

# ペトリフィルム™

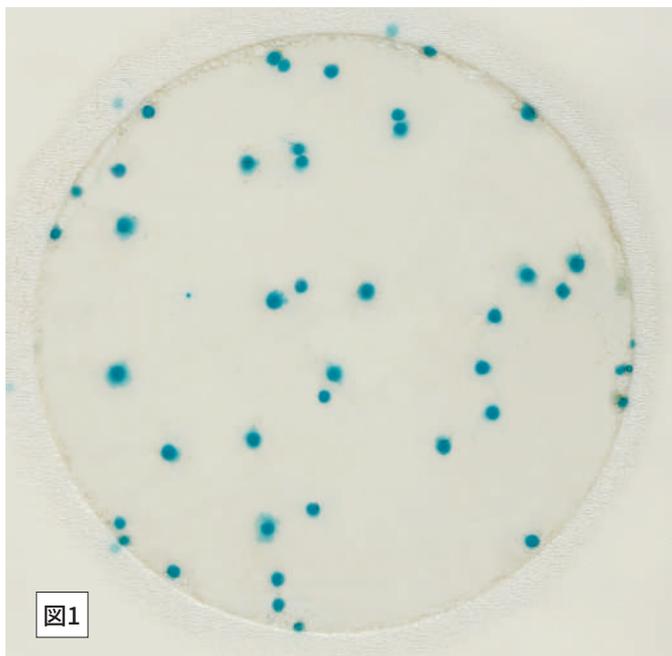
## カビ・酵母迅速測定用プレート

(RYMプレート)

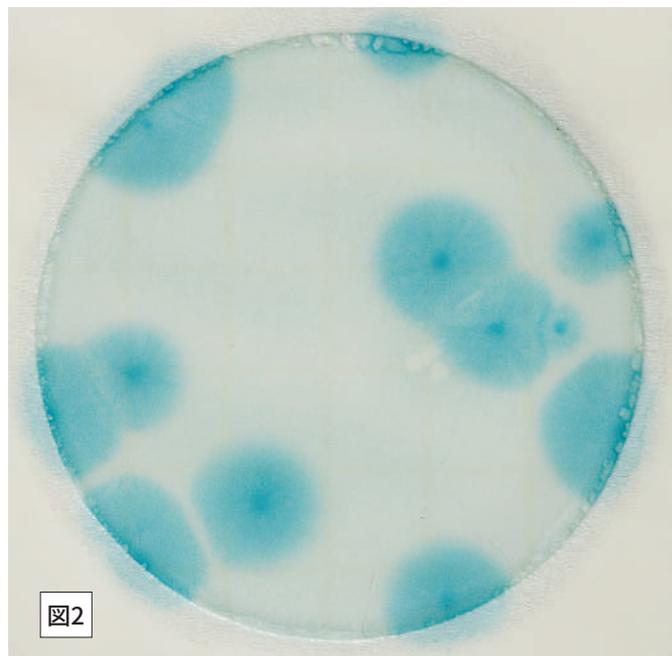
### Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate (RYM Plate)

この解説書はペトリフィルム™カビ・酵母迅速測定用プレート（以下「本プレート」という）に現れた結果を良く理解していただくためのものです。

本プレートは、抗生物質を含む栄養成分、冷水可溶性ゲル化剤、およびカビ・酵母の測定を容易にするための指示薬を含んだできあがり培地です。



酵母数 = 44



カビ数 = 12

### 酵母とカビのコロニーの特徴

本プレート上の酵母とカビのコロニーを区別する際は、以下の1つ以上の特徴があります。

#### 酵 母

- 小型のコロニー
- コロニーの縁が明確
- 淡赤褐色から青緑の色調
- 盛り上がりのあるコロニー
- 均一な色のコロニー

#### カ ビ

- 大型のコロニー
- コロニーの縁が不明確
- 青緑から多彩な色調（培養時間の長さによって異なる）
- 偏平なコロニー
- 中心が濃色のコロニー

## 適正測定範囲：～150コロニー

本プレートは、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ もしくは $28 \pm 1^\circ\text{C}$ で $48 \pm 2$ 時間培養してください。なお、コロニーの数が150以上の場合、格子状の1cm角当たりの平均コロニー数を求め、その数値を30倍して本プレート当たりの推定総数とします。本プレートの接種面積は約 $30\text{cm}^2$ です。グリッド線はバックライトを使用すると見やすくなります。

