

○ 清涼飲料水

1 清涼飲料水の成分規格

(1) 一般規格

1. 混濁（原材料として用いられる植物若しくは動物の組織成分，着香若しくは着色の目的に使用される添加物又は一般に人の健康を損なうおそれがないと認められる死滅した微生物（製品の原材料に混入することがやむを得ないものに限る。）に起因する混濁を除く。）したものであつてはならない。
2. 沈殿物（原材料として用いられる植物若しくは動物の組織成分，着香若しくは着色の目的に使用される添加物又は一般に人の健康を損なうおそれがないと認められる死滅した微生物（製品の原材料に混入することがやむを得ないものに限る。）に起因する沈殿物を除く。）又は固形の異物（原材料として用いられる植物たる固形物でその容量百分率が30%以下であるものを除く。）のあるものであつてはならない。
3. 金属製容器包装入りのものについては，スズの含有量は，150.0ppm を超えるものであつてはならない。
4. 大腸菌群が陰性でなければならない。この場合の大腸菌群試験法は，次のとおりとする。

a 検体の採取及び試料の調製

検体を容器包装のまま採取し，できるだけ早くその外部を流水で洗い，乾燥した後試験部位を中心にアルコール綿（70%エタノールに浸した綿をいう。以下同じ。）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10ml及び1ml並びに10倍液1mlを採り，これを試料とする。炭酸を含有する清涼飲料水にあつては，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 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(2) 大腸菌群試験法によつて行う。なお，試料の調整にあつては，aに準じて行う。

(2) 個別規格

1. ミネラルウォーター類（水のみを原料とする清涼飲料水をいう。以下同じ。）のうち殺菌又は除菌を行わないもの
 - a 次の表の第1欄に掲げる事項につき同表の第2欄に掲げる規格に適合するものでなければならない。

第1欄	第2欄
亜鉛	5 mg／l 以下であること。
カドミウム	0.003 mg／l 以下であること。
水銀	0.0005 mg／l 以下であること。
セレン	0.01 mg／l 以下であること。
銅	1 mg／l 以下であること。
鉛	0.05 mg／l 以下であること。
バリウム	1 mg／l 以下であること。
ヒ素	0.05 mg／l 以下であること。
マンガン	2 mg／l 以下であること。
六価クロム	0.05 mg／l 以下であること。
シアン（シアンイオン及び塩化シアン）	0.01 mg／l 以下であること。
硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素	10 mg／l 以下であること。
フッ素	2 mg／l 以下であること。
ホウ素	ホウ酸として 30 mg／l 以下であること。

b 容器包装内の二酸化炭素圧力が 20℃で 98kPa 未満のものにあつては、腸球菌及び緑膿菌が陰性でなければならない。この場合の腸球菌及び緑膿菌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

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 10ml 及び 1ml を採り、これを試料とする。

② 腸球菌試験法

イ 推定試験 10ml 及び 1ml の試料を、それぞれ A C 培地に接種する。10ml の試料を接種するときは、倍濃度の A C 培地 10ml を使用する。これを 35.0

±1.0℃で48±3時間培養した後、混濁の有無を観察する。混濁を生じたものを推定試験陽性とする。

ロ 確定試験 推定試験で陽性を示した試験管の1白金耳を新しいAC培地に移植し、45.0±1.0℃で48±3時間培養した後、混濁の有無を観察する。混濁を生じたものを確定試験陽性とする。

