

醸造酢の全窒素分（ケルダール法）測定手順書

| | ページ |
|---------|-----|
| 塩入奥田式蒸留 | 1 |
| 自動蒸留 | 9 |
| 共同試験結果 | 16 |

醸造酢の全窒素分測定方法 (ケルダール法・塩入奥田式蒸留) 手順書

1. 適用範囲

この方法は日本農林規格に定める醸造酢に適用する。

2. 測定方法の概要

試料をケルダールフラスコに取り、電熱式分解台で分解した後、アンモニアを塩入・奥田式蒸留装置等で水蒸気蒸留しビュレットを用いて滴定する。

3. 注意事項

- (a) 硫酸、水酸化ナトリウム、30%過酸化水素水及び40% (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液を使用する際には、保護メガネ及びそれらの試薬に耐性のある手袋⁽¹⁾を使用する。
- (b) 分解は耐酸性ドラフト内で行う。
- (c) ケルダールフラスコの口を安全な方向に向け、突沸に注意して硫酸及び30%過酸化水素水を加える。
- (d) 予備分解の際、突沸することがあるので、ケルダールフラスコ急冷用の氷水を用意する。

(1) 硫酸及び過酸化水素水に耐性のある手袋にはバイトン手袋があるが、厚手の塩化ビニル製の手袋でもよい。塩化ビニル製の手袋を使用した場合には、使用後必ず水で表面を洗う。

4. 試薬等

4.1 測定に使用する試薬等

- (a) 水：蒸留法もしくはイオン交換法によって精製した水又は逆浸透法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K8008に規定するA2⁽²⁾以上の品質を有するもの。
- (b) 硫酸：日本工業規格に規定される (JIS K8951) 特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (c) 硫酸カリウム：JIS K8962に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (d) 硫酸銅 (Ⅱ) 五水和物：JIS K8983に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (e) 二酸化チタン：純度98.5%以上 アナターゼ型
- (f) 30%過酸化水素水：JIS K8230に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (g) ほう酸：JIS K8863に規定される特級又は同等以上のもの。
- (h) 水酸化ナトリウム：JIS K8576に規定される特級、JIS K8826に規定される窒素測定用又はそれらと同等以上のもの。

- (i) ブロモクレゾールグリーン：JIS K8840 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (j) メチルレッド：JIS K8896 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (k) エタノール (95)：JIS K8102 に規定されている特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (l) 沸騰石：沸騰石もしくは同様の作用をするもの
- (m) 塩酸：JIS K8180 に規定されている特級、又はそれらと同等以上のもの。滴定用溶液として用いる場合使用する。

(2) 水の種類が複数あるときは、グレードがより高いもの (A1 < A2 < A3 < A4) を使用すること。

A1：通常、精製の最終工程でイオン交換法によって精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの (有機体炭素が 1 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.5 mS/m 以下)。例：Milli-DI (Millipore 社)

A2：通常、水 A1 を用いて精製の最終工程でイオン交換法によって精製したもの、又はこれと同等の品

質が得られる方法で精製したもの (有機体炭素が 0.5 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1 mS/m 以下)。

A3：通常、水 A1 又は A2 を用いて水の精製の最終工程で蒸留法によって精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの (有機体炭素が 0.2 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1 mS/m 以下)。例：Elix-UV (Millipore 社)

A4：通常、水 A1 又は A2 を用いて水の精製の最終工程で酸化剤を共存させた蒸留法で精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの (有機体炭素が 0.05 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1 mS/m 以下)。例：Milli-Q, Direct-Q UV, Super-Q, Simplicity UV (すべて Millipore 社)

4.2 滴定溶液の標定に使用する試薬

- (a) ブロモフェノールブルー：JIS K8844 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (b) エタノール (95)：「4.1 (k)」と同様のもの。
- (c) 炭酸ナトリウム：JIS K8005 に規定される容量分析用標準物質を用いる。

5. 器具及び装置

5.1 測定に使用するもの

- (a) 電子天びん：小数第 4 位 (0.0001g) まではかりとることのできるもの。ただし 6 及び 7 において秤量を実施する際に、小数第 4 位まで正確にはかりとる指示がなく、またはかりとる必要がない場合は、はかりとることのできる最小桁が小数第 3 位 (0.001g) 以上の電子天びんを用いてもよい。
- (b) 全量ピペット：5 ~ 15 mL 容 JIS R3505 に規定されているクラス A 又は同等以上のものを用いる。
- (c) ビュレット又／自動ビュレット：25 mL 容。JIS R3505 に規定するクラス A 又は同等以上のもの⁽³⁾を使用する。
- (d) 三角フラスコ：300 mL 容。JIS R3503 に規定するものもしくはそれに準ずるものを用いる。