### 酵 母

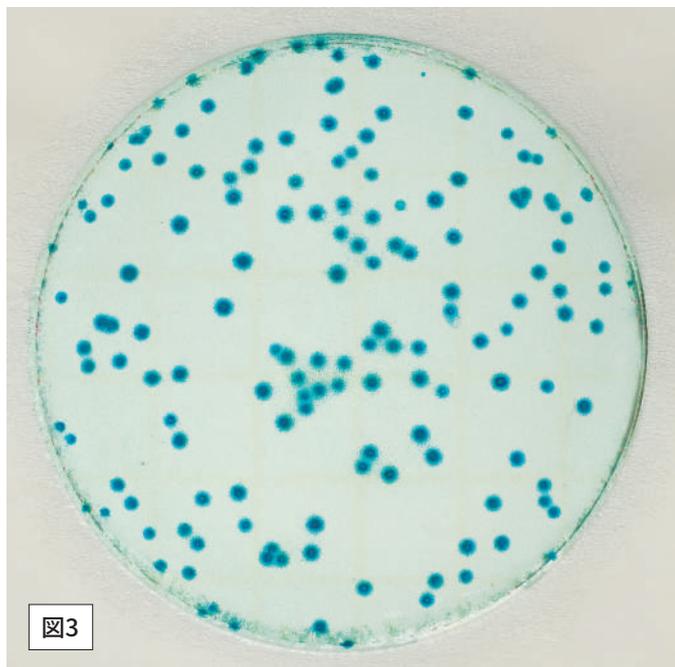


図3

酵母数 = 151

青緑色のコロニーを酵母として計測します。

### カ ビ

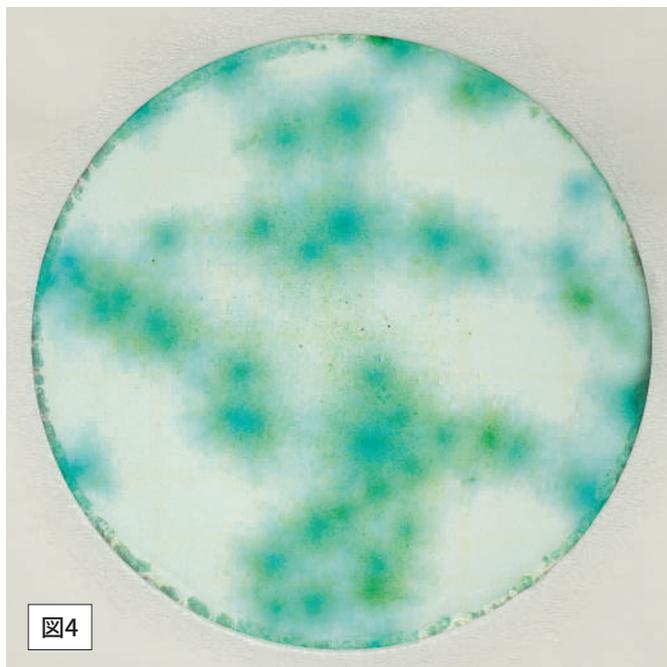


図4

カビ数 = 45

カビは多彩な色調で出現することがあります。

### 酵 母 ・ カ ビ

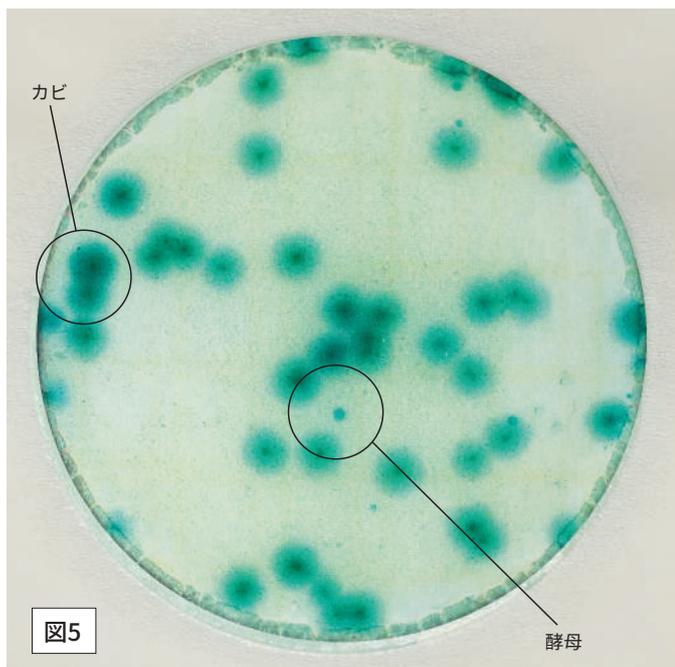