ハ 完全試験 確定試験で陽性を示した試験管の1白金耳をブドウ糖寒天培地に画線し、独立した集落を発生させる。35.0±1.0℃で24±2時間培養した後、平板上に発生した集落を釣菌し、ブドウ糖ブイヨンに移植し、35.0±1.0℃で24±2時間培養する。これをブドウ糖寒天斜面及び6.5%塩化ナトリウム加ブドウ糖ブイヨンに移植し、35.0±1.0℃で培養する。ブドウ糖寒天斜面において24±2時間培養した後、発生した集落の菌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のものについてグラム染色を行い、鏡検する。また、6.5%塩化ナトリウム加ブドウ糖ブイヨンにおいて48±3時間培養した後、混濁の有無を観察する。ブドウ糖寒天斜面の集落の菌がグラム陽性の球菌であり、6.5%塩化ナトリウム加ブドウ糖ブイヨンで混濁を生じたものを完全試験陽性（腸球菌陽性）とする。

a. AC培地 ペプトン20g、酵母エキス5g、ブドウ糖5g、クエン酸ナトリウム10g、塩化ナトリウム5g、リン酸二カリウム4g、リン酸一カリウム1.5g及びアジ化ナトリウム0.25gを精製水1,000mlに溶解し、滅菌後にpH7.0となるように補正し、試験管に分注した後、121℃で15分間滅菌する。

b. ブドウ糖寒天培地 ペプトン10g、酵母エキス3g、ブドウ糖10g、塩化ナトリウム5g及び寒天15gを精製水1,000mlに加熱溶解し、滅菌後にpH7.4となるように補正し、121℃で15分間滅菌する。

c. ブドウ糖ブイヨン ペプトン10g、肉エキス5g、ブドウ糖10g及び塩化ナトリウム5gを精製水1,000mlに溶解し、滅菌後にpH7.0となるように補正し、試験管に分注した後、121℃で15分間滅菌する。

d. ブドウ糖寒天斜面 ペプトン10g、酵母エキス3g、ブドウ糖5g、塩化ナトリウム5g及び寒天13gを精製水1,000mlに加熱溶解し、滅菌後にpH7.4となるように補正し、試験管に分注した後、121℃で15分間滅菌する。

e. 6.5%塩化ナトリウム加ブドウ糖ブイヨン ペプトン10g、肉エキス5g、ブドウ糖10g及び塩化ナトリウム65gを精製水1,000mlに溶解し、滅菌後にpH7.0となるように補正し、試験管に分注した後、121℃で15分間滅菌する。

③ 緑膿菌^{のう}試験法

イ 推定試験 10ml 及び 1 ml の試料を、それぞれアスパラギンブイヨンに接種する。10ml の試料を接種するときは、倍濃度のアスパラギンブイヨン 10ml を使用する。これを $35.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で 24 ± 2 時間培養した後、混濁の有無及び長波長 (365nm) の紫外線灯下での蛍光の有無を観察する。混濁又は蛍光が認められないときは、更に培養を続けて 48 ± 3 時間まで観察する。混濁を生じ、かつ、蛍光を認めたものを推定試験陽性とする。

ロ 確定試験 推定試験で陽性を示した試験管の 1 白金耳をセトリミド寒天培地に画線し、独立した集落を発生させる。 $35.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 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。 $41.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 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の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^{かん}の桿菌であれば、確定試験陽性 (緑膿菌^{のう}陽性) とする。

a. アスパラギンブイヨン DL-アスパラギン 3 g, リン酸二カリウム 1 g 及び硫酸マグネシウム 0.5 g を精製水 1,000ml に溶解し、滅菌後に pH6.9~7.2 となるように補正し、試験管に分注した後、 121°C で 15 分間滅菌する。

b. セトリミド寒天培地 ペプトン 20 g, 塩化マグネシウム 1.4 g, 硫酸カリウム 10 g, セトリミド 0.3 g 及び寒天 15 g を精製水 1,000ml に加熱溶解し、滅菌後に pH7.0~7.4 となるように補正し、 121°C で 15 分間滅菌する。

2. ミネラルウォーター類のうち殺菌又は除菌を行うもの

次の表の第 1 欄に掲げる事項につき同表の第 2 欄に掲げる規格に適合するものでなければならない。

第 1 欄	第 2 欄
亜鉛	5 mg/l 以下であること。
カドミウム	0.003 mg/l 以下であること。
水銀	0.0005 mg/l 以下であること。
セレン	0.01 mg/l 以下であること。
銅	1 mg/l 以下であること。

