

# ペトリフィルム™ カビ・酵母測定用プレート (YMプレート)

## Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plate (YM Plate)

この解説書はペトリフィルム™ カビ・酵母測定用プレート（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。

本プレートでは酵母やカビのコロニーを容易に測定することができます。指示薬により酵母やカビのコロニーが着色されて、測定しやすくなっています。

本プレートに現れたコロニーが、酵母であるかカビであるかを区別するには、以下の特徴を参照してください。

### 酵 母

- 小型コロニー
- コロニーの縁が明確である
- 淡赤褐色から青緑の色調
- コロニーが盛り上がっている
- 通常コロニーの中心に芯（色の濃い中心点）が見られない

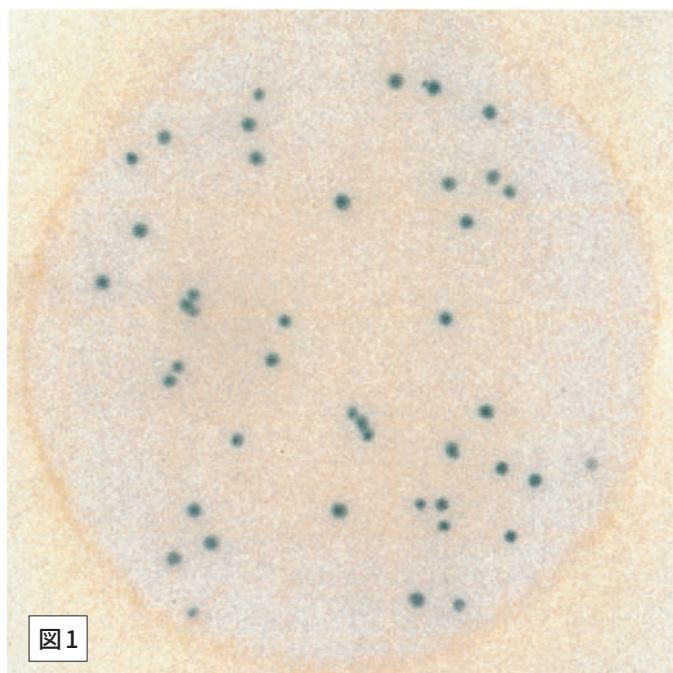


図1

酵母数 = 44

小型で青緑色、明確な縁があり、芯のないコロニーを酵母として測定します。

### カ ビ

- 大型コロニー
- コロニーの縁が不明確である
- 多彩な色
- 偏平なコロニー
- 通常コロニーの中心に芯が見られる

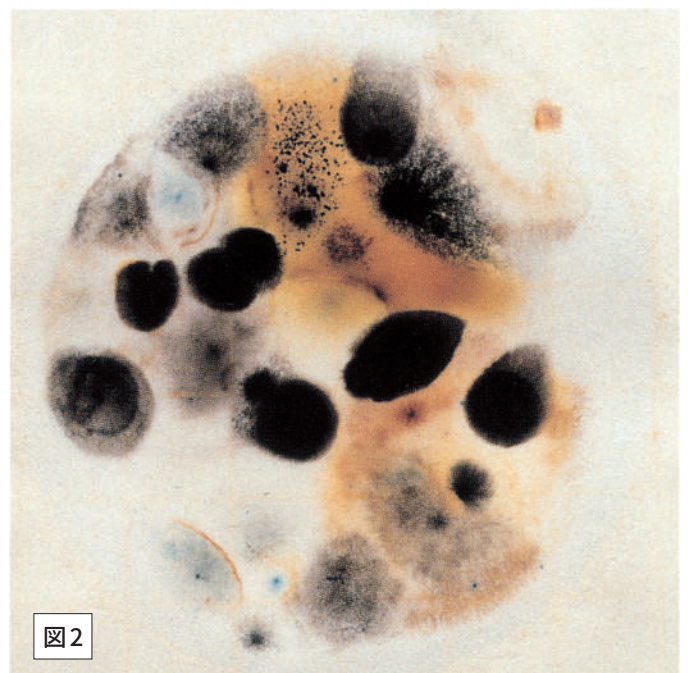


図2

カビ数 = 27

大型で多彩な色調をしており、縁が不明確で中心に芯が見られるコロニーをカビとして測定します。

## 酵母

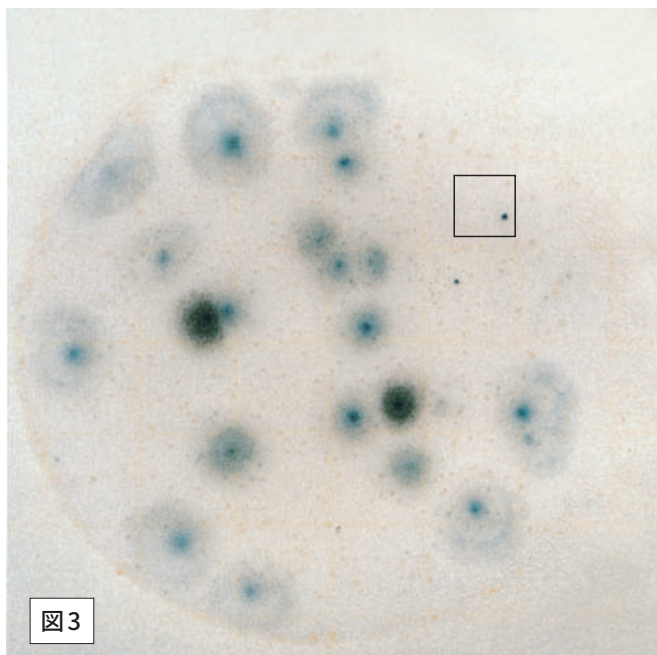


図3

**酵母の推定数 = 480、カビ数 = 21**

容易に測定できるカビ（大型、緑色で縁が不明確、中央に芯がみられる）と多くの酵母が見られます。酵母は小型で黄褐色、かつ明確な縁があり芯のないコロニーです。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総数とします。本プレートの接種面積は約30cm<sup>2</sup>です。

