

## 231 酒類保存のため酒類に混和することができる物品

### 清 澄

柿タンニン(粉末のもの)及びタンニン酸を添加した柿タンニン(粉末のもの)

#### 231-1 清澄効果(おり下げ試験)

おり下げ未処理酒類を試験管にとり、説明書に記載されている方法に従い処理し、清澄効果を判定する。

#### 231-2 力価(コロイド滴定法)

##### 231-2-1 試薬

28%アンモニア水(特級)

N/400 ポリビニル硫酸カリウム溶液

ポリビニル硫酸カリウム 0.4050 g を 1 ℓ の水に溶かす。

N/200 メチルグリコールキトサン溶液

メチルグリコールキトサン 3.0 g を 1 ℓ の水に溶かす。間接滴定法により空試験との差から滴定値を求めるものであるから、正確に N/200 でなくてもよい。正確な濃度は N/400 ポリビニル硫酸カリウム溶液で標定する。

トルイジンブルー指示薬

0.1%の水溶液をつくる。

(注) N/400 ポリビニル硫酸カリウム、N/200 メチルグリコールキトサンは既に溶液となったものが市販されている。

##### 231-2-2 試験操作

検体約 10 g を精ひょうし、水に溶かして 100 ml とする。この 1 ml に水を加えて 250 ml としてその 20 ml をとり、これに N/200 メチルグリコールキトサン溶液 5 ml とトルイジンブルー指示薬 1 滴を加え、28%アンモニア水 3 ml を加えて pH を 12.2 に調整した後、余分のメチルグリコールキトサンを N/400 ポリビニル硫酸カリウム溶液で逆滴定する。

滴定の終点は指示薬の色が青色から赤紫色に変わった点とする。

空試験との差を a ml とする。

検体 1 g あたりの力価は次式による。

$$\text{力価} = a \times \frac{250}{\text{精ひょうした検体 (g)}} \times 5$$

- (注) 1 検体の濃度が高すぎる場合には適宜希釈して測定する。  
2 N/400 ポリビニル硫酸カリウムとして「N/400 PVSK 溶液」を用いる場合は、力価の計算値に 1.08 を乗じて補正する。

### 231-3 鉄 溶 出

#### 231-3-1 試薬

硝酸(特級)

過塩素酸(特級)

N/2 塩酸

濃塩酸(特級)4.5 ml に水を加えて 100 ml とする。

鉄標準溶液(原子吸光用)

#### 231-3-2 試験操作

231-1 によるおり下げ試験終了後の酒類 10 ml を 50 ml 容ケルダール分解びんにとり、濃縮し乾固寸前とした後硝酸 5 ml を加え、加熱分解する。未分解のときは更に硝酸を添加する。分解が進んだ時点で硝酸-過塩素酸(1:1)混液 2 ml を加え、加熱を続ける。

分解液を無色透明とした後、直火でできるだけ過塩素酸を除去し、残留物に N/2 塩酸を加え可溶物を完全に溶かし、一定量として原子吸光測定用分解液とする。

おり下げ試験前の酒類についても同様にして分解液を得る。

これを JIS K 0102 (工場排水試験方法) の 57.2 に倣い原子吸光光度計を用いて定量する。試料中の鉄含有量 (mg/l) は、鉄標準溶液を用いた検量線から定量する。

試験酒類中の鉄含有量を a(mg/l)、おり下げ試験前の酒類中の鉄含有量を b(mg/l) とすれば、鉄溶出量は次式で求めることができる。

$$\text{鉄溶出量(mg/l)} = a - b$$

### 231-4 鉛

#### 231-4-1 試薬

塩酸試液

塩酸(特級)25 ml に水を加えて 100 ml とする。

硫酸(特級)

硫酸試液

水 81 ml に硫酸 25 ml をかき混ぜながら徐々に加える。

硝酸(特級)

硝酸(10%)