鉛	0.05 mg/l 以下であること。
バリウム	1 mg/l 以下であること。
ヒ素	0.05 mg/l 以下であること。
マンガン	2 mg/l 以下であること。
六価クロム	0.05 mg/l 以下であること。
亜塩素酸	0.6 mg/l 以下であること。
塩素酸	0.6 mg/l 以下であること。
クロロホルム	0.06 mg/l 以下であること。
残留塩素	3 mg/l 以下であること。
シアン（シアンイオン及び塩化シアン）	0.01 mg/l 以下であること。
四塩化炭素	0.002 mg/l 以下であること。
1,4-ジオキサン	0.04 mg/l 以下であること。
ジクロロアセトニトリル	0.01 mg/l 以下であること。
1,2-ジクロロエタン	0.004 mg/l 以下であること。
ジクロロメタン	0.02 mg/l 以下であること。
シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン	シス体とトランス体の和として 0.04 mg/l 以下であること。
ジブロモクロロメタン	0.1 mg/l 以下であること。
臭素酸	0.01 mg/l 以下であること。
硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素	10 mg/l 以下であること。
総トリハロメタン	0.1 mg/l 以下であること。
テトラクロロエチレン	0.01 mg/l 以下であること。

トリクロロエチレン	0.004 mg/l 以下であること。
トルエン	0.4 mg/l 以下であること。
フッ素	2 mg/l 以下であること。
ブロモジクロロメタン	0.03 mg/l 以下であること。
ブロモホルム	0.09 mg/l 以下であること。
ベンゼン	0.01 mg/l 以下であること。
ホウ素	ホウ酸として 30 mg/l 以下であること。
ホルムアルデヒド	0.08 mg/l 以下であること。
有機物等（全有機炭素）	3 mg/l 以下であること。
味	異常でないこと。
臭気	異常でないこと。
色度	5度以下であること。
濁度	2度以下であること。

3. ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水

- a ヒ素及び鉛を検出するものであつてはならない。この場合のヒ素及び鉛の試験法は、次のとおりとする。

① 試験溶液の調製

試験溶液の調製は、イに示す湿式分解法又はロに示す乾式灰化法により行う。ただし、ヒ素の試験にあつては、イに示す湿式分解法により行う。

イ 湿式分解法

検体 100 g（希釈して飲用に供する清涼飲料水にあつてはその飲用に際して希釈する倍数の値で、濃縮した原料用果汁にあつてはその濃縮した倍数の値で 100 g を除いた量）を採り、水浴上で加温し、蒸発濃縮してシロップ状とする。これを水約 10ml を用いて分解フラスコに移し、硫酸 8ml 及び硝酸 10ml を加えて溶かした後、加熱しながら硝酸 1～2ml を時々補充し、溶液がほとんど無色又は淡黄色となるまで加熱を続ける。一旦冷却した後、水 15ml 及びシュウ酸アンモニウム溶液 10ml を加え、フラスコの頸部に白霧が現れるまで

加熱する。冷後、水を加えて全量を 50ml とし、これを試験溶液とする。別に、検体の代わりに水を用いて検体の場合と同様に操作して得られた溶液を空試験溶液とする。

ロ 乾式灰化法

検体 50 g（希釈して飲用に供する清涼飲料水にあつてはその飲用に際して希釈する倍数の値で、濃縮した原料用果汁にあつてはその濃縮した倍数の値で 50 g を除した量）を採り、赤外線ランプ下又は乾燥器中で乾燥後、450～500℃でほとんど白色の灰分が得られるまで加熱する。冷後、塩酸（1→2）5 ml を静かに注加して溶かした後、水浴上で蒸発乾固する。冷後、1 mol/l 塩酸に溶かして全量を 25ml とし、これを試験溶液とする。別に、検体の代わりに水を用いて検体の場合と同様に操作して得られた溶液を空試験溶液とする。

