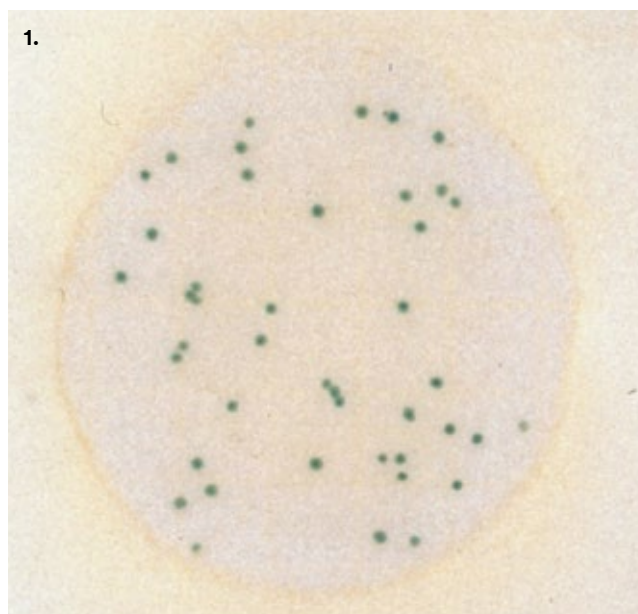


## Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)



Oznaczanie liczby kolonii drożdży i pleśni nigdy nie było tak łatwe. Specjalnie dobrany wskaźnik wybarwia kolonie drożdży i pleśni, co zwiększa ich kontrastowość i ułatwia liczenie.

Aby odróżnić kolonie drożdży i pleśni na płytkach Petrifilm, należy szukać przynajmniej jednej lub kilku spośród cech charakterystycznych:

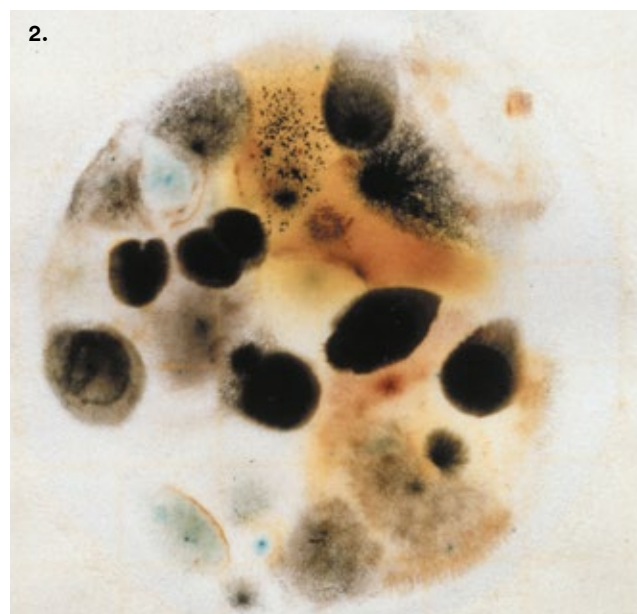


Liczba kolonii drożdży = 44

### DROŻDŻE

- Małe kolonie
- Kolonia ma wyraźne granice
- Kolor różowo-brązowy do niebiesko-zielonego
- Kolonia może wydawać się wypukła („3D”)
- Zazwyczaj bez ogniska (ciemnego centrum) pośrodku kolonii

Kolonie na zdjęciu 1. są charakterystyczne dla kolonii drożdży: małe, zielono-niebieskie kolonie, o wyraźnych brzegach i bez ogniska centralnego.  
(Liczba drożdży = 44)



Liczba kolonii pleśni = 27

### PLEŚŃ

- Duże kolonie
- Kolonie mają niewyraźne brzegi
- Różne kolory (pleśń może produkować własne pigmenty)
- Kolonie wydają się płaskie
- Zazwyczaj ognisko w centrum kolonii

Kolonie na zdjęciu 2. są charakterystyczne dla kolonii pleśni: duże, różnokolorowe kolonie, z rozmytymi brzegami i ogniskiem centralnym.  
(Liczba pleśni = 27)

## Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)