図5

酵母数 = 6、カビ数 = 44

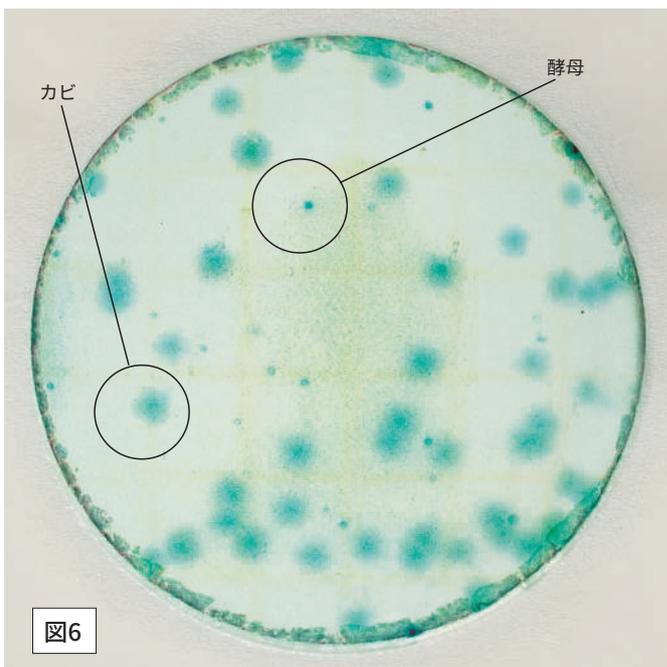


図6

酵母数 = 16、カビ数 = 43

酵母

カビ

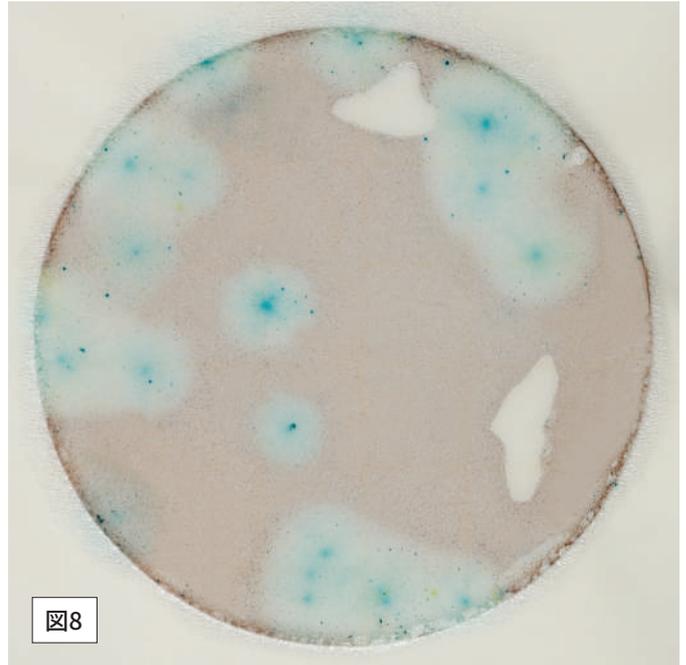
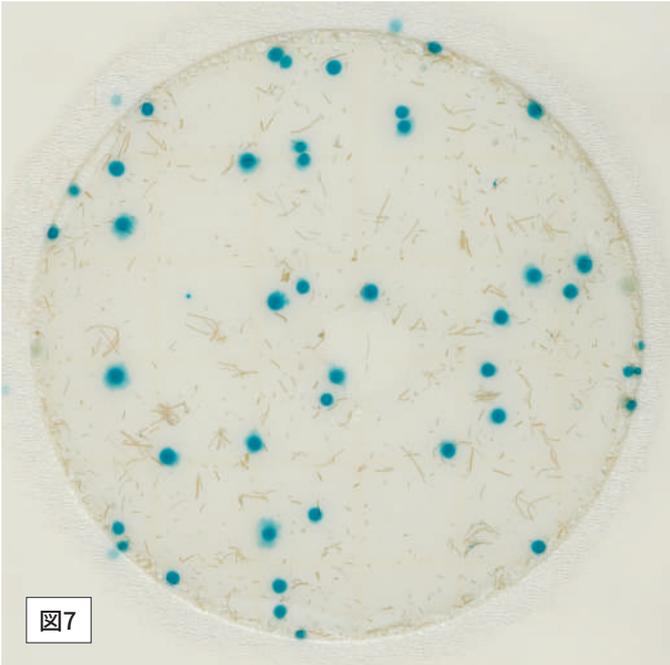


図7

図8

酵母数 = 45