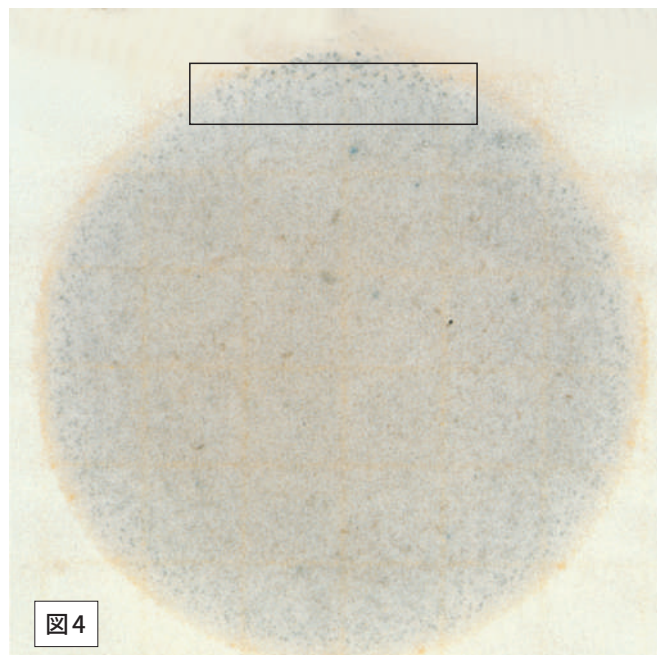


図4

**酵母数 = TNTC (推定酵母数 = 10<sup>4</sup>以上)**

数多くの（測定不能多数：TNTC）酵母があります。本プレート端の枠内にあ

る小型青色コロニーにより、カビのTNTCの場合と区別することができます。

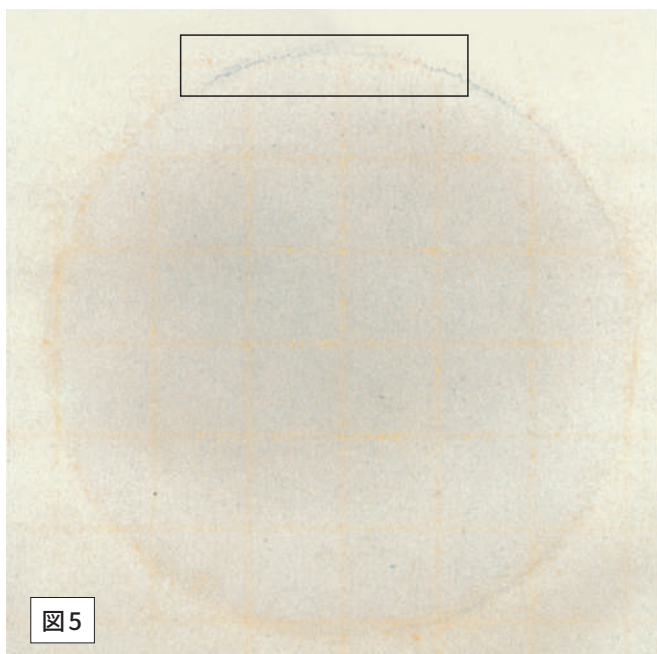


図5

**酵母数 = TNTC (推定酵母数 = 10<sup>5</sup>以上)**

多くの酵母の現れた本プレートでは、周辺部のみに青色のコロニーの増殖がみられることがあります。この場合も酵母の数はTNTCと記録してください。

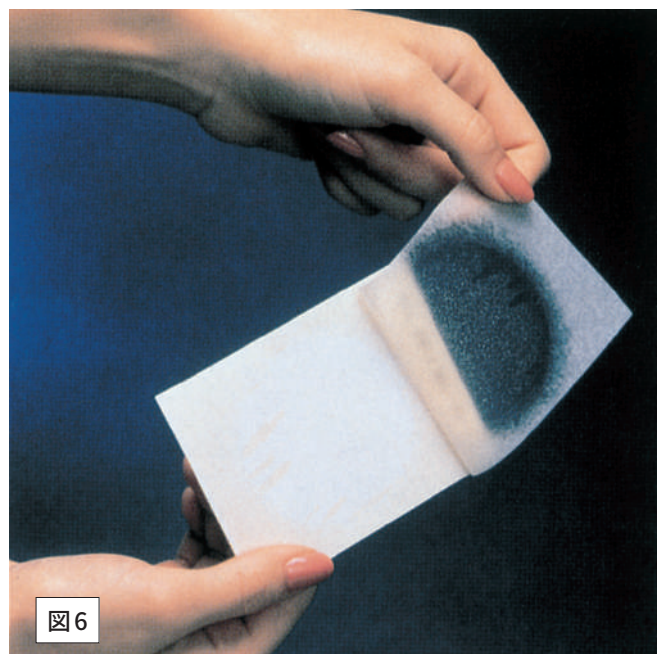