硝酸 10 ml に水を加えて 100 ml とする。

#### 硝酸試液

硝酸 1 ml に水を加えて 100 ml とする。

#### 鉛標準原液

硝酸鉛(Ⅱ)(特級)0.160 g を硝酸試液(10%)10 ml に溶かし、水を加えて正確に 1,000 ml とする。この液の調製及び保存には可溶性鉛(Ⅱ)塩を含まないガラス器具を用いる。

計量法に規定する標準液(鉛(Pb))の濃度 1,000 mg/l 又は 100 mg/l を、1 ml に鉛(Pb) 0.1 mg を含むよう、水で正確に希釈したものを用いてもよい。

#### 鉛標準溶液

鉛標準原液 1 ml を正確に量り、硝酸試液を加えて正確に 100 ml とする。この鉛標準溶液には、1 ml 当たり Pb 1 μg を含む。用時調製する。

#### 231-4-2 試験操作

検体約 4 g を精ひょうし、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れ、穏やかに加熱して蒸発乾固させた後、硫酸試液を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸試液を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。

なお、液体試料及び炭化しにくい試料等の場合には、硫酸試液の代わりに硫酸を用いてもよい。また、試料が水溶液の場合には、穏やかに加熱して蒸発乾固させた後に硫酸を加えて炭化してもよい。

試料が炭化した後、容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて 450 ~ 600°C で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で碎き、硫酸試液 1 ml 及び硝酸 1 ml で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸試液 10 ml を加え、水浴上で加熱して蒸発乾固する。その残留物に少量の硝酸試液を加え、加温して溶かし、冷却後、更に硝酸試液を加えて正確に 10 ml とした後、原子吸光光度計により、吸光度を測定する。試料中の鉛量 (μg/g) は、鉛標準溶液を用いた検量線から定量する。

#### 231-5 ヒ 素

食品添加物公定書装置 B の方法による。ただし、検液の調製は、第 4 法による。

#### 231-6 火落菌(火落菌検出法)

##### 231-6-1 試薬

##### 火落菌検出培地

酵母エキス 10 g、ペプトン 5 g、ブドウ糖 25 g、硫酸マグネシウム ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 0.1 g、硫酸マンガン ( $MnSO_4 \cdot nH_2O$ ) 0.0025 g、硫酸第一鉄 ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 0.0025 g、アクチジオン 0.005 g、窒化ナトリウム 0.05 g、酢酸ナトリウム 10 g、メバロン酸 0.005 g、

アスコルビン酸 0～10 g を水 850～900 ml に溶解し、pH 5.2 に調整後、更に寒天 1 g を加え、焦げ付かないように軽く沸騰させ寒天を溶解し、70℃程度まで冷却する。これにエチルアルコール 150～100 ml を加え、素早くかき混ぜ、熱時、清浄な試験管に 5～10 ml ずつ分注して栓をした後、冷却する。

(注) この培地は市販されている。

#### 滅菌水

水を試験管にとり、加圧殺菌する。

#### 231-6-2 試験操作

検体約 1 g に滅菌水 9 ml を加えてよく振り、次にその 1～2 白金耳を火落菌検出培地に接種し、30℃で一週間培養する。培地の混濁又は白色の液内集落の形成を認められた場合は、火落菌の存在を示す。

柿タンニン(液状のもの)及びタンニン酸を添加した柿タンニン(液状のもの)

#### 231-7 清澄効果

231-1 による。

#### 231-8 ボーメ

検体をシリンダーにとり、重ボーメ度浮ひょうを用いて 15℃における示度を読み、検体のボーメ度とする。

#### 231-9 力 価

##### 231-9-1 試薬

231-2-1 による。

##### 231-9-2 試験操作

検体 5 ml を水に溶かして 100 ml とする。そのうち 10 ml をとり水で 250 ml とする。その 20 ml をとり、231-2-2 により測定し、空試験との差を a ml とする。

検体 1 ml あたりの力価は次式による。

$$\text{力価} = a \times 25$$

(注) N/400 ポリビニル硫酸カリウムとして「N/400 PVSK 溶液」を用いる場合は、力価の計算値に 1.08 を乗じて補正する。

#### 231-10 タンニン酸量

##### 231-10-1 試薬

酢酸アンモニウム緩衝液(pH 7.5)