食品残渣の形状は不定形です。フォームダムの外に生育しているコロニーはカウントしません。

カビ数 = 19

色が薄くなっている箇所は気泡です。気泡が入った場合でも判定には影響しません。

食品の種類によっては、28℃の方が生育およびコロニー形成が明確な場合もあります。

酵母

カビ

25℃

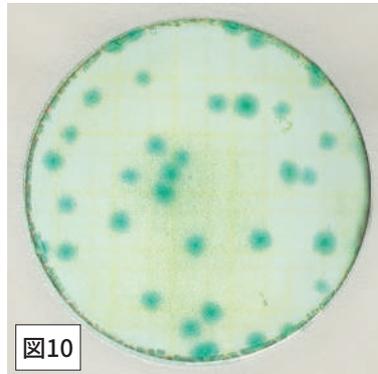
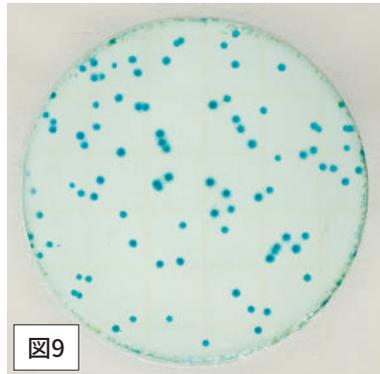