(e) 分解用容器：300 mL ケルダールフラスコを使用する。

(f) 分解装置

出力可変式分解台：電熱式分解台で出力可変式で一基当たり 200 W 以上の電力を有するもの又はそれと同等の性能を有するものを使用する。

(g) 蒸気蒸留装置：マクロケルダール法に適したもの⁽⁴⁾を使用する。

(3) 柴田科学（株）（ブランド表記：SIBATA)の場合にはカスタム A が JIS 規格（JIS R3505:1994）のクラス A の体積許容誤差で製作され、スーパーグレードがそれ以上の精度で製作されている。旭テクノグラス（ブランド表記：IWAKI）の場合にはニュースタンダードが JIS 規格のクラス A の体積許容誤差で製作され、ニューエクセレントがそれ以上の精度で製作されている。

(4) 例えば塩入ら(1932 年)によって開発された水蒸気蒸留装置がある。

5.2 滴定溶液の標定に使用するもの

(a) るつぼ：白金又は磁器のものを用いる。

(b) デシケーター：JIS K8001 に規定するもの。すなわち、乾燥剤として JIS Z0701 に規定するシリカゲル(A 形 1 種)を入れたデシケーターを用いる。シリカゲルは塩化コバルト(II)で着色したものとし、その色に変色したときには約 130 °C で加熱して再生する。

(c) マッフル炉：600 °C 以上まで加熱できるもの。

(d) 三角フラスコもしくはコニカルビーカー：200 mL 容。JIS R3503 に規定するものもしくはそれに準ずるものを用いる。

6. 試薬の調製

同一の組成や濃度の市販品等を用いる場合、及びファクターが与えられている市販の滴定液を利用し、その値を用いる場合、当該試薬の調製及び標定は不要である。

6.1 分解促進剤 ((a)及び(b)のいずれかを用いる。)

(a) 硫酸カリウムと硫酸銅(II)五水和物の割合が 9 : 1 になるように必要量を秤取り、混合して乳鉢で細かく砕き均一にする⁽⁵⁾。

(b) 硫酸カリウム、硫酸銅(II)五水和物及び二酸化チタンの割合が 10 : 0.3 : 0.3 になるように必要量を秤取り、混合して乳鉢で細かく砕き均一にする⁽⁶⁾。

(5) ケルタブ KPC (Thompson & Copper 社製) を使用してもよい。

(6) ケルタブ CT (Thompson & Copper 社製) を使用してもよい。この分解促進剤を使用すると、発泡性が高まるので、発泡性の試料には使用しない方が望ましい。

6.2 混合指示薬

ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド溶液⁽⁷⁾

日本工業規格の調製法(JIS K8001:1998)に則る。ブロモクレゾールグリーン 0.15g 及びメチルレッド 0.10 g を 200 mL エタノール (95) に溶かす。

(7) 同組成、同濃度の市販品を使用してもよい。

6.3 中和用40 % (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液

中和用水酸化ナトリウム水溶液はその水溶液 1 L 中に水酸化ナトリウムが 400 g 溶解しているように調製する⁽⁸⁾。

(8) 調製例：水酸化ナトリウム 1200 g を 3 L 三角フラスコに秤取り、水又は氷水で冷やしながら水を 1.5 ~ 2 L 加える。完全に溶かした後、よく振り混ぜながら水を加えて 3 L にする。かなり発熱し、蒸気が発生するのでドラフト内で行う。

6.4 アンモニア捕集液

ほう酸水溶液は、その水溶液 1 L 中にほう酸が 40 g 溶解しているように調製する⁽⁹⁾。

(9) 調製例：ほう酸 120 g を 3 L 三角フラスコに秤取り、水を 2 L 加えホットプレート等で 40 ~ 60 °C に加温しながら溶解させる。完全に溶かした後、よく振り混ぜながら水を加えて 3 L にする。

6.5 滴定用溶液

滴定用溶液には日本工業規格 (JIS K8001:1998) に準拠して調製された 6.5.1 の 0.05 mol/L 硫酸⁽¹⁰⁾ 又は 6.5.2 の 0.1 mol/L 塩酸⁽¹⁰⁾ を使用する。

(10) ファクターが 3 桁以上求められていれば市販品を使用してもよいが、4 桁まで求められているものがより望ましい。通常、市販品の場合、ファクターが 1 以上の場合は 4 桁、1 未満の場合は 3 桁である。