図6

**酵母数 = TNTC**

本プレートで何も増殖しなかったように見えた場合、上部フィルムを剥がし、ゲルを調べてください。酵母が多く存在している場合、ゲルに白色コロニーが見えます。この場合、酵母数はTNTCと記録してください。

## カビ

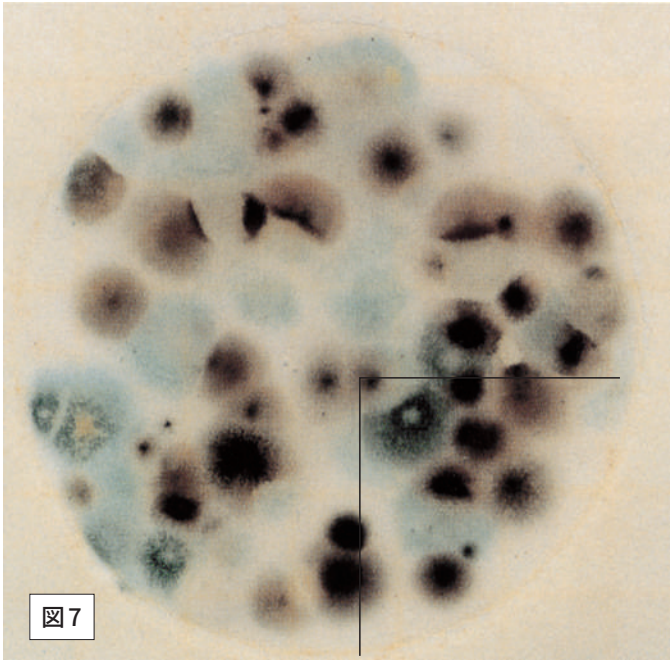


図7

カビ数 = 59

本プレートのカビのコロニーは多彩な色で、縁が不明確で、かつ中心に芯のあるコロニーです。コロニーは大型で、徐々に込み合い、胞子を形成し、本プレート上で重なり合い始めています。測定しやすくするためには本プレートをいくつかに分けて区画し、芯を探すことにより個々のコロニーを見分けます。図に示した区画には15のカビコロニーがあります。