図9

図10

酵母数 = 99

カビ数 = 33



28℃

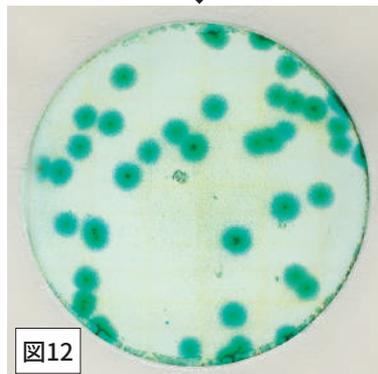
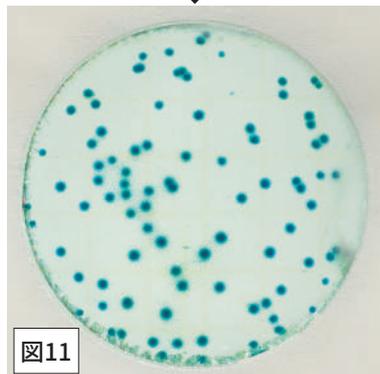


図11

図12

酵母数 = 90

カビ数 = 38

# TNTC (Too Numerous to Count : 測定不能多数)

より正確に測定するには、検体をさらに希釈します。

## 酵素反応

食品検体によっては本プレート上で、酵素による発色反応が生じる場合があります。(発酵食品で多く見られます。)

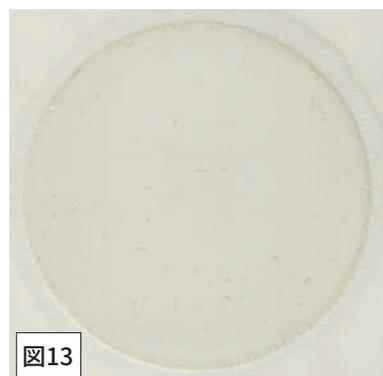


図13

酵母・カビ数 = 0  
(生育なし)

酵素反応のない本プレート。

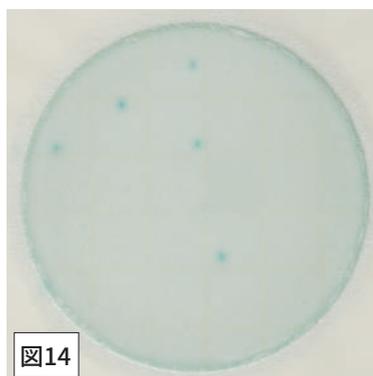


図14

酵母数 = 5  
カビ数 = 0

均一な青色の背景色は、判定の妨げにはなりません。

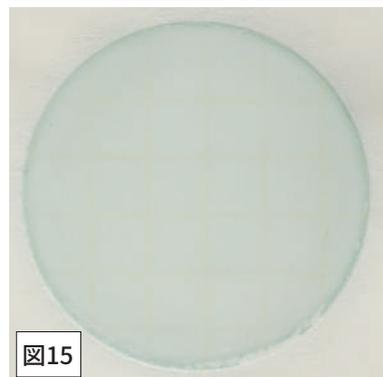


図15

酵母・カビ数 = 0  
(生育なし)

