⑲　生菌剤定量法

生菌剤定量法は、微生物学的方法により試料中の生菌の菌数の測定を行う試験法である。この試験に使用する水、試薬・試液及び計量器・用器は、必要に応じ無菌のものを用いる。

希釈液

希釈液は、次に掲げる組成及びpHを有するものを滅菌して使用する。

１号希釈液（pH7.0）

カゼイン製ペプトン１g（0.5～1.4g）及び塩化ナトリウム５g（4.5～5.4g）に水約750mLを加えて溶かし、pHを6.9～7.1に調整した後、更に水を加えて1,000mLとする。

２号希釈液（pH7.0）

リン酸二水素カリウム4.5g（4.45～4.54g）、リン酸一水素ナトリウム12水塩６g（5.5～6.4g）、ポリソルベート80　0.5g（0.45～0.54g）、L-システイン塩酸塩一水和物0.5g（0.45～0.54g）及びカンテン0.5g（0.45～0.54g）に水約750mLを加えて溶かし、pHを6.9～7.1に調整した後、更に水を加えて1,000mLとする。

培地の種類並びにその組成及びpH

⑱の生菌剤試験法の項を準用する。

試料溶液の調製

別に規定する場合を除き、次の方法によるものとする。

本品約１gを0.001gの桁まで量り、その数値を記録し、全量ピペットを用いて希釈液50mLを加え、よく振り混ぜ、試料原液とする。この原液１mLを全量ピペットを用いて量り、別に、全量ピペットを用いて量った希釈液９mLに加え、10倍に希釈する。この操作を繰り返し、１mL中に生菌を30～300個を含む濃度又は300～3,000個含む濃度に調製し、試料溶液とする。なお、必要に応じて希釈時に界面活性剤を用いる。

操作法

試料溶液が１mL中に生菌を30～300個含む濃度の場合は、第１法を、１mL中に生菌を300～3,000個含む濃度の場合は、第２法を用いる。

①　第１法

試料溶液１mLずつを５枚のペトリ皿に入れ、これに50℃に保った試験用寒天培地を20mLずつ加え、30秒以内に混和し、固化させる。必要ならば、ペトリ皿の底に試験用寒天培地で基層を作り、上記操作を行った後、更に試験用寒天培地を加えて重層とする。これを36～38℃で各条に規定する期間培養して出現した集落を数え、平均集落数を求める。

$$\text{試料１g中の生菌数}=\frac{\text{平均集落数}\times\text{希釈倍率}\times 50}{\text{試料採取量（g）}}$$

希釈倍率：10倍希釈法による希釈倍数

②　第２法

あらかじめ試験用寒天培地を20mLずつ加え、固化させた５枚のペトリ皿に、試料溶液0.1mLずつを入れて塗布する。これを各条に規定する温度で各条に規定する期間培養し、出現した集落数を数え、平均集落数を求める。

$$\text{試料１g中の生菌数}=\frac{\text{平均集落数}\times\text{希釈倍率}\times 500}{\text{試料採取量（g）}}$$

希釈倍率：10倍希釈法による希釈倍数

⑳　赤外吸収スペクトル測定法

赤外吸収スペクトル測定法は、赤外線が試料を通過するときに吸収される度合いを、各波数について測定する方法である。赤外吸収スペクトルは、横軸に波数（cm^{-1}）を、縦軸に通常透過率（%）又は吸光度をとったグラフで示される。赤外吸収スペクトルは、その物質の化学構造により定まる。したがって、種々の波数における吸収を測定して物質を確認し、又は定量することができる。

装置

複光束式赤外分光光度計を用いる。

あらかじめ分光光度計を調整した後、測定を行う。特に、透過率の直線性は20～80%の間で偏差が１%以内、透過率の再現性は２回繰り返し測定し±0.5%、波数の再現性は波数3,000cm^{-1}付近で±５cm^{-1}、1,000cm^{-1}付近で±１cm^{-1}以内とする。波数目盛りは、通例、ポリスチレン膜の3,060cm^{-1}、1,601cm^{-1}、1,029cm^{-1}、907cm^{-1}等の吸収帯を用いて補正する。

操作法

試料は、主な吸収帯の透過率が20～80%の範囲になるように、次のいずれかの方法により調製する。窓板は、塩化ナトリウム、臭化カリウム、臭化ヨウ化タリウム等を使用する。

①　臭化カリウム錠剤法

固体試料１～２mgをめのう製乳鉢で粉末とし、これに赤外用臭化カリウム100～200mgを加え、湿気を吸わないように注意し、速やかによくすり混ぜた後、錠剤成形器に入れ、0.67kPa以下の減圧下に錠剤の単位面積（cm^2）当たり5,000～10,000kgの圧力を５～８分間加えて製錠し、測定する。

②　溶液法

各条に規定する方法で調製した試料溶液を、液体用固定セルに注入し、測定する。補償光路側には、使用した溶媒を置く。固定セルの厚さは、通例、0.1mm又は0.5mmとする。

③　ペースト法

固定試料をめのう製乳鉢で粉末とし、流動パラフィン等を加え、よく練り合わせ、空気が入らないように注意しながら２枚の窓板の間に挟んで測定する。

④　液膜法

液体試料１～２滴を２枚の窓板の間に挟んで測定する。液層を厚くする必要がある場合は、アルミニウム箔等を２枚の窓板の間に挟み、その中に液体試料がたまるようにする。

⑤　薄膜法

試料を、薄膜のまま又は各条に規定する方法により薄膜を調製した後、測定する。

⑥　気体試料測定法

試料を、排気した５～10cmの長さの光路をもつ気体セルに各条に規定する圧力で入れ、測定する。必要に応じて１m以上の光路をもつ長光路セルを用いることができる。

㉑　旋光度測定法

旋光度測定法は、平面偏光が光学的活性物質又はその溶液を通過するとき、その偏光面が回転する角度を旋光計で測定する方法である。

旋光度α_x^tとは、特定の単色光x（波長又は名称で記載する。）を用い、温度t℃で測定したときの旋光度をいい、右旋性を＋、左旋性を－の記号で示す。

比旋光度　$[\alpha]_x^t$は、次式で表す。

$$[\alpha]_x^t=\frac{100\alpha}{lc}$$

t：測定時の温度

x：用いたスペクトルの特定の単色光の波長又は名称（D線を用いたときは、Dと記載する。）

α：偏光面を回転した角度

l：試料溶液の層、すなわち、測定に用いた測定管の長さ（mm）

c：溶液１mL中に存在する試料のg数である。液状試料を溶液としないでそのまま用いたときは、その密度である。ただし、別に規定する場合を除き、この密度の代わりに、その比重を用いる。

操作法

この測定は、別に規定する場合を除き、温度は20℃、層長は100mm、光線はナトリウムスペクトルのD線で行う。