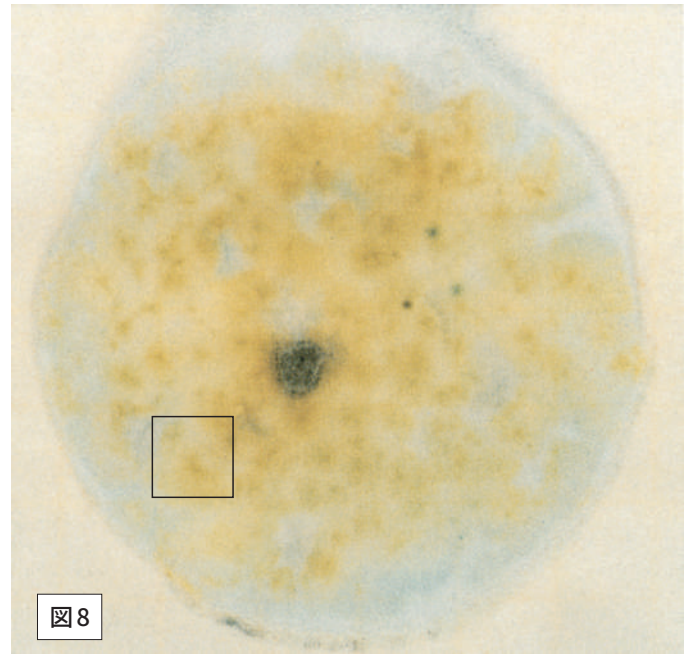


図8

推定カビ数 = 120

本プレートの多彩な色と曖昧な縁に注意してください。これらは多くのカビとそこで起こった胞子形成によるものです。芯を測定し、総数を推定してください。図に示した枠内の中には、4のカビのコロニーがあります。

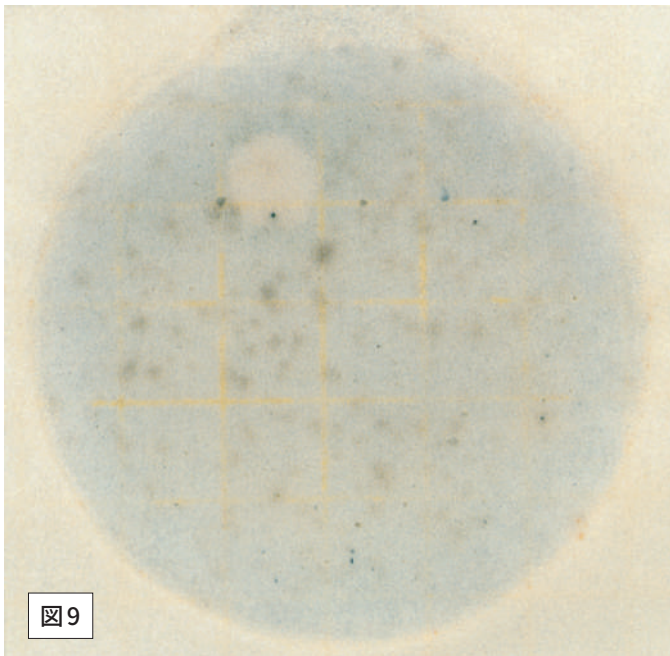


図9

カビ数 = TNTC

図9および図10の本プレートは同じ検体をそれぞれ10倍希釈、100倍希釈したものです。図9のコロニーは小型で、ぼやけており、数も多く推定数を求めるのも困難です。また人為的な気泡も入ってしまいます。

コロニー数が測定しやすい範囲（150コロニー以下）に入るように検体を希釈することにより、測定が容易になります。図10のカビは大型コロニーでその縁は不明確、かつ中心に芯があります。図9の本プレートのように菌数が多すぎた場合、カビの増殖が妨害されます。