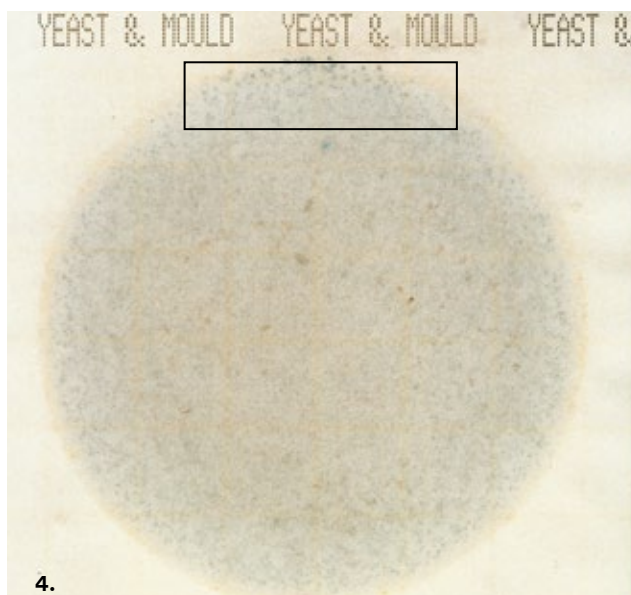
### Drożdże

Należy ustalić średnią liczbę kolonii na kwadrat ( $1\text{ cm}^2$ ) i pomnożyć tę liczbę przez 30 w celu uzyskania całkowitej liczby kolonii na płytce. Powierzchnia posiewowa płytki wynosi około  $30\text{ cm}^2$ .



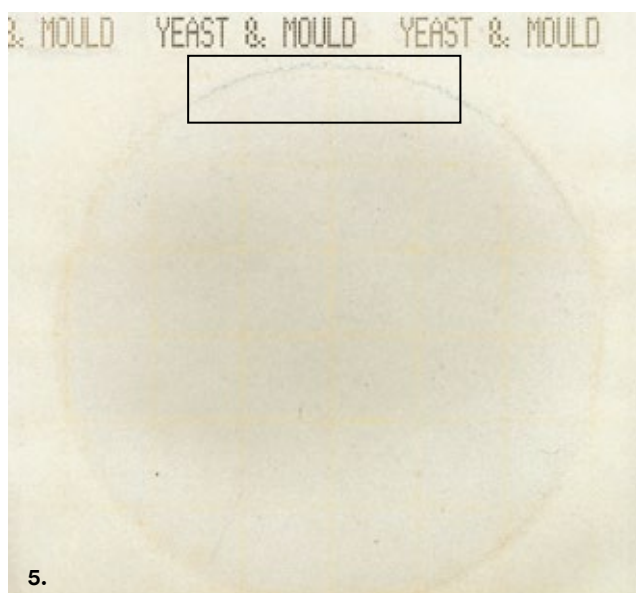
Liczba drożdży = 480 (szacunkowo); Liczba pleśni = 21

Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni na zdjęciu 3 zawierają łatwe do policzenia kolonie pleśni (duże, zielone kolonie z rozmytymi brzegami i ogniskiem) oraz dużą liczbę kolonii drożdży. Kolonie drożdży są małe, jasnobrązowe z wyraźnymi brzegami i bez ogniska. Kiedy liczba kolonii przekracza 150, należy oszacować wynik. (Liczba drożdży = 480 (szacunkowo); Liczba pleśni = 21).



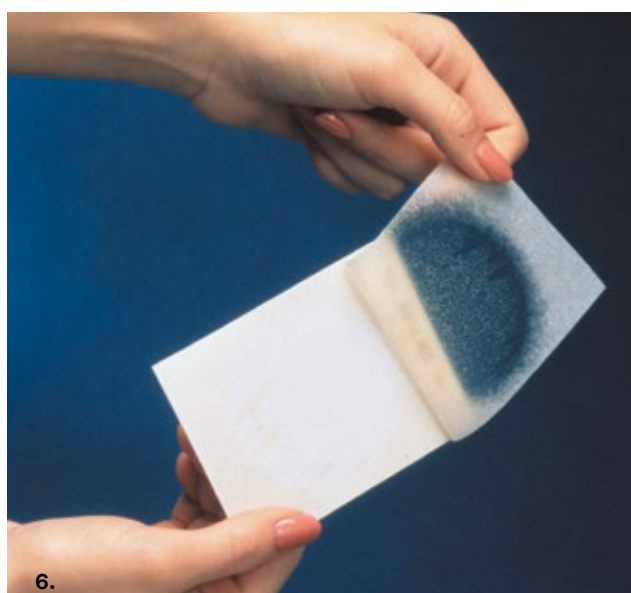
Liczba drożdży = NP (rzeczywisty pomiar  $<10^4$ )

Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni na zdjęciu 4 zawiera dużą liczbę kolonii - ich liczba jest niepoliczalna (NP). Małe, niebieskie kolonie zarysowane na brzegach płytki pozwalają odróżnić taką płytkę od płytki zawierającej niepoliczalną liczbę kolonii pleśni. (Liczba drożdży = NP, rzeczywisty pomiar  $>10^4$ ).



Liczba drożdży = NP (rzeczywisty pomiar  $<10^6$ )

Zdarza się również, że płytka z bardzo dużą liczbą kolonii barwi się tylko na swoich brzegach (zdjęcie 5). Wynik ten jest również traktowany jako niepoliczalny (Liczba drożdży = NP, rzeczywisty pomiar  $>10^6$ ).

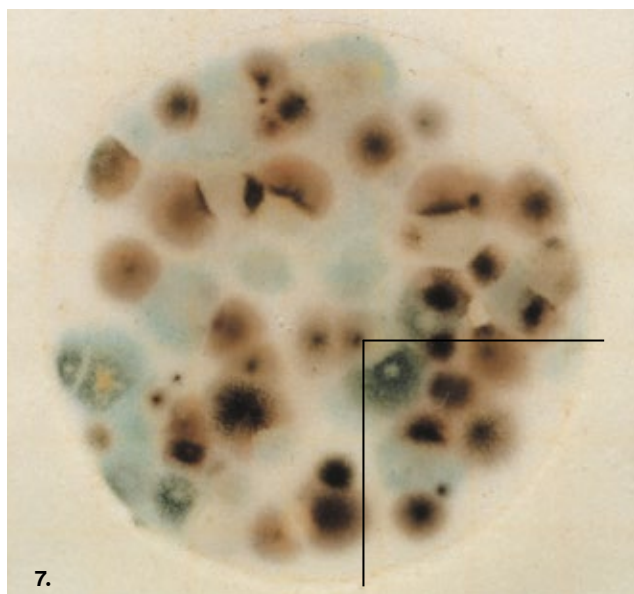


Liczba drożdży = NP

Jeśli płytka wygląda tak jakby nie było na niej żadnych kolonii, należy podnieść górną folię i sprawdzić żel przylegający do górnej folii (zdjęcie 6). Jeśli znajdują się na niej liczne drożdże, na żelu widoczne będą białe kolonie. Taki obraz oznacza, że płytka zawiera niepoliczalną liczbę drożdży (Liczba drożdży = NP).

## Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)