② ヒ素の試験法

ヒ素の試験は、イに示すグットツァイト法又はロに示すジエチルジチオカルバミン酸銀法により行う。

イ グットツァイト法

試験溶液 3 ml を採り、第 2 添加物の部 B 一般試験法の項の 36. ヒ素試験法の目中の装置 A を用いる方法により試験を行うとき、その呈色は標準色より濃くてはならない。ただし、この場合の標準色は、空試験溶液 3 ml にヒ素標準液 1.2 ml を加えた溶液について試験溶液の場合と同様に操作して作る。

ロ ジエチルジチオカルバミン酸銀法

a. 装置

概略は、次の図による（単位 mm）。（図 略）

b. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

ジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液：ジエチルジチオカルバミン酸銀 1 g をピリジン 200 ml に溶かし、遮光して冷所に保存する。

砂状亜鉛：20～30 メッシュの無ヒ素亜鉛を 1% 硫酸銅溶液に黒化するまで浸し、洗浄した後、乾燥する。

塩化第一スズ溶液：塩化第一スズ 4 g を無ヒ素塩酸 125 ml に溶かし、水を加えて 250 ml とし、共栓瓶に入れ、密栓して保存する。

c. 試験操作

試験溶液 10ml を発生フラスコに採り、水を加えて 25ml とし、塩酸（1 → 2）5ml、ヨウ化カリウム溶液 2ml 及び塩化第一スズ溶液 5ml を加え、室温で 15 分間放置する。次いで、この発生フラスコに砂状亜鉛 3 g を加え、直ちに吸収管及びガス誘導管を連結し、あらかじめジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液 3ml を入れた吸収受器を接続して 20～25℃ で 1 時間放置する。次に、装置を外し、ガス誘導管内の液を吸収受器内の吸収液に合わせてよく混和した後、この吸収液を 1 cm の吸収セルに採り、30 分以内にジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液を対照液として波長 525nm 付近で吸光度を測定するとき、試験溶液の吸光度は、空試験溶液 10ml にヒ素標準液 4ml を加えた後、水を加えて 25ml とした溶液について、試験溶液の場合と同様に操作して得られる吸光度を超えてはならない。

③ 鉛の試験法

鉛の試験は、イに示す原子吸光光度法又はロに示すポーラログラフ法により行う。

イ 原子吸光光度法

a. 装置

原子吸光光度計

光源：鉛中空陰極ランプ

燃料：アセチレンガス又は水素

b. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

クエン酸アンモニウム溶液：クエン酸第二アンモニウム 2.5 g を水に溶かして 100ml とする。

硫酸アンモニウム溶液：硫酸アンモニウム 40 g を水に溶かして 100ml とする。

DDTC 溶液：ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム 10 g を水に溶かして 100ml とする。

鉛標準溶液：硝酸鉛 1.598 g を 1 mol/l 硝酸に溶かして 1,000ml とする。
この溶液 8 ml を採り、0.5 mol/l 硝酸を加えて 1,000ml とする。

c. 試験操作

試験溶液及び空試験溶液それぞれ 10ml を採り、それぞれにクエン酸アンモニウム溶液 2ml 及びブロモチモールブルー試液 2 滴を加え、溶液の

色が黄色から緑色になるまでアンモニア水で中和した後、硫酸アンモニウム溶液 2ml を加え、水を加えて 20ml とする。次いで、それぞれに DDT 溶液 2ml を加えて混和し、数分間放置した後、メチルイソブチルケトン 10ml を加えて激しく振り混ぜ、静置した後、メチルイソブチルケトン層を分取し、217.0nm の測定波長において試験溶液の吸光度 A 及び空試験溶液の吸光度 Ab を測定する。次に、鉛標準溶液 1ml 及び水 1ml を採り、0.5mol/l 硝酸を加えて 10ml とした後、試験溶液の場合と同様に操作して標準溶液の吸光度 As 及び水の吸光度 Ao を測定するとき、 $A - A_b$ の値は $A_s - A_o$ の値を超えてはならない。