酢酸アンモニウム 20 g を約 80 ml の水に溶かし、1%のアンモニア水で pH 7.5 に調整後、水で 200 ml とする。

#### 酒石酸鉄溶液

硫酸第一鉄( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0.1 g と酒石酸ナトリウムカリウム( $\text{COOKCHOH} \cdot \text{CHOHCOONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) 2.0 g を水に溶かして 100 ml とする。この試薬は、使用の都度調製する。

#### タンニン酸標準溶液

タンニン酸 0.5 g を水に溶かして 100 ml とする。この試薬は、使用の都度希釈して用いる。

#### 231-10-2 試験操作

検体を水で 2,000 倍に希釈し、この 5 ml を試験管にとり、酢酸アンモニウム緩衝液 5 ml を加えてよく攪拌する。これに酒石酸鉄溶液 1 ml を加えて攪拌し、生ずる呈色を 530 nm で測定する。

タンニン酸標準溶液を用いて作成した検量線からタンニン酸量を求める。

タンニン酸量は、ここで得られたタンニン酸量に希釈倍率を乗じて算出する。

#### 231-11 鉄 溶 出

231-3 による。

#### 231-12 鉛

231-4 による。ただし、検体約 8 g を精ひょうして試験を行う。

#### 231-13 ヒ 素

231-5 による。

#### 231-14 火 落 菌

231-6 による。

#### 不溶性物を添加した柿タンニン

#### 231-15 清 澄 効 果

231-1 による。

#### 231-16 力 価

##### 231-16-1 試薬

231-2-1 による。

## 231-16-2 試験操作

試料約 5 g を精ひょうし、水を加えて正確に 200 ml とする。この溶液 4 ml を正確に量り、水を加えて正確に 250 ml とし、そこから 20 ml を正確に量り、231-9-2 により試験を行う。

## 231-17 鉄 溶 出

231-3 による。

## 231-18 鉛

### 231-18-1 試薬

#### 塩酸試液

塩酸(特級)25 mlに水を加えて 100 mlとする。

#### 硫酸(特級)

#### 硝酸(特級)

#### 鉛標準溶液

231-4-1 による。

#### クエン酸水素二アンモニウム試液

クエン酸水素二アンモニウム(特級)50 g に水を加えて溶かし、100 mlとする。

#### アンモニア水(特級)

#### ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム試液

ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(原子吸光分析用)3 g に水を加えて溶かし、100 mlとする。

#### 酢酸ブチル(特級)

### 231-18-2 試験操作

検体約 10 g を精ひょうし、ケルダールフラスコ(50 ml容)に入れ、硝酸 10 ml及び硫酸 5 mlを加えて赤褐色の煙がほとんど発生しなくなるまで加熱する。冷却後、硝酸 2 mlを追加して、液が透明になり濃厚な白煙が発生するまで加熱する。

加熱中に内容物が黒化する場合には、硝酸 2 mlずつ追加して加熱を続ける。冷却後、塩酸試液 10 mlを加えて、容器を時計皿等で覆い、沈殿が溶けるまで加熱する。必要があれば塩酸試液を更に加える。冷却後、クエン酸水素二アンモニウム試液 10 mlを加えた後、アンモニア水を加えて pH 8~9 に調整する。この液を分液漏斗又は遠心管に移し、灰化容器を少量の水又は温水で洗い、洗液を合わせる。沈殿が生じる場合には、更に水を加え約 100 mlとする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム試液 5 mlを加えて 5 分間放置し、酢酸ブチル 10 mlを正確に加えて 5 分間振とうした後、放置又は遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、原子吸光光度計により吸光度を測定する。試料中の鉛量 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、鉛標準溶液を用いた検量線から定量する。