6.5.1 0.05 mol/L 硫酸 (4.904 g H₂SO₄/L)

(a) 調製

水 1L をビーカーに秤取り、硫酸 3 mL をかき混ぜながら徐々に加えて室温になるまで放置した後、気密容器に入れて保存する。

(b) 標定

炭酸ナトリウムの必要量をるつぼに入れて 600°C で約 60 分間加熱した後、シリカゲル入りデシケーターに入れて放冷する。その炭酸ナトリウム 0.13 ~ 0.16 g を 0.1 mg の桁まで秤取り、コニカルビーカー（呼び容量：200 mL）又は三角フラスコ（呼び容量：200 mL）に移し、炭酸を含まない水 20 mL を加えて溶かす。ブロモフェノールブルー溶液を数滴加え、0.05 mol/L 硫酸で滴定する。

(c) 計算

$$0.05 \text{ mol/L 硫酸のファクター} = \frac{a}{0.005299 \times V} \times \frac{A}{100}$$

a: 秤取った炭酸ナトリウムの質量 (g)

V: 滴定に要した 0.05 mol/L 硫酸の体積 (mL)

A: 炭酸ナトリウムの純度 (%)

0.005299: 0.05mol/L 硫酸 1mL に相当する炭酸ナトリウムの質量(g)

6.5.2 0.1 mol/L 塩酸 (3.645 g HCl/L)

(a) 調製

塩酸 9 mL を秤取り、水を加えて 1 L とし、混合した後、気密容器に入れて保存する。

(b) 標定

炭酸ナトリウムの必要量をるつぼに入れ、600 °C で約 60 分間加熱した後、シリカゲル入りデシケーターに入れて放冷する。その 0.13 ~ 0.16 g を 0.1 mg の桁まで秤取り、コニカルビーカー（呼び容量：200 mL）又は三角フラスコ（呼び容量：200 mL）に移し、炭酸を含まない水 20 mL を加えて溶かす。ブロモフェノールブルー溶液を数滴加え、0.1 mol/L 塩酸で滴定する。

(c) 計算

$$0.1 \text{ mol/L 塩酸のファクター} = \frac{a}{0.005299 \times V} \times \frac{A}{100}$$

a: 秤取った炭酸ナトリウムの質量 (g)

V: 滴定に要した 0.1 mol/L 塩酸の体積 (mL)

A: 炭酸ナトリウムの純度 (%)

0.005299: 0.1 mol/L 塩酸 1 mL に相当する炭酸ナトリウムの質量(g)

7. 測定手順

7.1 分解

7.1.1 予備分解

試料 5 ~ 15 mL⁽¹¹⁾ 及び分解促進剤 10 g をケルダールフラスコにとり、次いで硫酸 15 mL を入れる⁽¹²⁾。熱いうちによく振り混ぜながら 30 % 過酸化水素水を 4、5 滴ずつ壁面をつたわらせて 10 mL 加える⁽¹³⁾。

空試験⁽¹⁴⁾ は試料を入れないこと以外、すべて同じ条件にする。

(11) 滴定量が 10 mL 以上 25 mL 以下になるように全量ピペットを用いて採取する。

- (12) オートビュレット、メスシリンダー、駒込ピペット等を使用する。硫酸を入れるとすぐに炭化して熱くなる。
- (13) 駒込ピペット等を使用し、穏やかに発泡させながら加える。激しく発泡した場合には、氷水で冷やす。「6.1の (a)」の分解促進剤を使用した場合には、緑色の透明な液となる。「6.1の (b)」の分解促進剤を使用した場合には、黄色の濁った液となる。
- (14) 濃硫酸に過酸化水素水を入れ、しばらくすると激しく反応するので、よく振り混ぜながら壁面をつたわらせてゆっくりと入れる。

7.1.2 分解

ケルダールフラスコを分解台で泡立ちが収まるまで弱く加熱し、泡立ちが収まったら出力を最大にする。時々、壁面についた黒い炭化物を洗い落とす。分解液は泡立ちが収まった後黒くなり⁽¹⁵⁾、その後清澄になる。清澄になった後、さらに 120 ～ 150 分間加熱する⁽¹⁶⁾。分解終了後、水 70 ～ 100 mL⁽¹⁷⁾を加える。

