン純品 100 mg を 25 mL のメスフラスコに秤りとり，クロロホルムで定容とする．

内標準物質溶液：トリフェニルメタン（試薬特級）250 mg を 50 mL のメスフラスコに秤りとり，クロロホルムで定容とする。

装置：水素炎イオン化検出器つきガスクロマトグラフ．

内径 3 mm，長さ 2 m，ガラス製カラム．

5 % シリコン XE-60/ガスクロム Z（180～250 μ m）．

2. 検量線の作成

トリフルラリン標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL を各々容量 10 mL の共せん試験管に正確にとり内標準物質溶液 2 mL を正確に加え，クロロホルムで全量を約 10 mL とする．よく振り混ぜたのち，その 4 μ L をマイクロ注射器でとり，下記の条件によりガスクロマトグラムを記録する．トリフルラリンおよびトリフェニルメタンのピーク面積を半値巾法で測定し，そのピーク面積比を求め，重量比に対する検量線を作成する．

ガスクロマトグラフ操作条件

分離管温度：170 °C

試料気化室温度：230 °C

キャリアーガス圧：60 kPa（N₂）

水素ガス圧：50 kPa

空 気 圧：70 kPa

検出器感度：10² M Ω ，32×0.01 V

記録紙送り速度：20 mm/分

3. 分析操作

トリフルラリン約 180 mg を含む試料をそれぞれ 50 mL のメスフラスコに秤りとり，クロロホルムで定容とする．よく振り混ぜたのち，この液 3 mL と内標準物質溶液 2 mL をホールピペットを用いて 10 mL の共せん試験管にとり，クロロホルムで全量を約 10 mL とし，これを試料溶液とする．

以下，検量線の作成と同様に操作し，試料中のトリフルラリン量を検量線より求め，百分率を算出する．

シメトリン除草剤（粒剤）

1. 試薬及び装置

シメトリン純品：シメトリン原体をメタノールで数回再結晶する。

(m. p. 81.0～82.5 °C)

フェノチアジン純品：フェノチアジンをメタノールで数回再結晶する。

(m. p. 178.0～180.5 °C)

装置：熱伝導度検出器つきガスクロマトグラフ。

分離管：内径 3 mm, 長さ 1.0 m, ガラス製。

充てん剤：7 % アピーゾングリース L + 3 % XE-60/セライト 545, 180～250 μ m.

2. 検量線の作成

シメトリン純品 100, 150, 200, 250, 300 mg をそれぞれ容量 50 mL の共せん三角フラスコに正確に量りとり、これに内標準物質としてフェノチアジン純品 250 mg を正確に加える。アセトン 4 mL で溶解した後、その 5 μ L をマイクロ注射器でとり、下記の条件によりガスクロマトグラムを記録する。シメトリン (t_R 2.6 分) 及びフェノチアジン (t_R 6.1 分) のピーク面積を半値幅法で測定し、ピーク面積比を求め重量比に対する検量線を作成する。

ガスクロマトグラフ操作条件

試料気化室温度：270 °C

分離管温度：230 °C

検出器温度：250 °C

キャリアーガス圧力：100 kPa (He)

検出器フィラメント電流：100 mA

検出器感度：16 mV

記録紙送り速度：20 mm/min

3. 分析操作

粒剤を乳鉢で十分に粉砕した後、シメトリン約 250 mg を含む試料を容量 200 mL の共せん三角フラスコに正確に量りとり、これに 50 % 酢酸ナトリウム 2 mL, エチルエーテル 100 mL を加え、マグネチックスタラーで 20 分間かき混ぜ、抽出する。上澄み液を無水硫酸ナトリウムを 1 cm の厚さに敷いたガラス沓過器 (17G3) を用いて容量 500 mL の共せん丸底フラスコ中に吸引、沓過する。更に残留物にエチルエーテル 100 mL を加え 20 分間かき混ぜ、上澄み液をガラス沓過器を用いて吸引沓過する。この操作を 2 回くり返す。エチルエーテル 50 mL で容器及びガラス沓過器を洗い洗液を沓液と合わせる。水浴上で約 20 mL に濃縮した後、容量 50 mL の共せん三角フラスコ中に移しエチルエーテルを留去する。これにフェノチアジン 250 mg を正確に量りとり、アセトン 4 mL で溶解する。以下検量線作成の場合と同様に操作し、試料中のシメトリン量を検量線より求め、百分率を算出する。