231-19 ヒ素

231-5 による。

231-20 火落菌

231-6 による。

タンパク質を主成分とするもの

231-21 清澄効果

231-1 による。

231-22 全窒素

231-22-1 試薬

分解用触媒

硫酸銅と硫酸カリウムを重量比 1:9 で混ぜ荒く砕く。

濃硫酸

水酸化ナトリウム飽和溶液

N/10 水酸化ナトリウム溶液

3-5-1 により調製し力価を標定し、これを F とする。

N/10 硫酸

濃硫酸 3.0 ml を 1 l 容メスフラスコにとり、水を加えて全量を 1 l とする。この液 10 ml をとり、ブランスウィック指示薬を用いて N/10 水酸化ナトリウム溶液で滴定し、その ml 数を a とする。

ブランスウィック指示薬

メチル・レッド 0.2 g とメチレン・ブルー 0.1 g を 95% (v/v) エチルアルコール 200 ml に溶解する。

231-22-2 試験操作

検体約 0.5 g を精ひょうして 50 ml 容ケルダールフラスコにとり、濃硫酸 10 ml 及び分解用触媒約 1 g を加えて、時々沸騰する程度に加熱し、内容が透明になるまで続ける。分解終了後冷却し少量の水で希釈した後、100 ml 容メスフラスコに移し、更に水を加えて全量を 100 ml とする。

その 10 ml を窒素蒸留装置にとる (Parnas-Wagner の装置を使用する)。受器中に N/10 硫酸 10 ml 及びブランスウィック指示薬 2~3 滴を入れて冷却管に接続した後、蒸留器中の硫酸分解液に水酸化ナトリウム飽和溶液を加えて強アルカリ性とし、水

蒸気蒸留する。

留液が約 40 ml となったならば受器を冷却管からはずし、更に数 ml 留液をとり、冷却管の先端に付着している留液を受器中に洗い込み、N/10 水酸化ナトリウム溶液で緑色になるまで逆滴定する。その滴定値を b ml とすれば、全窒素量は次式によって求める。

$$\text{全窒素(\%)} = \frac{(a-b) \times F \times 1.40}{\text{検体採取 g 数}}$$

#### 231-23 鉄 溶 出

231-3 による。

#### 231-24 鉛

231-4 による。ただし、検体約 1.6 g を精ひょうして試験を行う。

#### 231-25 ヒ 素

231-5 による。

#### 231-26 火 落 菌

231-6 による。

多糖類を主成分とするもの

#### 231-27 清 澄 効 果

231-1 による。

#### 231-28 アルギン酸、カラギナン

水分

検体約 2 g をあらかじめひょう量した磁性ろつぼにとって精ひょうし、110℃で3時間加熱乾燥後デシケーターに入れ室温まで放冷して再び精ひょうし、次式により水分を算出する。

$$\text{水分 \% (w/w)} = (a-b) / a \times 100$$

ただし、a は乾燥前の検体重量、b は乾燥後の検体重量である。

灰分

水分測定後のろつぼを電気炉に入れ 550～600℃で検体を完全に灰化し、デシケーターで室温まで放冷した後精ひょうし重量を c とすれば灰分は次式で算出される。



$$\text{灰分 \% (w/w)} = c/a \times 100$$

次式により得られる値をアルギニン酸・カラギナン量 %(w/w)とする。

$$\text{アルギニン酸・カラギナン含量 \% (w/w)} = 100 - \text{水分 \% (w/w)} - \text{灰分 \% (w/w)}$$

#### 231-29 鉄 溶 出

231-3 による。

#### 231-30 鉛

231-4 による。ただし、検体約 1.6 g を精ひょうして試験を行う。

#### 231-31 ヒ 素

231-5 による。

#### 231-32 火 落 菌

231-6 による。

プロテアーゼを主成分とするもの

#### 231-33 清 澄 効 果

231-1 による。

#### 231-34 力価(酸性プロテアーゼ)

##### 231-34-1 試薬

マッキルベイン緩衝液(pH 3.0)

A 液 (0.2M リン酸二ナトリウム溶液)

リン酸二ナトリウム( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 71.63 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

B 液 (0.1M クエン酸溶液)