(15) 黒くなった後、激しく発泡する時がある。その場合、フラスコを持ち上げて軽く振り混ぜる。

(16) 加熱時間は清澄後 120 分間で十分だが、150 分間でも問題ない。

(17) メスシリンダー等で加える。水の量によりアンモニアの蒸留量が変わる場合があるので、空試験と試料分解液に加える水は同量とする。

7.2 蒸留

7.2.1 ～ 7.2.3 は塩入奥田式蒸留装置の例である。

7.2.1 蒸留の準備

水蒸気発生フラスコ (A) に沸騰石と水を適量入れ、a を開け b を閉じ 10 分間以上沸騰させ⁽¹⁸⁾、冷却管 (E) を冷却装置又は水道水により冷却する。

(18) 揮発性成分を除去するため。

7.2.2 流路の洗浄

少量の水を入れたケルダールフラスコ (C) を装着して、b を開け、a 及び c を閉じ、トラップ (B)、ケルダールフラスコ (C)、冷却管 (E) に水蒸気を送って 5 分間以上洗浄する。

7.2.3 蒸留開始

まず c を開き、続いて a を開き b を閉じる。三角フラスコ (300 mL、F) にアンモニア捕集液 30 mL⁽¹⁹⁾ 及び混合指示薬を数滴加え、冷却管 (E) の先端をその液中に浸す。次に、分解液の入ったケルダールフラスコ (C) を装着して、e を閉じ d を開き、アルカリ容器 (G) から 40 %水酸化ナトリウム水溶液を 70 mL⁽²⁰⁾を入れる。素早く d を閉じ、b を開け、a を閉じて、トラップ (B) に水蒸気を通し、e を開け c を閉じて蒸留を開始する。

(19) オートビュレット、メスシリンダー、駒込ピペット等で加える。

(20) メスシリンダー等で加える。

7.2.4 蒸留終了

三角フラスコ (F) の留液が約 100 ~ 170 mL⁽²¹⁾ (ほう酸水溶液と合わせて 130 ~ 200 mL) になるまで蒸留を続けた後、三角フラスコ (F) を下げて冷却管の先端を液面から離し、水で冷却管の先端を洗いながら三角フラスコ (F) を取り出す。蒸留を終える時は、まず c を開き続いて a を開き、b を閉じる。

(21) 留液は 100 mL で十分である。ただし、留液量によりアンモニア量が変わる場合があるので、留液量は空試験も含めて同量とする。

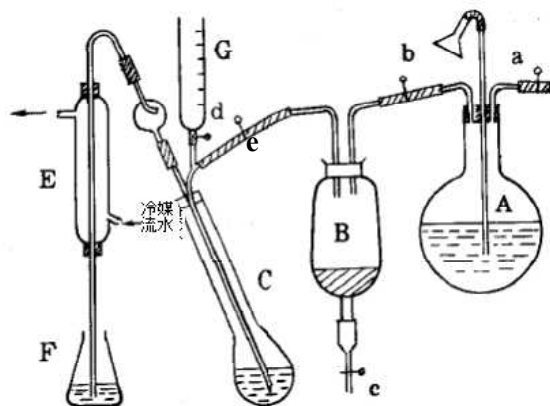


図 塩入・奥田式蒸留装置

7.3 滴定

0.05 mol/L 硫酸又は 0.1 mol/L 塩酸により滴定する。混合指示薬にブロモクレゾールグリーン・メチルレッドを用いた場合には、液色は緑色、微灰青色、微灰色、微灰赤色、微赤色と順に変化するが、微灰赤色を呈したところを終点⁽²²⁾とする。

(22) 市販品の混合指示薬はメーカーにより、色の変化が多少異なるため、同一の試験区では同じ混合指示薬を用いる。

8. 計算

$$\text{全窒素分 (w/v \%)} = \frac{1.401 \times 10^{-3} \times (T - B) \times f}{V} \times 100$$

T : 終点までの滴定に要した滴定液の体積 (mL)

B : 空試験値 (mL)

f : 滴定液のファクター

V : 試料量 (mL)

1.401×10^{-3} : 0.05 mol/L 硫酸又は 0.1 mol/L 塩酸 1 mL に相当する窒素の質量 (g)