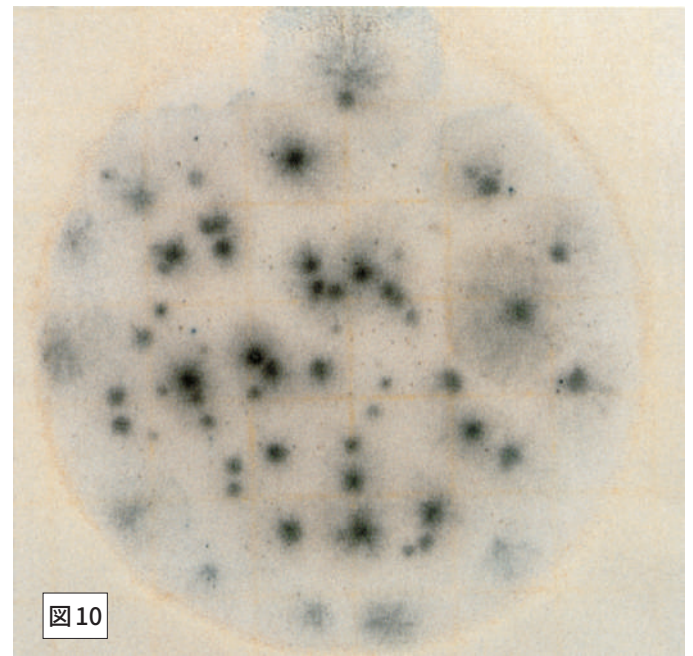


図10

カビ数 = 58

## フォスファターゼ反応

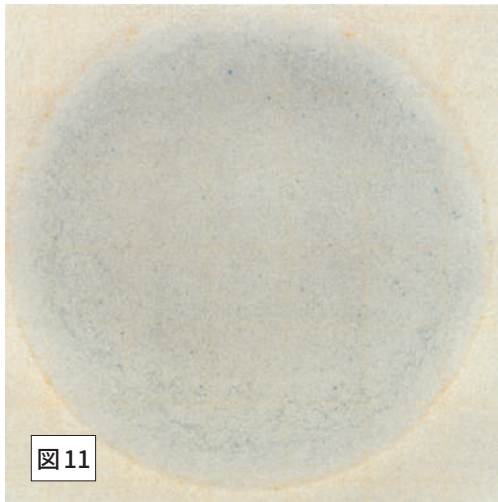


図11

### 酵母・カビ数 = 0

本プレートは検体中に存在していた「生体フォスファターゼ」により背景全体が均一な青色になります。酵母・カビ数がTNTCである場合と区別するためには、本プレートの縁を注意深く観察してください。

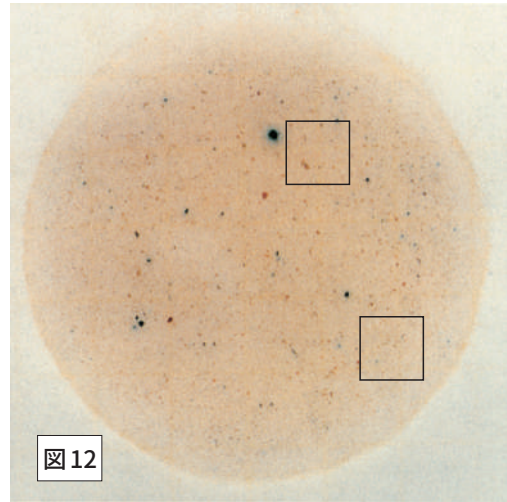


図12

### 酵母・カビ数 = 0

食品中の「生体フォスファターゼ」により起きたとみられる濃色の微小青色点反応の例です。形状—小型、針でつづいた点の様、あるいは不定型をしており、色調—濃青色で、ぼやけて見えたり、やや大型の微片の周縁を塗ったように見えることもある、ということに注意してください。

すべての生細胞にはフォスファターゼが含有されています。フォスファターゼの存在下では本プレート中の指示薬が活性化され、酵母やカビのコロニーは青色に着色されます。

未加工の食品や加工済み食品のうち生細胞を含有する（すなわちフォスファターゼを含有する）ものによっても、この青色反応が起こることがあります。食品により起こる発色反応としては以下の2タイプのものがみられることがあります。背景全体が均一な青色になるタイプと、濃色の微小な青色点がみられるタイプ（香辛料や顆粒状の食品と共にみられることがあります）です。

食品中の生体フォスファターゼにより引き起こされるこの発色反応は、以下の方法により酵母やカビのコロニーと区別することができます。

1. **希釈**：可能ならばさらに希釈することにより、背景全体の青色を除去したり微小青色点の数を減少させることができます。
2. **本プレートに上清を接種する**：食品サンプルを攪拌した後3～5分静置し、微小な濃青色点反応を起こす可能性のある食品固形物のうち大きなものが沈んで除去されるのを待ってから接種します。
3. **培養温度**：適正温度（20～25℃）でプレートを培養してください。酵素（フォスファターゼ）反応は温度の上昇に伴い、急速に起こるようになります。
4. **観察と記録**：本プレートを培養後24～48時間に観察してください。食品による色調変化は24～48時間以内にも起こります。見られた色調変化を記録し、最終的な結果をみるときに参考にしてください。

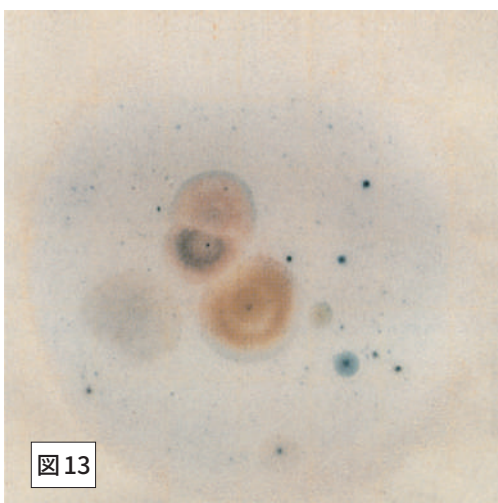


図13

### 酵母数 = 7 カビ数 = 7

微小点は非常に明るく、小さく、不規則な形をしています。酵母のコロニーは小型で青緑色をしており、また明確な縁があります。カビのコロニーは大型で多彩な色をしており、縁は不明確で中心に芯があります。