クエン酸( $\text{COOHCH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 21 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

A 液 4 ml、B 液 16 ml の割合で混合すれば、ほぼ所定の pH になる。pH が正確に 3.0 にならない場合は A 液又は B 液を用いて調整する。

カゼイン溶液

カゼイン 2 g をとり、10 倍に希釈した乳酸 5 ml を加え、更に水を約 50 ml 加えて完全に白濁状に溶解するまで金網上で加熱しながらかき混ぜる。

一度沸騰させてから冷却し、これに pH 3.0 のマッキルベイン緩衝液 20 ml を加え、更に水を加えて全容を 100 ml とする。

#### 0.4M トリクロール酢酸溶液(TCA 溶液)

トリクロール酢酸 65.4 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

#### フェノール試薬(フォリン・チオカルト試薬)

市販品を 5 倍に希釈して使用する。

#### 0.4M 炭酸ナトリウム溶液

炭酸ナトリウム 42.4 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

#### チロシン標準溶液

L-チロシン(特級)10.0 mg をとり、1N 塩酸 1 ml を加えて全容を 100 ml とする。

これを希釈し、チロシン 20~100 μg/ml を含む標準溶液を作成する。

#### 検量線の作成

上記各チロシン標準溶液 1 ml に炭酸ナトリウム溶液 5 ml とフェノール試薬 1 ml を加えて、40℃で 30 分間発色を行う。チロシンを含まない液を対照として光路長 10 mm の吸収セルで 660 nm における吸光度を測定し、検量線を作成する。

#### 231-34-2 酵素液の調製

検体約 1 g を精ひょうし、遊離塩素を含まない水に溶かして 100 ml とし、不溶物をろ紙でろ過し、酵素原液とする。測定にあたって更に 10~1,000 倍に希釈する。

#### 231-34-3 試験操作

カゼイン溶液 1.5 ml に pH 3.0 のマッキルベイン緩衝液 1.0 ml を加え、40℃に予熱しておく。これに酵素液 0.5 ml を加え、40℃で 60 分間反応させた後、TCA 溶液 3 ml を加えて反応を停止させ沈殿をろ別する。

そのろ液 1 ml に炭酸ナトリウム溶液 5 ml とフェノール試薬 1 ml を加えて 40℃で 30 分間の発色を行い、660 nm の吸光度を測定する。

別に対照として酵素液を TCA 溶液の添加直前に加えて、以下上記と同様の操作を行い吸光度を測定する。

試験液と対照液との吸光度の差 E を求める。

得られた E からチロシン標準溶液を用いた検量線により生成チロシン量  $y$  (μg) を求める。

(注) E が 0.3 以上になると酵素力と E とが直線関係からはずれるので、E が 0.3 以下になるように酵素液を希釈する。

#### 231-34-4 力価の表示

力価は 60 分間にチロシン相当量 1 μg を生ずる酵素量を 1 単位とする。従って酵素液 1 ml のプロテアーゼ力価は、生成チロシン量  $y$  から次式で求められる。

$$\text{力価} = 2 \times 6 \times y$$

これに酵素液の希釈倍率を乗じて精ひょうした検体 1 g あたりの力価を求める。

#### 231-35 鉄 溶 出

231-3 による。

## 231-36 鉛

### 231-36-1 試薬

#### 塩酸試液

塩酸(特級)25 mlに水を加えて100 mlとする。

#### 硫酸(特級)

#### 硫酸試液

水81 mlに硫酸25 mlをかき混ぜながら徐々に加える。

#### 硝酸(特級)

#### 硝酸試液

硝酸1 mlに水を加えて100 mlとする。

#### 鉛標準溶液

231-4-1による。

#### クエン酸水素二アンモニウム試液

クエン酸水素二アンモニウム(特級)50 gに水を加えて溶かし、100 mlとする。

#### アンモニア水(特級)

#### ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム試液

ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(原子吸光分析用)3 gに水を加えて溶かし、100 mlとする。