### Pleśnie



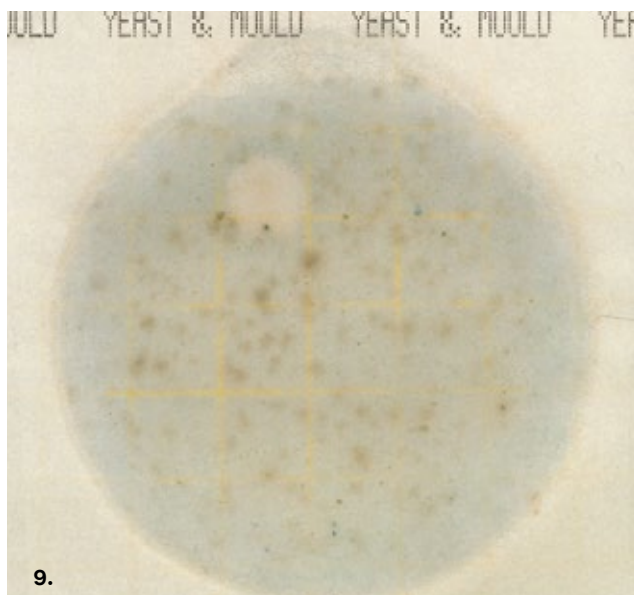
Liczba pleśni = 59

Kolonie pleśni na płytce 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni jak widać na zdjęciu 7 są różnokolorowe, z rozmytymi brzegami i ogniskiem centralnym. Są duże, rosną jedna obok drugiej, produkują spory i nakładają się na siebie. Celem ułatwienia zliczania kolonii należy podzielić płytkę na sekcje i szukać ognisk centralnych, co umożliwi odróżnienie poszczególnych kolonii. Na zaznaczonym polu znajduje się 15 kolonii pleśni (Liczba kolonii pleśni = 59).



Liczba pleśni = 120 (szacunkowo)

Proszę zwrócić uwagę na różnorodną pigmentację i rozmyte brzegi kolonii na płytce na zdjęciu 8, spowodowane dużą liczbą kolonii pleśni i rozpoczętą produkcją sporów. Należy oszacować liczbę kolonii poprzez zliczenie ognisk. W zaznaczonym kwadracie znajdują się 4 kolonie. (Liczba pleśni = 120, szacunkowo).



Liczba pleśni = NP

Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni przedstawione na zdjęciach 9 i 10 zawierają odpowiednio rozcieńczenia 1: 10 i 1: 100 tego samego produktu. Kolonie na zdjęciu 9 są małe, blade i liczne, co sprawia, że oszacowanie ich liczby jest trudne. Widoczny jest też nieprawidłowy pęcherzyk. (Liczba pleśni = NP)



Liczba pleśni = 58

Rozcieńczenie produktu w celu uzyskania prawidłowego zakresu liczenia kolonii (15-150 kolonii) sprawia, że liczenie jest łatwe. Kolonie pleśni na zdjęciu 10 są duże, z rozmytymi brzegami i ogniskiem centralnym (Liczba pleśni=58). Zbyt duża liczba kolonii na płytce na zdjęciu 9 uniemożliwiła ich normalny wzrost.



# Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)

## Reakcja z fosfatazą

Wszystkie żywe komórki zawierają enzym o nazwie fosfataza. W wyniku działania fosfatazy wskaźnik na płytkach 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni aktywuje się barwiąc kolonie drożdży i pleśni na niebiesko.

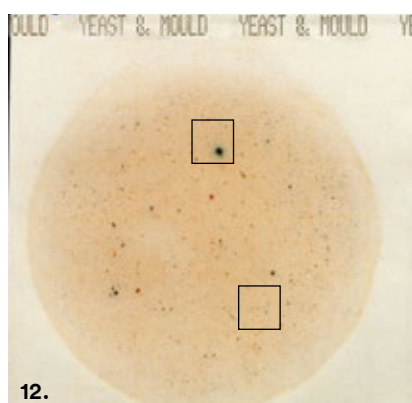
Niektóre spośród surowych i przetwarzanych produktów mogą zawierać żywe komórki (a zatem i fosfatazę), co może prowadzić do zajścia reakcji i powstania niebieskiego barwnika. W takim przypadku możliwe do zaobserwowania są dwa sposoby rozłożenia barwnika: jednolity niebieski kolor tła lub intensywne, zagęszczone niebieskie punkty (często obserwowane w przypadku badania przypraw lub produktów granulowanych).

Reakcję barwnikową wywołowaną przez naturalną fosfatazę zawartą w produkcie można odróżnić od kolonii pleśni i drożdży przy użyciu następujących sposobów:

- 1. Rozcieńczenie:** jeśli to możliwe, należy bardziej rozcieńczyć próbkę, co powinno zredukować niebieski kolor tła, bądź ilość niebieskich punktów.
- 2. Długie strącanie:** wymieszać próbkę i odczekać 3-5 minut, aby wyeliminować duże cząstki produktów, które często powodują pojawienie się niebieskich punktów.
- 3. Temperatura inkubacji:** inkubować płytki we właściwej temperaturze 20-25°C. Reakcje katalizowane przez enzym fosfatazę zachodzą szybciej wraz ze wzrostem temperatury.
- 4. Sprawdzenie i zapisanie:** należy sprawdzić płytki Petrifilm do oznaczania drożdży i pleśni po 24-48 godzinach inkubacji. Zmiana koloru może pojawić się w ciągu 24-48 godzin. Zanotować każdy zaobserwowany kolor, aby wspomóc ostateczną interpretację.