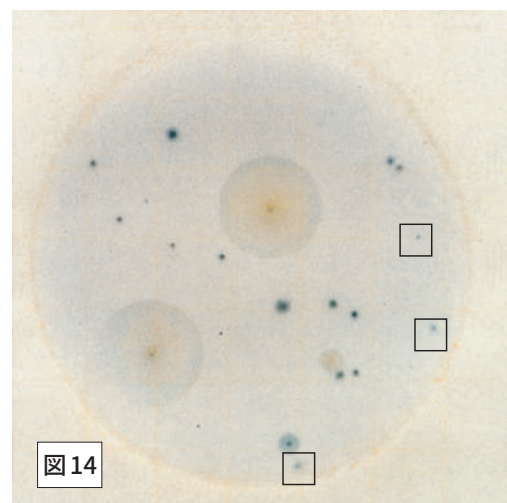


図14

### 酵母数 = 12 カビ数 = 4

図14は図13に示したものと同一サンプルで、接種前に3分～5分ほどサンプルの微片が沈むのを待ってから本プレートに接種したものです。

## 培養時間および温度

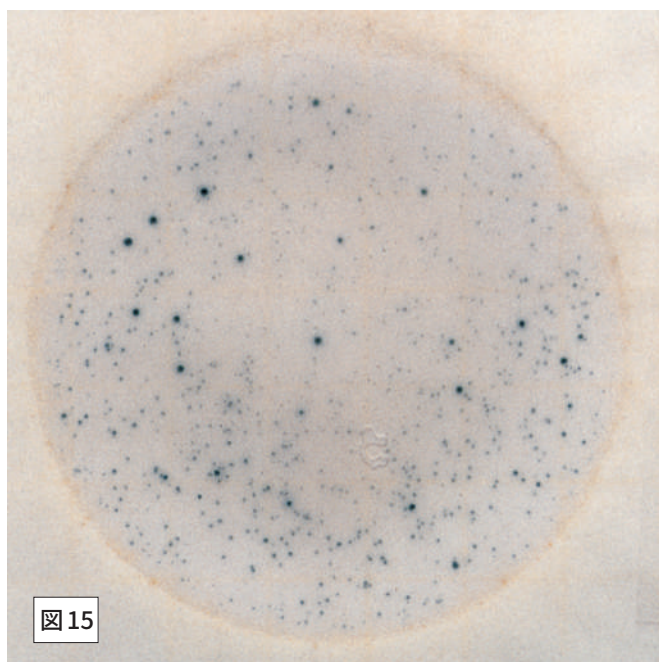


図 15

酵母数 = TNTC

35°Cで3日間培養

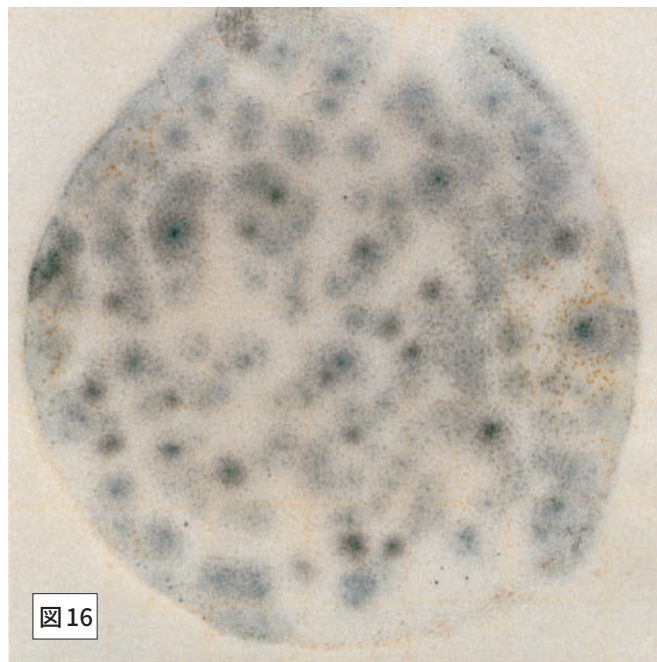


図 16

酵母数 = TNTC (酵母の推定数 =  $10^7$ ) カビの推定数 = 120

室温で5日間培養

腐敗を起こすような種類の酵母やカビを確実に生育させるためには、適正な培養時間と温度が重要です。これらの酵母やカビは用いる方法には関わらず、増殖が遅く、高温に弱いものが一般的です。

酵母やカビを確実に増殖させるためには本プレートを20~25°Cで培養し、3日目と5日目に本プレート上のカビ・酵母の生育を確認してください。カビのコロニーはフィルムとフィルムの間が増殖するため、本プレートで調べることにより胞子がとんだり、その結果としてコロニーが増えるようなことはありません。