ロ ポーラログラフ法

a. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

第 1 電解液：1.2mol/l 過塩素酸と 0.004mol/l 塩酸を等容量混合する。

第 2 電解液：0.6mol/l 過塩素酸と 0.002mol/l 塩酸を等容量混合する。

ゼラチン溶液：ゼラチン 100mg に水 100ml を加え、加温して溶かす。

鉛標準溶液：硝酸鉛 0.1598g に硝酸（1→100）1ml を加え、更に水約 10ml を加えて溶かした後、第 1 電解液 50ml を加え、更に水を加えて 100ml とし、鉛標準原液とする。

鉛標準原液 0.8ml を採り、第 1 電解液を加えて 100ml とする。この溶液 10ml を採り、第 1 電解液を加えて 100ml とする。

臭化水素酸試液：臭化水素酸（特級）を用いる。

b. 試験操作

試験溶液 5ml を採り、第 1 電解液 5ml を加えて混和する（直流ポーラログラフを用いる場合にあつては、更にゼラチン溶液 0.2ml を加える。）。ただし、試験溶液中にスズが共存する場合は、試験溶液 5ml を採り、砂浴上で一旦蒸発乾固させた後、臭化水素酸試液 10ml を加え、再び蒸発乾固させる。冷後、臭化水素酸試液 5ml を加えて同様に蒸発乾固させた後、塩酸（1→2）5ml を静かに注加し、水浴上で再び蒸発乾固させる。これに第 2 電解液 10ml を加え（直流ポーラログラフを用いる場合にあつては、更にゼラチン溶液 0.2ml を加える。）、時々混和して 3 時間以上放置する。この溶液約 5ml を電解瓶に採り、電解瓶の白金線が隠れるまで水銀を注入した後、25°C の恒温槽に入れ、滴水水銀電極を挿入する。次いで、電解瓶に窒素を 15 分間通じた後、 $-0.3 \sim -1.0V$ 間のポーラログラフを描かせるとき、試験溶液の波高は、空試験溶液 5ml 及び鉛標準溶

液 5ml を採り、混和し、以下、試験溶液の場合と同様に操作して得られる波高を超えてはならない。

- b リんごの搾汁及び搾汁された果汁のみを原料とするものについては、パツリンの含有量が 0.050ppm を超えるものであつてはならない。

2 清涼飲料水の製造基準

(1) 一般基準

製造に使用する器具及び容器包装は、適当な方法で洗浄し、かつ、殺菌したものでなければならない。ただし、未使用の容器包装であり、かつ、殺菌され、又は殺菌効果を有する製造方法で製造され、使用されるまでに汚染されるおそれのないように取り扱われたものにあつては、この限りでない。

(2) 個別基準

1. 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（容器包装内の二酸化炭素圧力が 20℃で 98kPa 以上のものを除く。）にあつては、次の基準に適合するものでなければならない。
 - a 原水は、自然に、又は掘削によつて地下の帯水層から直接得られる鉱水のみとし、泉源及び採水地点の環境保全を含め、その衛生確保に十分に配慮しなければならない。
 - b 原水は、その構成成分、湧出量及び温度が安定したものでなければならない。
 - c 原水は、人為的な環境汚染物質を含むものであつてはならない。ただし、別途成分規格が設定されている場合にあつては、この限りでない。
 - d 原水は、病原微生物に汚染されたもの又は当該原水が病原微生物に汚染されたことを疑わせるような生物若しくは物質を含むものであつてはならない。
 - e 原水は、芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌、腸球菌、緑膿菌^{のう}及び大腸菌群が陰性であり、かつ、1ml 当たりの細菌数が 5 以下でなければならない。この場合の、芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌、腸球菌、緑膿菌^{のう}及び大腸菌群の試験法並びに細菌数の測定法は、次のとおりとする。