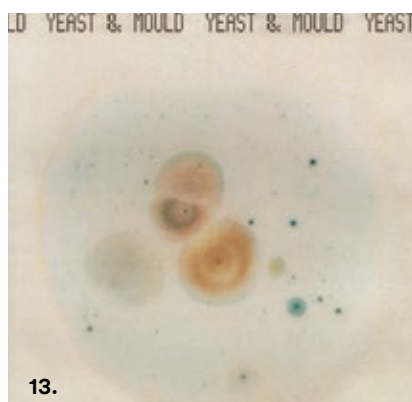
Liczba drożdży i pleśni = 0



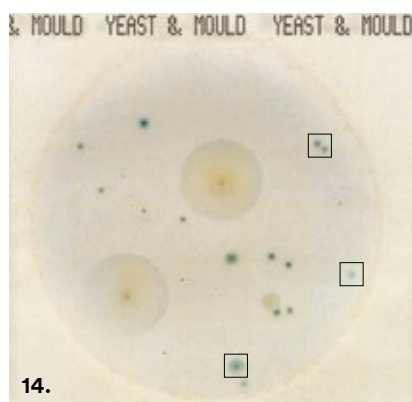
Liczba drożdży i pleśni = 0

Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni na zdjęciu 11 jest przykładem płytki o jednolitym niebieskim tle powstałym w wyniku działania „naturalnej fosfatazy” obecnej w testowanej próbce. Z kolei za „ziarnisty” wygląd odpowiada obecność cząstek produktu w posianym roztworze. Celem łatwiejszego odróżnienia tej sytuacji od niepoliczalnej liczby drożdży czy pleśni, należy dodatkowo zwrócić uwagę na brzegi płytki (Liczba drożdży i pleśni = 0).

Płytki na zdjęciu 12 jest przykładem intensywnej, punktowej reakcji wywołanej „naturalną fosfatazą” w niektórych produktach spożywczych. Warto zwrócić uwagę na ich KSZTAŁT - drobnutki punkciki lub nieregularne kształty oraz KOLOR - ciemnoniebieski, który czasem wydaje się wyblakły lub rozmazany na brzegach niektórych większych cząstek (Liczba drożdży i pleśni = 0).



Liczba drożdży = 7; Liczba pleśni = 7



Liczba drożdży = 12; Liczba pleśni = 4

Innym przykładem intensywnych, niebieskich punktów wywołanych reakcją jest obraz przedstawiony na zdjęciu 13. Niespecyficzne punkty są bardzo jasne, drobne i nieregularne. Natomiast kolonie drożdży są małe, niebieskozielone, o wyraźnych kształtach. Kolonie pleśni są duże, różnokolorowe, z rozmytymi brzegami i ogniskiem w środku (Liczba drożdży = 7; Liczba pleśni = 7).

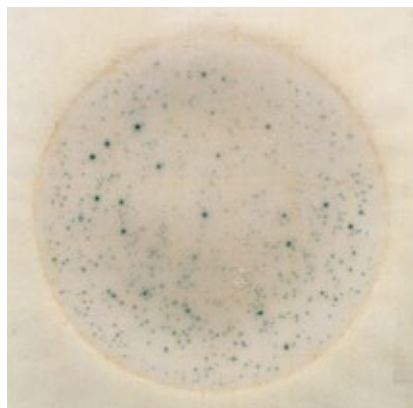
Płytki na zdjęciu 14 zawiera ten sam produkt, co widoczny na zdjęciu 13, jednakże został on wysiany na płytkę po 3-5 minutowym uprzednim strąceniu. Wciąż widocznych jest kilka punktów (w zaznaczonych kwadratach) będących drobinami produktu, ale większość interferencji produktu została wyeliminowana (Liczba drożdży = 12; Liczba pleśni = 4).

# Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)

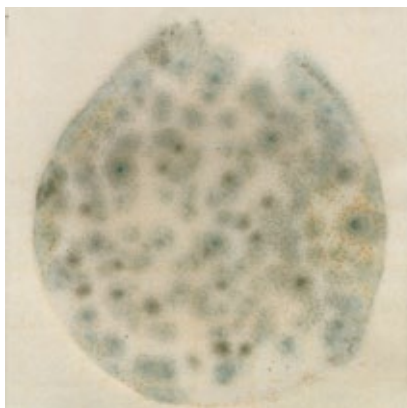
## Czas i temperatura

Odpowiedni CZAS i TEMPERATURA inkubacji są ważne dla zapewnienia właściwych warunków dla rozwoju tych typów drożdży i pleśni, które odpowiedzialne są za psucie się żywności. Pleśnie i drożdże, o których mowa rozwijają się zazwyczaj wolno i są wrażliwe na wysokie temperatury, bez względu na zastosowaną metodę.

Aby zapewnić optymalny rozwój, należy inkubować płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni w temperaturze 20-25°C (temperatura pokojowa) i sprawdzać płytki po 3 i 5 dniach. Mimo, iż kolonie pleśni rosną pomiędzy foliami, sprawdzanie płytek jest bezpieczne i nie spowoduje zaburzenia wyników.



Liczba drożdży = NP  
Inkubowano 3 dni w temperaturze 35°C

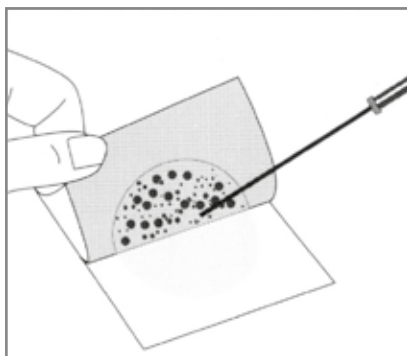


Liczba drożdży = NP (dokładnie  $>10^7$ )  
Liczba pleśni = 120 (szacowana)  
Inkubowano 5 dni w temperaturze pokojowej.

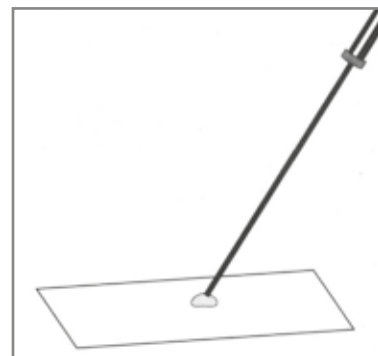
Inkubacja płytki z drożdżami i pleśnią w wyższej temperaturze nie koniecznie przyspieszy uzyskanie wyników - może natomiast przyczynić się do uzyskania niedokładnych wyników, jak pokazano na przykładzie płytek do oznaczania drożdży i pleśni na zdjęciach 15 i 16. Są to duplikaty tego samego produktu i rozcieńczenia, ale były inkubowane przez różny okres czasu i w różnych temperaturach.

## Identyfikacja pod mikroskopem

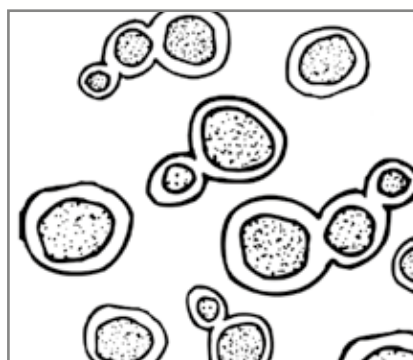
Drożdże i pleśnie to bardzo różnorodne organizmy i nie zawsze możliwe jest ich rozróżnienie w skali makroskopowej. Jak przy każdej metodzie, rozróżnić je można za pomocą oceny mikroskopowej.



Celem izolacji pojedynczej kolonii do dalszej identyfikacji należy podnieść górną folię i przenieść kolonię z żelu.



Przenieść kolonię do kropli jałowej wody na szkiełko mikroskopowe, przykryć szkiełkiem nakrywkowym i obejrzyć przy użyciu obiektywu olejowego.