#### 酢酸ブチル(特級)

#### チモールブルー試液

チモールブルー(特級)0.1 gを量り、95vol%エタノール100 mlを加えて溶かし、必要に応じてろ過する。

### 231-36-2 試験操作

検体約1.6 gを精ひょうし、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れ、穏やかに加熱して蒸発乾固させた後、硫酸試液を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸試液を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。

なお、液体試料及び炭化しにくい試料等の場合には、硫酸試液の代わりに硫酸を用いてもよい。また、試料が水溶液の場合には、穏やかに加熱して蒸発乾固させた後に硫酸を加えて炭化してもよい。

試料が炭化した後、容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて450～600℃で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で

砕き、硫酸試液1 ml及び硝酸1 mlで潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸試液10 mlを入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に少量の硝酸試液を加え、加温して溶かし、冷却後、更に硝酸試液を加えて正確に10 mlとし検液とし、原子吸光光度計により、吸光度を測定する。試料中の鉛量 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、鉛標準溶液を用いた検量線から定量する。

また、検液の調製において残留物が硝酸試液5 mlに溶けない場合は、次により試験を行う。

検体約1.6 gを精ひょうし、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れる。硫酸試液又は硫酸を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料がほとんど炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸試液を更に加え、この操作を繰り返す。

なお、疎水性物質及び炭化しにくい試料等の場合には、穏やかに加熱して試料を融解させ、冷却後、硫酸試液又は硫酸を用いて炭化してもよい。

容器にふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて450～600℃で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で砕き、硫酸試液1 ml及び硝酸1 mlで潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸試液10 mlを入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。その残留物に塩酸試液20 mlを入れ、容器を時計皿等で覆い、加温して溶かし、試料液とする。

おって、残留物が溶けない場合には、容器を時計皿等で覆い、5分間沸騰させ、冷却後、試料液とする。

試料液にクエン酸水素二アンモニウム試液10 mlを加える。指示薬としてチモールブルー試液1 mlを加え、アンモニア水を液の色が黄色から淡黄緑色に変わるまで加える。変色点が見にくい場合には、pH試験紙又はpH計を用いてpH 8～9に調整する。この液を分液漏斗又は遠心管に移し、灰化容器を少量の水又は温水で洗い、洗液を合わせる。沈殿が生じる場合には、更に水を加え約100 mlとする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム試液5 mlを加えて5分間放置し、酢酸ブチル10 mlを正確に加えて5分間振とうした後、放置又は遠心分離する。酢酸ブチル層をとり検液とし、原子吸光光度計により吸光度を測定する。試料中の鉛量 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、鉛標準溶液を用いた検量線から定量する。

231-37 ヒ 素

231-5 による。

231-38 火 落 菌

231-6 による。

ペクチナーゼを主成分とするもの

#### 231-39 清澄効果

ペクチナーゼ未処理果実酒に、説明書に記載されている使用量に準じ酵素剤を添加し、40℃で3時間放置後、清澄効果を判定する。

#### 231-40 力価(ペクチナーゼの測定)

##### 231-40-1 試薬

クエン酸緩衝液(pH4.0)

N/10 塩酸 45 容と 0.1M クエン酸ナトリウム溶液 55 容を混合し pH4.0 に調整する。

ペクチン酸溶液

ペクチン酸 0.55 g を 100 ml のクエン酸緩衝液に添加し、攪拌しながら溶解する。

1M 炭酸ナトリウム溶液

炭酸ナトリウム(無水) 105.2 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

N/10 ヨウ素溶液

ヨウ素 14 g とヨウ化カリウム 36 g を水に溶かして 1 ℓ とする。着色びんで保存する。

2M 硫酸

硫酸 196.2 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

可溶性デンプン溶液

可溶性デンプン 2 g を少量の水によく懸濁させ熱水 100 ml 中に徐々に注ぎ、1~2 分間煮沸した後冷却する。

N/50 チオ硫酸ナトリウム溶液

チオ硫酸ナトリウム( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 4.968 g を水に溶かして 1 ℓ とする。