① 検体の採取及び試料の調製

滅菌採取器具を用いてそれぞれの試験及び測定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。メンブランフィルターろ過装置のファンネル内に検体（芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌の試験にあつては、70℃で 20 日間加熱処理したものを）を 250ml（細菌数の測定にあつては、100ml）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。ただし、大腸菌群の試験にあつては、原水の原液、10 倍液、100 倍液及び 1,000 倍液を作り、これを試料とする。

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°C 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°C で 48±3 時間嫌氣的に培養する。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 (10 g 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 (8 g 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 K F 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°C 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°C 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°C 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。

K F レンサ球菌寒天培地 ペプトン 10 g, 酵母エキス 10 g, 塩化ナトリウム 5 g, グリセロリン酸ナトリウム 10 g, マルトース 20 g, 乳糖 1 g, アジ化ナトリウム 0.4 g, 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 15 g をエタノール 1,000ml に溶解したもの) 1 ml 及び寒天 15 g を精製水 1,000ml に加熱溶解し、5 分間煮沸した後、50～60°C まで冷却する。これにあらかじめ調製しておいた T T C 溶液 (2, 3, 5—トリフェニルテトラゾリウムクロリド 1 g 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 20 g, 酵母エキス 5 g, 牛胆汁粉末 10 g, 塩化ナトリウム 5 g, エスクリン 1 g, クエン酸鉄アンモニウム 0.5 g, アジ化ナトリウム 0.15 g 及び寒天 15 g 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°C で 15 分間滅菌する。

④ 緑膿菌試験法

イ 推定試験 試料を mP A—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°C 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°C 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°C 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。

mP A—B 寒天培地 L—リジン 5 g, 塩化ナトリウム 5 g, 酵母エキス 2 g, チオ硫酸ナトリウム 5 g, 硫酸マグネシウム 1.5 g, ショ糖 1.25 g, キシロース 1.25 g, 乳糖 1.25 g, 寒天 15 g, フェノールレッド 0.08 g 及びクエン酸鉄アンモニウム 0.8 g 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°C で 10 分間滅菌した後, 50~60°C 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 (2) 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°C で 24±2 時間培養し, 発生した集落の数を 100 で除して 1 ml 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填した後, 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っ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。

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 1 ml 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 5.0 g, 酵母エキス 2.5 g, ブドウ糖 1.0 g 及び寒天 15.0 g 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°C (上下 1.0°C 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°C 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 集落が発生しなかった場合
- 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 その他不相当と思われるもの

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1cm²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 1cm²に集落数10以下の場合に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、1cm²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 1cm²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(2) 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(2) 大腸菌群試験法
によつて行う。

- b 容器包装に充填し、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填した後、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若しく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(2) 個別規格の1.のaに適合し、かつ、鉄が0.3 mg/l以下、カルシウム、マグネシウム等（硬度）が300 mg/l以下であるもののうち、2 清涼飲料水の製造基準の(2) 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(2) 個別規格の2.及び2 清涼飲料水の製造基準の(2) 個別基準の3.のaに適合するものであつて、かつ、鉄が0.3 mg/l以下、カルシウム、マグネシウム等（硬度）が300 mg/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、容器包装に充填し、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填した後、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。

③ pH4.6 以上で、かつ、水分活性が 0.94 を超えるものの殺菌にあつては、原材料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るのに十分な効力を有する方法又は②に定める方法で行うこと。

④ 除菌にあつては、原材料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除去するのに十分な効力を有する方法で行うこと。