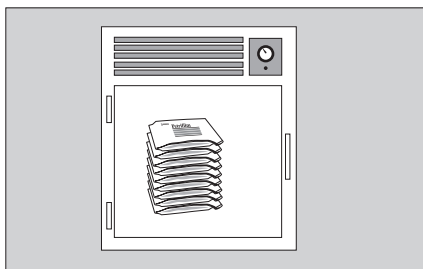
高温で本プレートを培養することにより結果が早く分かる、ということはありません。むしろ図15および図16に示した本プレートのように、不正確な結果がでることになります。図15および図16は同じ希釈倍率の同じサンプルから作った本プレートですが、異なった温度で異なった時間培養したものです。

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。

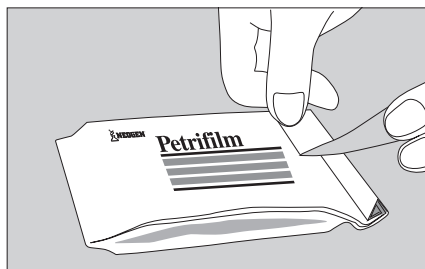
AOAC Official Method (OMA)  
997.02 全食品：20～25°C、5日

## 使用上の注意事項

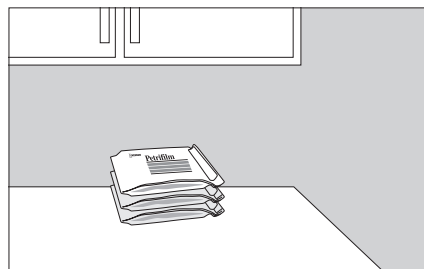
### 保管



- 1** 未開封のパウチは8℃以下で保管してください。  
有効期限内に使用してください。  
有効期限はパウチ裏面に印字されています。

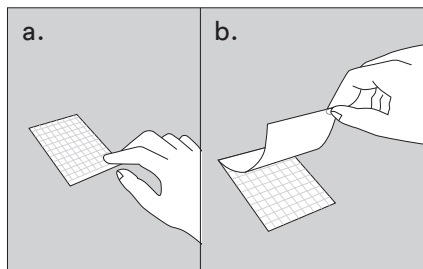


- 2** 開封後は、開口部を折り、粘着テープでシールしてください。

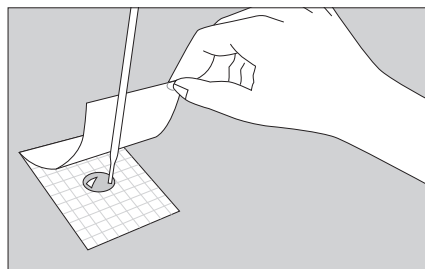


- 3** 開封後は室温（25℃以下/相対湿度50%以下）で保管してください。  
開封したパウチは冷蔵しないでください。  
また開封後は1ヶ月以内に使い切ってください。

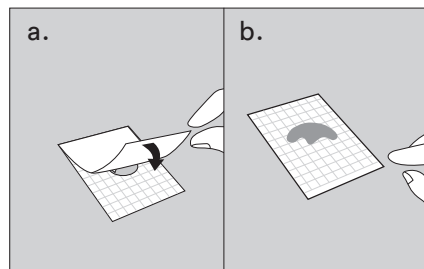
### 使用手順



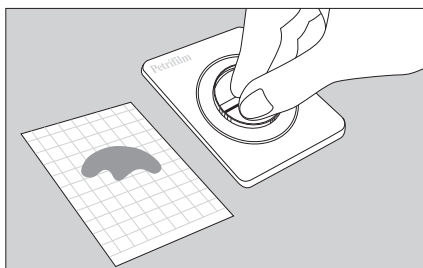
- 4** 平らな台の上に本プレート置きませ。



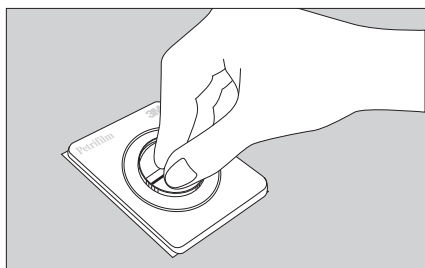
- 5** 上部フィルムを持ち上げて1mLの検体を下部フィルムの中心に接種します。