##### 231-40-2 酵素液の調製

検体約 1 g を精ひょうし、クエン酸緩衝液 100 ml に溶かして、ときどき振り混ぜながら 30℃で1時間放置後ろ過する。

力価の測定に当たっては更に 1~10 倍に希釈する。

##### 231-40-3 試験操作

ペクチン酸溶液 10 ml を 100 ml 共栓付三角フラスコにとり、あらかじめ 40℃に加温する。これに酵素液 1 ml を加え、40℃で 30 分間反応させた後、1M 炭酸ナトリウム溶液を 3 ml 加える。

次に N/10 ヨウ素溶液 6 ml を加え、暗所に 30 分間放置する。

その後 2M 硫酸 6 ml を加え、N/50 チオ硫酸ナトリウム溶液で、デンプン溶液を指示薬として滴定する。このときの滴定値を a ml とする。

別に対照として 100 ml 共栓付三角フラスコに 1M 炭酸ナトリウム溶液 3 ml を入

れ、これに酵素液 1 ml を加える。次にペクチン酸溶液 10 ml を加え、更に N/10 ヨウ素溶液 6 ml を加え混合した後、暗所に 30 分間放置する。放置後同様に滴定し、このときの滴定値を b ml とする。

#### 231-40-4 力価の表示

温度 40℃において、ペクチン酸から 30 分間で 1 μmol のガラクチュロン酸を生成する力価を 2 単位とする。検体 1 g あたりの力価は次式によって求める。

$$\text{力価} = (b - a) \times 513 \times \frac{2}{\text{検体 (g)}} \times \frac{1}{50} \times \text{希釈倍率}$$

(注) 還元されたヨウ素 1 mg 当量はガラクチュロン酸 0.513 mg 当量に相当する。

#### 231-41 鉄 溶 出

231-3 による。

#### 231-42 鉛

231-4 による。

#### 231-43 ヒ 素

231-5 による。

#### 231-44 生 菌 数

##### 231-44-1 試薬

標準寒天培地

トリプトン 5.0 g、酵母エキス 2.5 g、D-グルコース 1.0 g、寒天 15.0 g、水 1,000 ml を混和し、121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH は、6.8～7.2 とする。

リン酸緩衝液 (pH 7.2)

リン酸二水素カリウム (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 34 g を水約 500 ml に溶かす。水酸化ナトリウム (NaOH) 40 g を量り、水を加えて溶かし、1,000 ml とした水酸化ナトリウム試液 (1 mol/l) を調製する。その水酸化ナトリウム試液 175 ml を加え、pH 7.1～7.3 に調整し、水を加えて 1,000 ml とし、121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌後、冷所で保存する。

##### 231-44-2 検体の調製

検体 1.0 g を量り、リン酸緩衝液 (pH 7.2) と混和して 100 ml とする。

##### 231-44-3 試験操作

1 mlの試料液を無菌的にペトリ皿に分注する。これにあらかじめ45℃以下に保温した標準寒天培地15～20 mlを加えて混和する。寒天の固化後、35±1℃で48±2時間培養する。原則として、一平板当たり250個以下の集落を持つ平板からの集落数の計測結果を用いて生菌(細菌及び真菌)数を算出する。多数の集落が出現するときは、最も希釈倍数の高い平板から得られる計測結果を用いて生菌(細菌及び真菌)数を算出する。

## 二酸化ケイ素を主成分とするもの

### 231-45 清澄効果

231-1による。

### 231-46 鉄 分

#### 231-46-1 試薬

N/2 無鉄塩酸

塩酸(無鉄)45 mlを量り、水を加えて1,000 mlとする。

鉄標準溶液(原子吸光用)