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

e 紙栓により打栓する場合は、打栓機械により行わなければならない。

5. 冷凍果実飲料

a 原料用果実は、傷果、腐敗果、病害果等でない健全なものを用いなければならない。

b 原料用果実は、水、洗浄剤等に浸して果皮の付着物を膨潤させ、ブラッシングその他の適当な方法で洗浄し、十分に水洗した後、次亜塩素酸ナトリウム液その他の適当な殺菌剤を用いて殺菌し、十分に水洗しなければならない。

c 殺菌した原料用果実は、汚染しないように衛生的に取り扱わなければならない。

d 搾汁及び搾汁された果汁の加工は、衛生的に行わなければならない。

e 製造に使用する器具及び容器包装は、適当な方法で洗浄し、かつ、殺菌したものでなければならない。ただし、未使用の容器包装であり、かつ、殺菌され、又は殺菌効果を有する製造方法で製造され、使用されるまでに汚染されるおそれのないように取り扱われたものにあつては、この限りでない。

f 搾汁された果汁（密閉型全自動搾汁機により搾汁されたものを除く。）の殺菌又は除菌は、次の方法で行わなければならない。

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。

③ 除菌にあつては、原材料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除去するのに十分な効力を有する方法で行うこと。

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

h 搾汁された果汁は、自動的に容器包装に充填し、密封しなければならない。

i 化学的合成品たる添加物（酸化防止剤を除く。）を使用してはならない。

6. 原料用果汁

a 製造に使用する果実は、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。

b 搾汁及び搾汁された果汁の加工は、衛生的に行わなければならない。

3 清涼飲料水の保存基準

(1) 紙栓をつけたガラス瓶に収められたものは、10℃以下で保存しなければならない。

(2) ミネラルウォーター類、冷凍果実飲料及び原料用果汁以外の清涼飲料水のうち、pH4.6以上で、かつ、水分活性が0.94を超えるものであり、原材料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殺菌又は除菌を行わないものにあつては、10℃以下で保存しなければならない。

(3) 冷凍果実飲料及び冷凍した原料用果汁は、-15℃以下で保存しなければならない。

(4) 原料用果汁は、清潔で衛生的な容器包装に収めて保存しなければならない。

4 コップ販売式自動販売機及び運搬器具又は容器包装に充填された原液を用いて自動的に清涼飲料水の調理を行う器具（以下「清涼飲料水全自動調理機」という。）により調理される清涼飲料水の調理基準

(1) 調理に用いる清涼飲料水の原液は1 清涼飲料水の成分規格に定める規格に、調理に用いる粉末清涼飲料又は砂糖は第1 食品の部D 各条の項○ 粉末清涼飲料の1 粉末清涼飲料の成分規格に定める規格に、調理に用いる氷雪は同項○ 氷雪の1 氷雪の成分規格に定める規格に、それぞれ適合するものでなければならない。また、調理に用いる水は、食品製造用水でなければならない。

(2) 調理に用いる清涼飲料水の原液は、充填直前に適当な方法で洗浄され、かつ、殺菌された運搬器具又は容器包装に自動的に充填した後、密栓若しくは密封又はこれらと同等の処置を施したものをを用いなければならない。ただし、殺菌され、又は殺菌効果を有する製造方法で製造され、使用されるまで汚染されるおそれのないように取り扱われた未使用の運搬器具又は容器包装に自動的に充填した後、密栓若しくは密封又はこれらと同等の処置を施したものにあっては、この限りでない。

- (3) 清涼飲料水の原液その他の原料の溶解，抽出，希釈及び混合は，カップ販売式自動販売機又は清涼飲料水全自動調理機の中で行わなければならない。ただし，機外で混合する構造の清涼飲料水全自動調理機における混合にあつては，この限りでない。
- (4) 調理に用いる清涼飲料水の原液，水及びその他の原料を溶解し，抽出し，希釈し又は混合した液（以下「機内の液体」という。）は，カップ販売式自動販売機又は清涼飲料水全自動調理機の中で 10℃以下又は 63℃以上に保たなければならない。ただし，密栓若しくは密封又はこれらと同等の処置を施した運搬器具又は容器包装に収められたものにあつてはこの限りでない。