※空試験で蒸留後に液色に変化しない場合は滴定量を 0 mL とする。液色に変化した場合には、1/3 ~ 1/2 滴⁽²³⁾ ずつ滴下する。

(23) 25 mL ビュレットの場合、1 滴が 0.03 ~ 0.05 mL なので、1/3 ~ 1/2 滴では 0.01 ~ 0.03 mL となる。

試験用試料の調製

市販の製品をよくふりまぜ、そのままを試料とする。

醸造酢の全窒素分測定方法 (ケルダール法・自動蒸留) 手順書

1. 適用範囲

この方法は日本農林規格に定める醸造酢に適用する。

2. 測定方法の概要

試料をケルダール分解チューブに取り、ブロック分解装置で分解した後、アンモニアを自動蒸留し、自動滴定又は手滴定する。

3. 注意事項

- (a) 硫酸、水酸化ナトリウム、30%過酸化水素水及び40% (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液を使用する際には、保護メガネ及びそれらの試薬に耐性のある手袋⁽¹⁾を使用する。
- (b) 分解は耐酸性ドラフト内で行う。
- (c) ケルダール分解チューブの口を安全な方向に向け、突沸に注意して硫酸及び30%過酸化水素水を加える。
- (d) 予備分解の際、突沸することがあるので、ケルダール分解チューブ急冷用の氷水を用意する。

(1) 硫酸及び過酸化水素水に耐性のある手袋にはバイトン手袋があるが、厚手の塩化ビニル製の手袋でもよい。塩化ビニル製の手袋を使用した場合には、使用後必ず水で表面を洗う。

4. 試薬等

4.1 測定に使用する試薬等

- (a) 水：蒸留法もしくはイオン交換法によって精製した水又は逆浸透法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K8008 に規定する A2⁽²⁾以上の品質を有するもの。

(2) 水の種類が複数あるときは、グレードがより高いもの (A1 < A2 < A3 < A4) を使用すること。

A1：通常、精製の最終工程でイオン交換法によって精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの（有機体炭素が 1 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.5 mS/m 以下）。例：Milli-DI（Millipore 社）

A2：通常、水 A1 を用いて精製の最終工程でイオン交換法によって精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの（有機体炭素が 0.5 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1 mS/m 以下）。

A3：通常、水 A1 又は A2 を用いて水の精製の最終工程で蒸留法によって精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの（有機体炭素が 0.2 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1

mS/m

以下)。例：Elix-UV（Millipore社）

A4：通常、水 A1 又は A2 を用いて水の精製の最終工程で酸化剤を共存させた蒸留法で精製したもの、又はこれと同等の品質が得られる方法で精製したもの（有機体炭素が 0.05 mgC/L 以下、電気伝導率が 0.1 mS/m 以下）。例：Milli-Q, Direct-Q UV, Super-Q, Simplicity UV（すべて Millipore社）

- (b) 硫酸：日本工業規格に規定される（JIS K8951）特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (c) 硫酸カリウム：JIS K8962 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (d) 硫酸銅（Ⅱ）五水和物：JIS K8983 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (e) 二酸化チタン：純度 98.5 %以上 アナターゼ型
- (f) 30 %過酸化水素水：JIS K8230 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (g) ほう酸：JIS K8863 に規定される特級又は同等以上のもの。
- (h) 水酸化ナトリウム：JIS K8576 に規定される特級、JIS K8826 に規定される窒素測定用又はそれらと同等以上のもの。
- (i) ブロモクレゾールグリーン：JIS K8840 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (j) メチルレッド：JIS K8896 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (k) エタノール（95）：JIS K8102 に規定されている一級、又はそれらと同等以上のもの。
- (l) 沸騰石：沸騰石もしくは同様の作用をするもの
- (m) 塩酸：JIS K8180 に規定されている特級、又はそれらと同等以上のもの。滴定用溶液として用いる場合使用する。

4.2 滴定溶液の標定に使用する試薬

- (a) ブロモフェノールブルー：JIS K8844 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (b) エタノール（95）：「4.1（k）」と同様のもの。
- (c) 炭酸ナトリウム：JIS K8005 に規定される容量分析用標準物質を用いる。

5. 器具及び装置

5.1 測定に使用するもの

- (a) 電子天びん：小数第 4 位（0.0001 g）まではかりとることのできるもの。ただし 6 及び 7 において秤量を実施する際に、小数第 4 位まで正確にはかりとる指示がなく、またはかりとる必要がない場合は、はかりとることのできる最小桁が小数第 3 位（0.001 g）以上の電子天びんを用いてもよい。
- (b) 分解用容器：250 ～ 300 mL ケルダール分解チューブを用いる。
- (c) 分解装置
加熱ブロック分解装置：ケルダール分解チューブ一本当たり 100 W 以上の電力を