背景全体が均一な青色になる場合は、測定不能多数 (TNTC) と測定しないようにしてください。

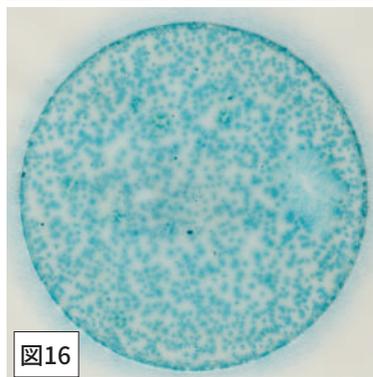


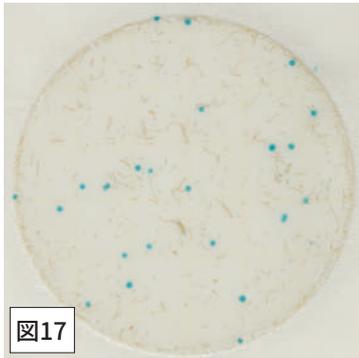
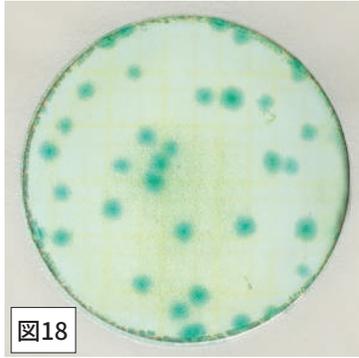
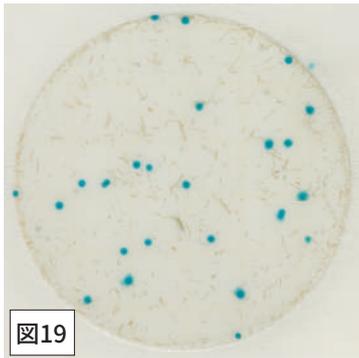
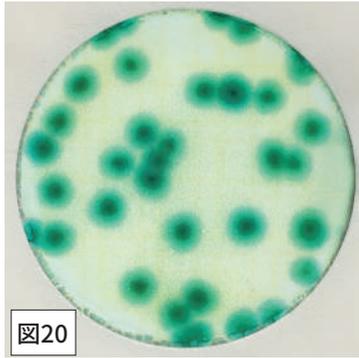
図16

酵母・カビ数 =  
測定不能多数 (TNTC)

酵素を多量に含む食品は、背景色が均一な青色になることがあります。酵素反応が起きた場合でも、コロニーの生育は確認できます。

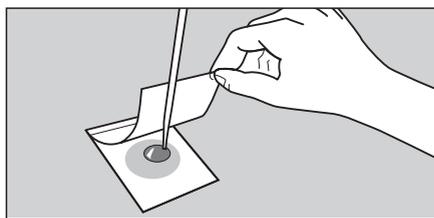
## 培養時間

コロニーがはっきりと確認できない場合は、培養時間をさらに12時間延ばすと判定しやすくなります。

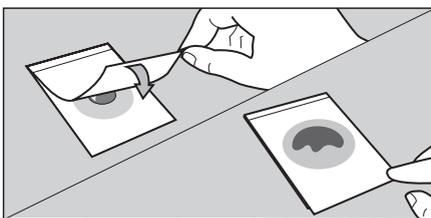
	酵母	カビ
48時間	 図17 酵母数 = 24	 図18 カビ数 = 34
60時間	 図19 酵母数 = 24	 図20 カビ数 = 38

## 使用上の注意事項

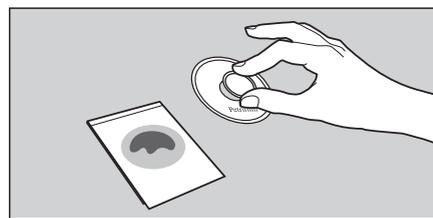
### 接種手順



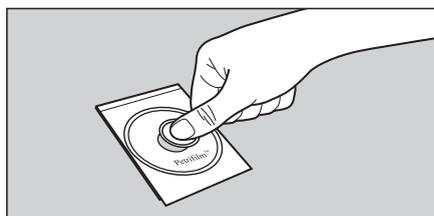
- 1** 本プレートを平らな台に置きます。上部のフィルムを持ち上げ、ピペットを垂直に保ち、検体1mLを下部フィルムの中央部に接種します。



