メンブランフィルターろ過装置　ファンネル及びフィルターホルダーは121℃で15分間滅菌したものを使用し，メンブランフィルターは孔径が0.45μm（芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌の試験にあつては，0.22μm）であつて，かつ，あらかじめ滅菌し，滅菌精製水で予洗したものを使用する。

② 芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌試験法

試料を亜硫酸―鉄加寒天培地上に空気が残らないように密着させ，35.0±1.0℃で48±３時間嫌気的に培養する。黒色の集落を認めたものを芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌陽性とする。

亜硫酸―鉄加寒天培地　普通寒天培地18ml当たり１mlの亜硫酸ナトリウム液（10ｇの亜硫酸ナトリウムを精製水100mlに溶解したもの）及び５滴の硫酸第一鉄液（８ｇの硫酸第一鉄を精製水100mlに溶解したもの）を平板作成直前に普通寒天培地に加える。

③ 腸球菌試験法

イ　推定試験　試料をＫＦレンサ球菌寒天培地上に空気が残らないように密着させ，35.0±1.0℃で48±３時間培養する。淡紅～赤色の集落を認めたものを推定試験陽性とする。

ロ　確定試験　淡紅～赤色の集落を釣菌し，胆汁―エスクリン―アジド寒天培地に画線し，独立した集落を発生させる。45.0±1.0℃で48±３時間培養した後，黄褐～黒色の集落を釣菌し，ブドウ糖寒天斜面に移植する。35.0±1.0℃で24±２時間培養した後，発生した集落についてカタラーゼ試験を行う。カタラーゼ試験において陰性を示したものについてグラム染色を行い，鏡検する。グラム陽性の球菌であれば，確定試験陽性（腸球菌陽性）とする。

ＫＦレンサ球菌寒天培地　ペプトン10ｇ，酵母エキス10ｇ，塩化ナトリウム５ｇ，グリセロリン酸ナトリウム10ｇ，マルトース20ｇ，乳糖１ｇ，アジ化ナトリウム0.4ｇ，ブロモクレゾールパープル溶液（ブロモクレゾールパープル15ｇをエタノール1,000mlに溶解したもの）１ml及び寒天15ｇを精製水1,000mlに加熱溶解し，５分間煮沸した後，50～60℃まで冷却する。これにあらかじめ調製しておいたＴＴＣ溶液（２，３，５―トリフェニルテトラゾリウムクロリド１ｇを精製水100mlに溶解し，孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過したもの）を10ml加えた後，pH7.2に補正する。

胆汁―エスクリン―アジド寒天培地　ペプトン20ｇ，酵母エキス５ｇ，牛胆汁粉末10ｇ，塩化ナトリウム５ｇ，エスクリン１ｇ，クエン酸鉄アンモニウム0.5ｇ，アジ化ナトリウム0.15ｇ及び寒天15ｇを精製水1,000mlに加熱溶解し，滅菌後にpH7.0～7.2となるように補正し，121℃で15分間滅菌する。

④ 緑膿菌試験法

イ　推定試験　試料をmPＡ―Ｂ寒天培地上に空気が残らないように密着させ，41.5±0.5℃で48±３時間培養する。暗褐色又は暗緑色の集落を認めたものを推定試験陽性とする。

ロ　確定試験　暗褐色又は暗緑色の集落を釣菌し，セトリミド寒天培地上に画線し，独立した集落を発生させる。35.0±1.0℃で48±３時間培養した後，類緑色又は赤褐色の集落を釣菌し，普通寒天斜面に移植する。41.5±0.5℃で24±２時間培養した後，菌の発育の有無を観察し，発育を認めたものについてオキシダーゼ試験を行う。オキシダーゼ試験において陽性を示したものについてグラム染色を行い，鏡検する。グラム陰性無芽胞の桿菌であれば，確定試験陽性（緑膿菌陽性）とする。

mPＡ―Ｂ寒天培地　Ｌ―リジン５ｇ，塩化ナトリウム５ｇ，酵母エキス２ｇ，チオ硫酸ナトリウム５ｇ，硫酸マグネシウム1.5ｇ，ショ糖1.25ｇ，キシロース1.25ｇ，乳糖1.25ｇ，寒天15ｇ，フェノールレッド0.08ｇ及びクエン酸鉄アンモニウム0.8ｇを精製水1,000mlに加熱溶解し，滅菌後にpH7.0～7.2となるように補正し，115℃で10分間滅菌した後，50～60℃まで冷却する。これにスルファピリジン176.0mg，硫酸カナマイシン8.5mg，ナリジクス酸37.0mg及びアクチジオン150.0mgを加える。

⑤ 大腸菌群試験法

第１　食品の部のＣ　食品一般の保存基準の項の１の⑵　大腸菌群試験法によつて行う。

⑥ 細菌数（生菌数）の測定法

試料を標準寒天培地上に空気が残らないように密着させ，35.0±1.0℃で24±２時間培養し，発生した集落の数を100で除して１ml当たりの細菌数とする。

f　原水は，泉源から直接採水したものを自動的に容器包装に充塡した後，密栓又は密封しなければならない。

g　原水には，沈殿，ろ過，曝気又は二酸化炭素の注入若しくは脱気以外の操作を施してはならない。

h　採水から容器包装詰めまでを行う施設及び設備は，原水を汚染するおそれのないよう清潔かつ衛生的に保持されたものでなければならない。

i　採水から容器包装詰めまでの作業は，清潔かつ衛生的に行わなければならない。

j　容器包装詰め直後の製品は１ml当たりの細菌数が20以下でなければならない。この場合の細菌数（生菌数）の測定法は次のとおりとする。

①　検体の採取及び試料の調製

検体を容器包装のまま採取し，試験部位を中心にアルコール綿で拭き，滅菌した器具を用いて開封し，開栓し，又は開缶し，その液の100mlをメンブランフィルターろ過装置のファンネル内に注いで吸引ろ過した後，滅菌精製水20～30mlで２～３回ファンネル内を洗浄し，吸引ろ過する。ろ過終了後，滅菌ピンセットを用いてフィルターホルダーからメンブランフィルターを剥がし，これを試料とする。

②　細菌数（生菌数）の測定法

ｅの⑥によつて行う。

k　ｅ及びｊに係る記録は，６月間保存しなければならない。

２．ミネラルウォーター類のうち殺菌又は除菌を行わないものであつて，かつ，容器包装内の二酸化炭素圧力が20℃で98kPa以上のものの原水にあつては，１ml当たりの細菌数が100以下であり，かつ，大腸菌群が陰性でなければならない。この場合の細菌数の測定法及び大腸菌群の試験法は，次のとおりとする。

a　検体の採取及び試料の調製

滅菌採取器具を用いて測定及び試験ごとに原水を無菌的に滅菌容器に採取し，これを検体とする。この原水の原液，10倍液，100倍液及び1,000倍液を作る。炭酸を含有するミネラルウォーター類にあつては，他の滅菌容器に移し，かき混ぜて二酸化炭素を発散させた後試料を作成する。

b　細菌数（生菌数）の測定法

検査しようとする原液，10倍液，100倍液及び1,000倍液のそれぞれについて，滅菌ペトリ皿を２枚以上用意し，これにそれぞれの検液を各１mlずつ正確に滅菌ピペットで採り，これに加温溶解して43～45℃に保持した標準寒天培養基約15mlを加え，静かに回転又は前後左右に傾斜して混合し，冷却凝固させる。検液をペトリ皿に採つてから培養基を注加するまでに20分以上経過してはならない。