有し、200～400℃の間で温度調節が可能なものを使用する。

- (d) 自動蒸留装置（蒸留の制御・実施を自動的に行う装置。自動蒸留装置と自動滴定装置が組み合わさった装置を含む。）自動蒸留装置には中和用水酸化ナトリウム水溶液を自動注入でき、蒸留時間の設定が可能なものを使用する。自動蒸留・滴定装置の場合には、蒸留と滴定が自動的に連続して行われるものを使用する
- (e) ビュレット／自動ビュレット：25 mL 容。JIS R3505 に規定するクラス A 又は同等以上のもの⁽³⁾を用いる。
- (f) 自動滴定装置：中和滴定を行う自動分析装置。
- (g) 全量ピペット：5～15 mL 容 JIS R3505 に規定されているクラス A 又は同等以上のものを用いる。
- (h) 三角フラスコ：JIS R3503 に規定するものもしくはそれに準ずるものを用いる。

(3) 柴田科学（株）（ブランド表記：SIBATA）の場合にはカスタム A が JIS 規格（JIS R3505:1994）のクラス A の体積許容誤差で製作され、スーパーグレードがそれ以上の精度で製作されている。旭テクノグラス（ブランド表記：IWAKI）の場合にはニュースタンダードが JIS 規格のクラス A の体積許容誤差で製作され、ニューエクセレントがそれ以上の精度で製作されている。

5.2 滴定溶液の標定に使用するもの

- (a) るつぼ：白金もしくは磁器のものを用いる。
- (b) デシケーター：JIS K8001 に規定するもの。すなわち、乾燥剤として JIS Z0701 に規定するシリカゲル（A 形 1 種）を入れたデシケーターを用いる。シリカゲルは塩化コバルト（II）で着色したものとし、その色が変色したときには約 130℃で加熱して再生する。
- (c) マッフル炉：600℃以上まで加熱できるもの。
- (d) 三角フラスコもしくはコニカルビーカー：200 mL 容。JIS R3503 に規定するものもしくはそれに準ずるものを用いる。

6. 試薬の調製

同一の組成や濃度の市販品等を用いる場合、及びファクターが与えられている市販の滴定液を利用し、その値を用いる場合、当該試薬の調製及び標定は不要である。

6.1 分解促進剤（(a)又は(b)のいずれかを用いる。）

- (a) 硫酸カリウムと硫酸銅（II）五水和物の割合が 9：1 になるように必要量を秤取り、混合して乳鉢で細かく砕き均一にする⁽⁴⁾。
- (b) 硫酸カリウム、硫酸銅（II）五水和物及び二酸化チタンの割合が 10：0.3：0.3 になるように必要量を秤取り、混合して乳鉢で細かく砕き均一にする⁽⁵⁾。

(4) ケルタブ KPC（Thompson & Copper 社製）を使用してもよい。

(5) ケルタブ CT（Thompson & Copper 社製）を使用してもよい。ただし、この分解促進剤を使用すると、発泡性が高まるので、発泡性の高い試料には使用しない方が望ましい。

6.2 中和用水酸化ナトリウム水溶液

中和用水酸化ナトリウム水溶液は、その水溶液 1L 中に水酸化ナトリウムが 250 ～ 450 g 溶解しているように調製する。

6.3 アンモニア捕集液 ((a)～(d)のいずれかを使用する。)

(a) ほう酸水溶液⁽⁶⁾

ほう酸水溶液はその水溶液 1 L 中に、ほう酸が 10 ～ 40 g 含まれるように調製する⁽⁶⁾。

(b) ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド含有ほう酸水溶液：タイプA⁽⁷⁾

「6.3 (a)」の溶液 3 L につき、エタノール (95) 200 mL 中にブロモクレゾールグリーン 0.15 g 及びメチルレッド 0.10 g を含むように調製した溶液⁽⁸⁾ 40 mL を加える。

(c) ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド含有ほう酸水溶液：タイプB⁽⁷⁾

「6.3 (a)」の溶液 1 L につき、エタノール (95) 100 mL 中にブロモクレゾールグリーン 0.1 g を含むように調製した溶液 10 mL と 95%エタノール 100 mL 中に、メチルレッド 0.1 g を含むように調製した溶液 7 mL を加える。

(d) ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド含有ほう酸水溶液⁽⁷⁾

「6.3 (a)」の溶液 20 ～ 50 mL に、エタノール (95) 200 mL 中にブロモクレゾールグリーン 0.15 g 及びメチルレッド 0.10 g を含むように調製した溶液⁽⁸⁾ を数滴加える。

(6) 4%(w/v)ほう酸水溶液の場合、ほう酸 120 g を 3 L 三角フラスコに秤取り、水を 2 L 加えホットプレート等で 40 ～ 60 °C 程度に加温する。完全に溶かした後、よく振り混ぜながら水を加えて 3 L にする。