- 2** 上部フィルムを検体の上におろします。

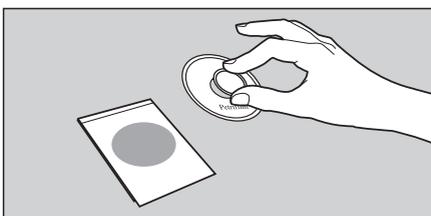


- 3** ペトリフィルム™フラットスプレッダー（以下「本スプレッダー」という）を本プレートの中央に置きます。



- 4** 本スプレッダーを本プレートの中央に置いた後、すぐに本スプレッダーの中心部をしっかりと押し、**検体を一度で素早く本プレート上に広げます。**

**注意：**本スプレッダーをゆっくり押し検体を広げたり、広げる途中で止めたりすると、本プレートに気泡が入ることがあります。検査結果には影響しません。

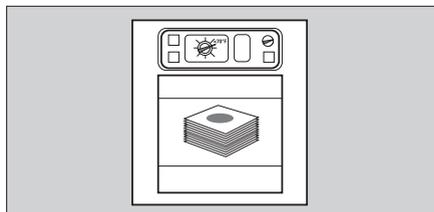


- 5** 本スプレッダーをはずし、本プレートをゲルが固化するまで最低1分間放置します。

### 適切な滅菌希釈液をご使用ください

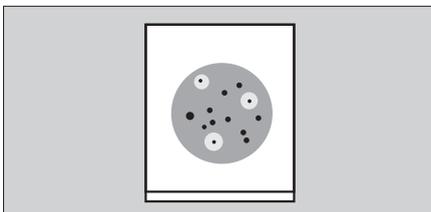
バターフィールドリン酸緩衝希釈液 (ISO 5541-1)、緩衝ペプトン水 (ISO)、0.1% ペプトン水、ペプトン塩希釈液、生理食塩水 (0.85~0.90%)、重亜硫酸塩無添加リージンプロスまたは蒸留水。**クエン酸塩、重亜硫酸塩またはチオ硫酸塩を含む希釈液は、菌の生育を阻害するので使用しないでください。**クエン酸塩緩衝剤が標準検査手順中に指定されている場合は、代わりに40~45°Cに加熱した0.1% ペプトン水を使用してください。

### 培養



- 6** 本プレートは、25±1°Cもしくは28±1°Cで48±2時間培養してください。透明フィルム側を上にして、水平な状態で40枚まで重ねて培養することが可能です。

### 判定



- 7** カビ・酵母の培養結果は48時間後に判定します。

### 保管



- 8** 開封したパウチを閉じるには、開口部を折り曲げて、粘着テープでしっかり止めます。湿気を避けるため、開封したパウチは冷蔵しないでください。開封後に再び密封したパウチは、涼しく乾燥した場所 (25°C以下/相対湿度60%以下) に保管し、保管期間は4週間以内としてください。

培養の時間や温度は方法によって異なります。  
最も一般的な方法を以下に示します。

#### AOAC Official Method (OMA)

2014.05 多種の食品および環境検体：25°Cまたは28°C、48±2～60時間

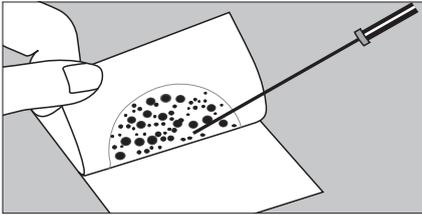
#### AFNOR

3M 01/13-07/14 全食品および動物飼料、環境検体：25°Cまたは28°C、60～72時間

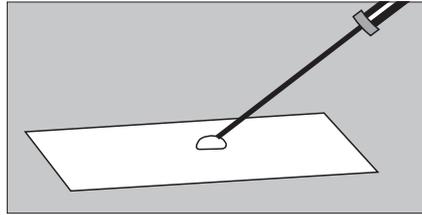
## 顕微鏡による見分け方

酵母やカビは非常に多様性のある微生物であるため肉眼では互いを見分けられないこともあります。顕微鏡検査により区別することができます。

### 観察の手順

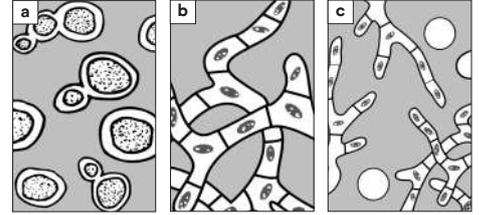


- 1 同定を行うためにコロニーを釣菌します。上部フィルムを持ち上げ、コロニーを釣菌します。



- 2 顕微鏡のスライドガラスの上に滅菌水を1滴用意し、針先に付着したコロニーをその水滴の中に移します。カバーガラスを掛け、油浸レンズで観察し、カビ・酵母を確認します。(一般的には倍率40倍～400倍の観察が可能な生物顕微鏡が用いられます。)