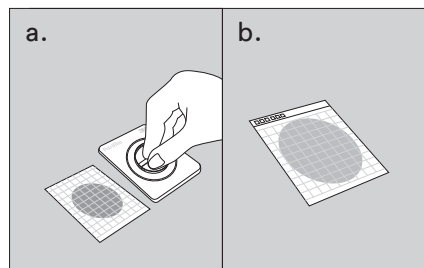
- 6** 上部フィルムから手を離し、フィルムを自然に落とします。



- 7** 専用スプレッダーをフィルムの上から置きます。

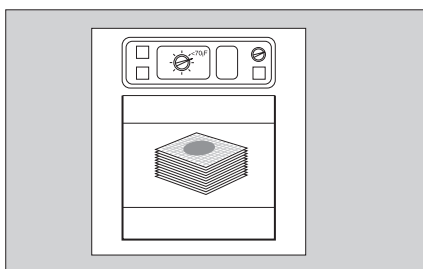


- 8** 上から軽く押し、検体を均一に広げます。  
専用スプレッダーをひねったり、すべらせないでください。



- 9** 専用スプレッダーをとり、1分間ゲル化されるまで待ちます。

### 培養



- 10** 上部フィルムを上にして、水平に置き、20～25℃で3～5日培養します。20枚まで重ねて培養できます。

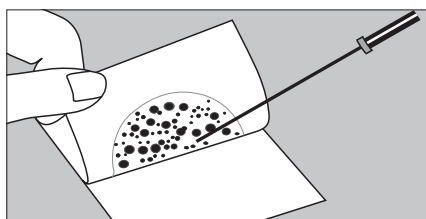
### 注意

チオ硫酸又はクエン酸の入った緩衝液は使用しないでください。

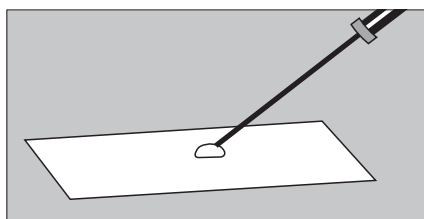
## 顕微鏡による見分け方

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

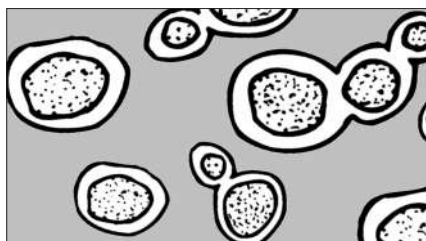


- 1 同定を行うためにコロニーを釣菌します。上部フィルムを持ち上げ、コロニーを釣菌します。



- 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



卵型で、時に発芽しているものは酵母です。

### カビの例



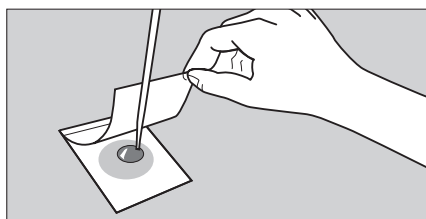
枝分かれしている糸状の繊維状細胞(菌糸体)はカビです。



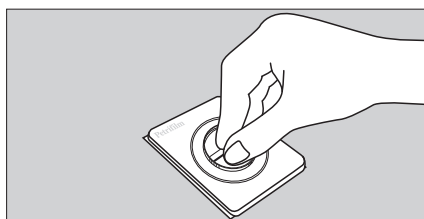
様々な発芽段階にあるカビはこのような形状をしている場合もあります。

## 直接スタンプ法と空中落下細菌測定法

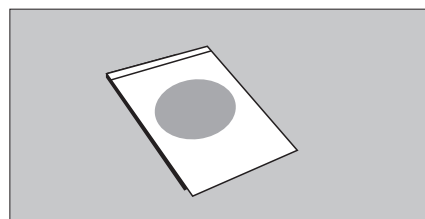
### 接種



- 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。

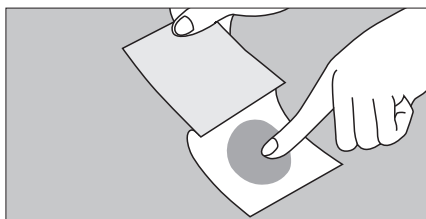


- 2 上部フィルムを被せてから、専用スプレッダーを上から置き、検液が均一に広がるように軽く押します。



- 3 専用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週間  
※密閉容器に入れて遮光2～8℃で冷蔵保存

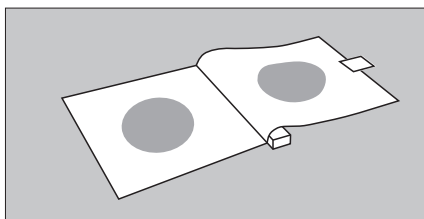
### A. 直接スタンプ法



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ィルムを広げ、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。

NEOGEN、ペトリフィルム、Petrifilmは、Neogen社の商標です。

**ネोजェンジャパン株式会社**

<https://www.neogen.jp/>

NEO-033-A(0524)e.

Please Recycle. Printed in Japan.  
© Neogen Corporation. All rights reserved.