(7) 「6.3 の (a)」はアクタック社の装置用、「6.3 の (b)」及び「6.3 の (d)」は JIS K8001:1998 に則った調製方法、「6.3 の (c)」は FOSS 社の装置用のアンモニア捕集液。

(8) 同組成、同濃度の市販品を使用してもよい。

6.4 滴定用溶液

滴定用溶液には日本工業規格 (JIS K8001:1998) に準拠して調製された 6.4.1 の 0.05 mol/L 硫酸⁽⁹⁾又は 6.4.2 の 0.1 mol/L 塩酸⁽⁹⁾を使用する。

(9) ファクターが 3 桁以上求められていれば市販品を使用してもよいが、4 桁まで求められているものがより望ましい。通常、市販品の場合、ファクターが 1 以上の場合は 4 桁、1 未満の場合は 3 桁である。

6.4.1 0.05 mol/L硫酸 (4.904 g H₂SO₄/L)

(a) 調製

水 1L をビーカーに秤取り、硫酸 3 mL をかき混ぜながら徐々に加えて室温になるまで放置した後、気密容器に入れて保存する。

(b) 標定

炭酸ナトリウムの必要量をるつぼに入れて 600°C で約 60 分間加熱した後、シリカゲル入りデシケーターに入れて放冷する。その 0.13 ~ 0.16 g を 0.1 mg の桁まで秤取り、コニカルビーカー（呼び容量：200 mL）又は三角フラスコ（呼び容量：200 mL）に移し、炭酸を含まない水 20 mL を加えて溶かす。ブロモフェノールブルー溶液を数滴加え、0.05 mol/L 硫酸で滴定する。

(c) 計算

$$0.05 \text{ mol/L 硫酸のファクター} = \frac{a}{0.005299 \times V} \times \frac{A}{100}$$

a: 秤取った炭酸ナトリウムの質量 (g)

V: 滴定に要した 0.05 mol/L 硫酸の体積 (mL)

A: 炭酸ナトリウムの純度 (%)

0.005299: 0.05mol/L 硫酸 1mL に相当する炭酸ナトリウムの質量(g)

6.4.2 0.1 mol/L塩酸 (3.645 g HCl/L)

(a) 調製

塩酸 9 mL を秤取り、水を加えて 1 L とし、混合した後、気密容器に入れて保存する。

(b) 標定

炭酸ナトリウムの必要量を白金るつぼに入れ、600 °C で約 60 分間加熱した後、シリカゲル入りデシケーターに入れて放冷する。その 0.13 ~ 0.16 g を 0.1 mg の桁まで秤取り、コニカルビーカー（呼び容量：200 mL）又は三角フラスコ（呼び容量：200 mL）に移し、炭酸を含まない水 20 mL を加えて溶かす。ブロモフェノールブルー溶液を数滴加え、0.1 mol/L 塩酸で滴定する。

(c) 計算

$$0.1 \text{ mol/L 塩酸のファクター} = \frac{a}{0.005299 \times V} \times \frac{A}{100}$$

a: 秤取った炭酸ナトリウムの質量 (g)

V: 滴定に要した 0.1 mol/L 塩酸の体積 (mL)

A: 炭酸ナトリウムの純度 (%)

0.005299: 0.1 mol/L 塩酸 1 mL に相当する炭酸ナトリウムの質量(g)

7. 測定手順

7. 分解

7.1.1 予備分解

試料 5 ~ 15 mL⁽¹⁰⁾ 及び分解促進剤 10 g を分解用容器にとり、次いで硫酸 15 mL を入れる⁽¹¹⁾。熱いうちによく振り混ぜながら 30 %過酸化水素水を 2、3 滴ずつ壁面をつたわらせて 10 mL 加える⁽¹²⁾。

空試験⁽¹³⁾ は試料を入れないこと以外、すべて同じ条件にする。

(10) 滴定量が 10 mL 以上 25 mL 以下になるように全量ピペットを用いて採取する。

(11) オートビュレット、メスシリンダー、駒込ピペット等を使用する。硫酸を入れるとすぐに炭化して熱くなる。

(12) 駒込ピペット等を使用し、穏やかな発泡をさせながら加える。激しく発泡した場合には、氷水で冷やす。「6.1 の(a)」の分解促進剤を使用した場合には、緑色の透明な液となる。「6.1 の(b)」の分解促進剤を使用した場合には、黄色の濁った液となる。