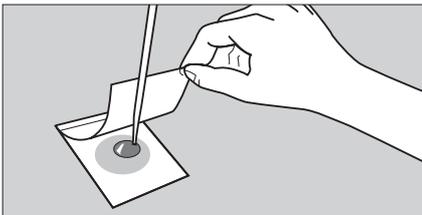
### 酵母の例 カビの例



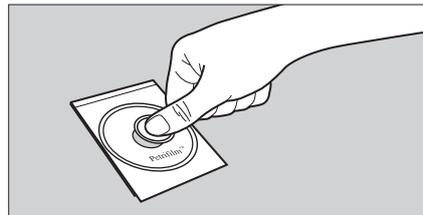
- a. 卵型で、時に発芽しているものは酵母です。
- b. 枝分かれしている糸状の繊維状細胞(菌糸体)はカビです。
- c. 様々な発芽段階にあるカビはこのような形状をしている場合もあります。

## 直接スタンプ法と空中落下細菌測定法

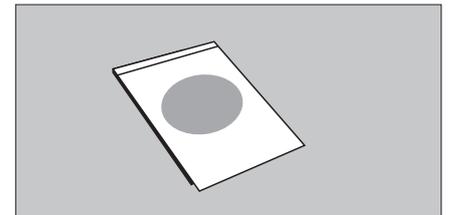
### 接種



- 1 平らな台の上に置き、上部のフィルムを持ち上げて、1mLの滅菌生理食塩水などを下部フィルム中心に接種します。

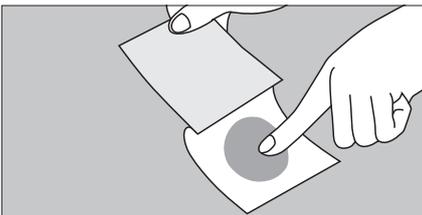


- 2 上部ファイルを被せてから、本スプレッダーを上から置き、検液が均一に広がるように軽く押します。



- 3 本スプレッダーを取り、ゲル化されるまで待ちます。ゲル化するまでの時間：1～2時間  
ゲル化した本プレートの有効保存期間：1日  
※密閉容器に入れて遮光2～8℃で冷蔵保存

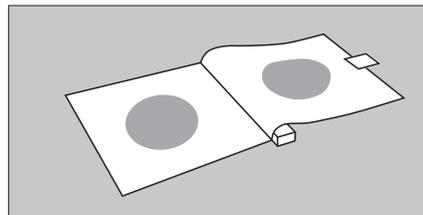
### A. 直接スタンプ法



#### 測定結果：コロニー数/30cm<sup>2</sup>中

- ①ゲル化した本プレートの上部フィルムを広げます。
- ②上部フィルムを調べたい表面につけ、もう一度フィルムを閉じた後、培養します。

### B. 空中落下細菌測定



#### 測定結果：コロニー数/60cm<sup>2</sup>中

- ①ゲル化した本プレートの上部ファイルを上げ、テープで上部フィルムを固定します。
- ②約15分間広げたまま放置し、もう一度フィルムを閉じた後、培養します。

使用者の責任：ペトリフィルム™ 培地の性能は、全ての微生物、培養条件、食品マトリクスについて評価されたわけではありません。

試験方法とその結果がお客様の必要条件を満たすかどうかの判断は、お客様ご自身の責任となります。本判定ガイドの複製が必要な場合、お客様の印刷設定が画像や色の質に影響する場合があります。