#### 231-46-2 試験操作

検体10 mlをろつぼにとり、105℃で蒸発乾固したあと N/2 無鉄塩酸を加えて原容に戻し、原子吸光光度計により定量する。

### 231-47 鉛

#### 231-47-1 試薬

231-36-1による。

#### 231-47-2 試験操作

検体約2 gを精密に量り、塩酸試液20 mlを加え、時計皿等で覆い、時々かくはんしながら穏やかに15分間沸騰させる。この液を遠心分離して不溶物を沈降させ、上澄液をろ紙でろ過し、不溶物を除き、ろ紙上の残留物と容器を熱湯5 mlで洗い、洗液をろ液に合わせて冷却後、試料液とする。

試料液にクエン酸水素二アンモニウム試液10 mlを加える。指示薬としてチモールブルー試液1 mlを加え、アンモニア水を液の黄色が淡黄緑色に変わるまで加える。変色点が見にくい場合には、pH試験紙又はpH計を用いてpH 8～9に調整する。冷却後、内容物を分液漏斗又は遠心管に移し、容器を少量の水で洗い、洗液を合わせ、約100 mlとする。

ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム試液5 mlを加えて5分間放置し、酢

酸ブチル10 mlを正確に加えて5分間振とうした後、放置又は遠心分離する。酢酸ブチル層をとり、原子吸光光度計により吸光度を測定する。試料中の鉛量 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、鉛標準溶液を用いた検量線から定量する。

#### 231-48 ヒ素

231-5による。ただし、検体を105℃で2時間乾燥し、その1.5 gを量り、231-4-1の塩酸試液 50 mlを加え、蒸発する水を補いながら水浴上で時々振り混ぜて1時間加熱する。冷却後、ろ紙(5種C)でろ過し、容器及びろ紙上の残留物を水で洗い、洗液をろ液に合わせる。更に水を加えて100 mlとし、この液10 mlを正確に量りとして試料液とする。

#### 231-49 火落菌

231-6による。

ベントナイトを主成分とするもの

#### 231-50 清澄効果

231-1による。

#### 231-51 鉄溶出

231-3による。

#### 231-52 鉛

231-4による。ただし、検体約0.8 gを精ひょうして試験を行う。

#### 231-53 ヒ素

231-5による。

#### 231-54 火落菌

231-6による。

その他のおり下げ剤

#### 231-55 清澄効果

231-1による。



231-56 鉄 溶 出

231-3 による。

231-57 鉛

231-36 による。

231-58 ヒ 素

231-5 によるが、物品の特性に応じた試験法を採用することに留意する。

231-59 火 落 菌

231-6 による。

## 酒 質 保 全

ウレアーゼを主成分とするもの

231-60 清 澄 効 果

231-1 による。

231-61 鉄 溶 出

231-3 による。

231-62 鉛

231-36 による。

231-63 ヒ 素

231-5 による。

231-64 火 落 菌

231-6 による。

酸化防止、酒質保全、再発酵防止、酸度調整又は酒質矯正

既存添加物名簿に掲載されている指定告示物品又はこれらを使用した製剤

231-65 効 能

説明書に記載されている方法に従い処理し、効能を判定する。

231-66 酒質への影響

説明書に記載されている方法に従い処理し、色、香り、味等に異常をきたさないか判定する。

231-67 鉄 溶 出

231-3 による。

231-68 鉛

231-36 によるが、物品の特性に応じた試験法を採用することに留意する。また、成分規格値に対応した量の検体を秤取して試験を行う。

231-69 ヒ 素

231-5 によるが、物品の特性に応じた試験法を採用することに留意する。

231-70 火 落 菌

231-6 による。

上記以外の長官指定告示物品

231-71 規 格 基 準

食品添加物公定書の成分規格・保存基準各条に合致するか判定する。

副 剤

長官指定告示物品の機能を安定的かつ効果的に発揮させるために共存させる必要最小限度

の物品

231-72 酒質への影響

説明書に記載されている方法に従い処理し、色、香り、味等に異常をきたさないか判定する。

231-73 鉄溶出

231-3による。

231-74 鉛

食品添加物公定書の方法によるが、物品の特性に応じた試験法を採用することに留意する。また、成分規格値に対応した量の検体を秤取して試験を行う。

231-75 ヒ素

231-5による。

231-76 火落菌

231-6による。