(13) 濃硫酸に過酸化水素水を入れ、しばらくすると激しく反応するので、よく振り混ぜながら壁面をつたわらせてゆっくりと入れる。

7.1.2 本分解

最初は 200 °C で加熱し、泡立ちがおさまったら、試料の分解特性に合わせて 400 °C まで上げていく⁽¹⁴⁾。分解液が清澄になった後、さらに 90 ~ 120 分間加熱する⁽¹⁵⁾。

(14) 分解促進剤として 6.1 の(a)を用いた時の例を挙げる。

非発泡性試料：200 °C で 30 分間加熱（最初、細かい泡が立つが、次第におさまる）→ 400 °C（液は黒くなり、白煙が出る）→ 青色透明後 400 °C で 90 分間加熱

発泡性試料：200 °C で 30 分間加熱（黒くなってくる）→ 250 °C で 30 分間加熱（激しく発泡する）→ 300 °C で 30 分間加熱（激しく発泡する）→ 400 °C で 30 ~ 40 分間加熱（激しく発泡する。白煙がでる。加熱 30 ~ 40 分後、青色透明になる）→ 400 °C で 90 分間加熱

(15) 加熱時間は清澄後 90 分間で十分だが、120 分間でも問題ない。

7.2 蒸留及び滴定

次の (a) 又は (b) のいずれかで行う。

(a) 自動蒸留・手滴定

分解液に水を 40 ~ 60 mL⁽¹⁶⁾ を入れ、アルカリ性になるように水酸化ナトリウム水溶液を入れる⁽¹⁷⁾。アンモニア捕集液は 20 ~ 50 mL 使用する。留液が 100 mL 以上得られるように蒸留を行う。

0.05 mol/L 硫酸又は 0.1 mol/L 塩酸により滴定する。プロモクレゾールグリーン・メチルレッド溶液を使用した場合の液色は緑色、微灰青色、微灰色、微灰赤色、微赤色と順に変化するが、微灰赤色を呈したところを終点⁽¹⁸⁾ とする。

(b) 自動蒸留・自動滴定

装置の使用法に従う。

(16) 水の量によりアンモニアの蒸留量が変わる場合があるので、空試験と試料分解液に加える水は同量とする。

(17) 水酸化ナトリウムが 28 g 以上入るようにする。例えば、40 % (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液を用いた場合には、70 mL 加える。

(18) 市販品の混合試薬はメーカーにより、色の変化が多少異なるため、同一の試験区では同じ混合試薬を用いる。

8. 計算

$$\text{全窒素分 (w / v \%)} = \frac{1.401 \times 10^{-3} \times (T - B) \times f}{V} \times 100$$

T : 終点までの滴定に要した滴定液の体積 (mL)

B : 空試験値 (mL)

f : 滴定液のファクター

V : 試料量 (mL)

1.401×10^{-3} : 0.05 mol/L 硫酸又は 0.1 mol/L 塩酸 1 mL に相当する窒素の質量 (g)

※手滴定の空試験で蒸留後に液色が変わらない場合は滴定量を 0 mL とする。液色が変わった場合には、1/3 ~ 1/2 滴⁽¹⁹⁾ずつ滴下する。

(19) 25 mL のビュレットを使用した場合、1 滴が 0.03 ~ 0.05 mL なので、1/3 ~ 1/2 滴では 0.01 ~ 0.03 mL となる。

試験用試料の調製

市販の製品をよくふりまぜ、そのままを試料とする。

共同試験結果

醸造酢の全窒素分（容量）（ケルダール法）共同試験結果

- (1) 参加試験室数：13
- (2) マテリアル数：5
- (3) 濃度：0.103 ~ 0.392 %
- (4) 併行標準偏差 (S_p)：0.00048 ~ 0.0021
- (5) 室間再現標準偏差 (S_R)：0.00086 ~ 0.0042
- (6) 併行相対標準偏差 (RSD_p)：0.34 ~ 0.66 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 (RSD_R)：0.60 ~ 1.1 %

醸造酢の全窒素分（容量）（ケルダール法 + 燃焼法）共同試験結果

- (1) 参加試験室数：17（ケルダール法 13 燃焼法 4）
- (2) マテリアル数：5
- (3) 濃度：0.104 ~ 0.396 %
- (4) 併行標準偏差 (S_p)：0.00051 ~ 0.0019
- (5) 室間再現標準偏差 (S_R)：0.0010 ~ 0.0099
- (6) 併行相対標準偏差 (RSD_p)：0.31 ~ 0.62 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 (RSD_R)：0.83 ~ 2.5 %