培養基が凝固したならば，これを倒位でふ卵器に入れる。

この場合検液を加えないで，希釈用液１mlと培養基とを混合したものを対照とし，ペトリ皿，希釈用液及び培養基の無菌であつたこと並びに操作が完全であつたことを確かめなくてはならない。

ペトリ皿は直径９～10cm，深さ1.5cmとする。

標準寒天培養基　ペプトン5.0ｇ，酵母エキス2.5ｇ，ブドウ糖1.0ｇ及び寒天15.0ｇに精製水1,000mlを加えて加温溶解し，高圧滅菌する。最終pHは，7.0～7.2でなければならない。

培養温度は35℃（上下1.0℃の余裕を認める。）とし，培養時間は24時間（前後２時間の余裕を認める。）とする。ふ卵器より取り出した培養基は，なるべく人工光線の下で低倍率（1.5倍）の拡大鏡を用いて，発生した細菌集落数を算定する。培養時間を経過した後直ちに算定し得ない場合，５℃の冷蔵庫に保存すれば24時間以内は算定に供し得る。

細菌数の算定は，次の要領による。

①　１平板内に集落数30～300の場合

各原液及び倍率希釈の可検物の平板中集落数30～300のものを採り計測する。

②　全平板に集落数300以上の場合

全ての希釈検液の集落数が300以上であつたならば，その希釈倍率の最も高いものについて，後述の密集集落平板測定法により細菌数を計測する。

③　全平板に集落数30以下の場合

全ての平板に30以下の集落が発生した場合は，その最も希釈倍率の低いものを計測する。ただし，この場合はその算定数に「以下」の文字を付けなければならない。

④　拡散集落のある場合

選び出した平板に拡散集落のある場合は，次の条件のものに限りそれ相当の部分を計測する。

イ　他の集落がよく分散していて，拡散集落があつても計測に支障のないもの

ロ　拡散集落の部分が平板の２分の１以下の場合

⑤　試験室内事故

次のような特殊な事故に対しては，試験室内事故（Ｌ．Ａ．）とする。

イ　集落が発生しなかつた場合

ロ　拡散集落の部分が平板の２分の１を超える場合

ハ　汚染されたことが明らかなもの

ニ　その他不適当と思われるもの

⑥　算出法

細菌数は各場合の計測に有効な２枚以上の集落数の算術平均に希釈倍率を乗じたものとする。この数値は上位の２桁を有効数字として略算する。

⑦　密集集落平板計測法

１平板上の集落数が300を少し超えている場合は，その平板の一部分の集落数を正確に１㎠の区画のある計算板を用いて次の要領により計測し，それより平板全面の集落数を算出する。

イ　１㎠に集落数10以下の場合は集落計測板の中心を通過し直交する２直径を作り，その中心より各１cmずつ区分し，６か所の区画の面積中にある集落数を計測し，１㎠の平均集落数を求め，これに平板全面積を乗じて算出する。

ロ　１㎠に集落数10を超える場合は，イの場合の４区画について計測し，以下イと同様にして算出する。

c　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。

３．ミネラルウォーター類のうち殺菌又は除菌を行うものにあつては，次の基準に適合する方法で製造しなければならない。

a　原料として用いる水は，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。

①　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料として用いる水を無菌的に滅菌容器に採取し，これを検体とする。この原料として用いる水の原液，10倍液，100倍液及び1,000倍液を作る。

②　細菌数（生菌数）の測定法

２．のｂによつて行う。

③　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。

b　容器包装に充塡し，密栓若しくは密封した後殺菌するか，又は自記温度計をつけた殺菌器等で殺菌したもの若しくはろ過器等で除菌したものを自動的に容器包装に充塡した後，密栓若しくは密封しなければならない。この場合の殺菌又は除菌は，その中心部の温度を85℃で30分間加熱する方法その他の原料として用いる水等に由来して当該食品中に存在し，かつ，発育し得る微生物を死滅させ，又は除去するのに十分な効力を有する方法で行わなければならない。

c　ｂの殺菌に係る殺菌温度及び殺菌時間の記録又は除菌に係る記録は，６月間保存しなければならない。

４．ミネラルウォーター類，冷凍果実飲料（果実の搾汁又は果実の搾汁を濃縮したものを冷凍したものであつて，原料用果汁以外のものをいう。以下同じ。）及び原料用果汁以外の清涼飲料水

a　原料として用いる水は，水道水又は次のいずれかでなければならない。

①　１　清涼飲料水の成分規格の⑵　個別規格の１．のａに適合し，かつ，鉄が0.3mg／ｌ以下，カルシウム，マグネシウム等（硬度）が300mg／ｌ以下であるもののうち，２　清涼飲料水の製造基準の⑵　個別基準の１．（ｆ，ｈ，ｉ，ｊ及びｋを除く。）又は２．に適合するもの。

②　１　清涼飲料水の成分規格の⑵　個別規格の２．及び２　清涼飲料水の製造基準の⑵　個別基準の３．のａに適合するものであつて，かつ，鉄が0.3mg／ｌ以下，カルシウム，マグネシウム等（硬度）が300mg／ｌ以下であるもの。

b　製造に使用する果実，野菜等の原料は，鮮度その他の品質が良好なものであり，かつ，必要に応じて十分洗浄したものでなければならない。

c　清涼飲料水は，容器包装に充塡し，密栓若しくは密封した後殺菌するか，又は自記温度計をつけた殺菌器等で殺菌したもの若しくはろ過器等で除菌したものを自動的に容器包装に充塡した後，密栓若しくは密封しなければならない。この場合の殺菌又は除菌は，次の方法で行わなければならない。ただし，容器包装内の二酸化炭素圧力が20℃で98kPa以上であり，かつ，植物又は動物の組織成分を含有しないものにあつては，殺菌及び除菌を要しない。

①　pH4.0未満のものの殺菌にあつては，その中心部の温度を65℃で10分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

②　pH4.0以上のもの（pH4.6以上で，かつ，水分活性が0.94を超えるものを除く。）の殺菌にあつては，その中心部の温度を85℃で30分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。