Należy szukać owalnych, pączkujących DROŻDŻY



Rozgałęziających się, nitkowatych grzybni PLEŚNI

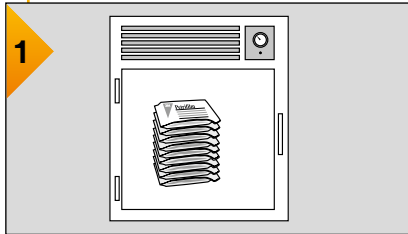


lub PLEŚNI w różnych stadiach rozwoju.

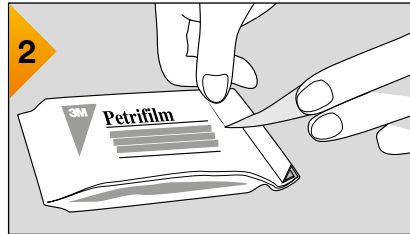
## Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni (YM)

Szczegóły dotyczące OSTRZEŻEŃ, GWARANCJI/OGRANICZEŃ GWARANCJI; OGRANICZENIA ODPOWIEDZIALNOŚCI 3M, PRZECHOWYWANIA I UTYLIZACJI ORAZ INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA znajdują się w ulotce dotyczącej produktu.

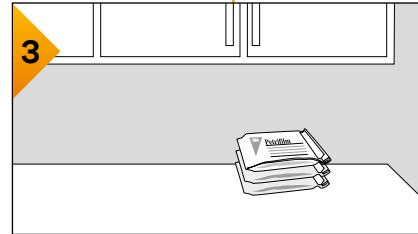
### Przechowywanie



Przechowywać zamknięte opakowania w lodówce w temperaturze  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Nie używać po upływie terminu ważności znajdującego się na opakowaniu.

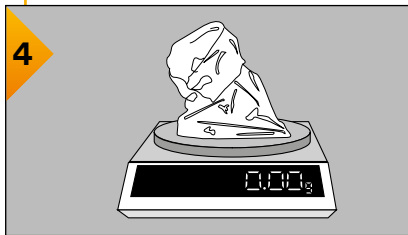


Aby uszczelnić otwarte opakowanie, należy zagiąć otwarty koniec i zakleić taśmą.

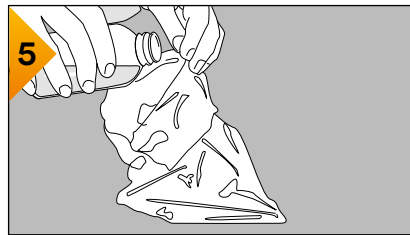


Otwarte opakowania przechowywać w temperaturze  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ), przy  $\leq 50\%$  wilgotności względnej. Nie przechowywać otwartych opakowań w lodówce. Płytki 3M™ Petrifilm™ należy zużyć w ciągu miesiąca od otwarcia.

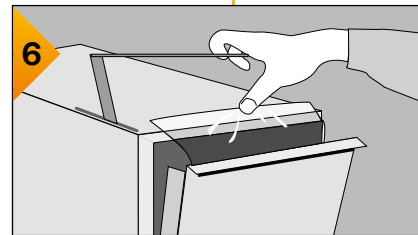
### Przygotowanie próbki



Przygotować roztwór produktu żywnościowego w stosunku 1:10 lub większym. Jeśli wymagana jest większa czułość dla przetworów mlecznych lub soków należy odnieść się do broszury osobnej broszury. Odważyć lub odmierzyć pipetą produkt żywnościowy do odpowiedniego pojemnika, np. worka do stomachera, kolby lub innego jałowego pojemnika.

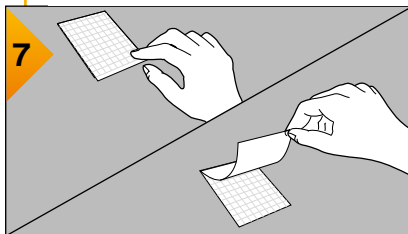


Dodać odpowiednią ilość rozcieńczalnika, zgodnie ze standardowymi metodami, mogą nim być: bufor fosforanowy, 0,1% woda peptonowa, woda destylowana, PBS, bufor Butterfielda. Nie stosować buforów zawierających cytryniany, dwusiarczyny, czy tiosiarczany.

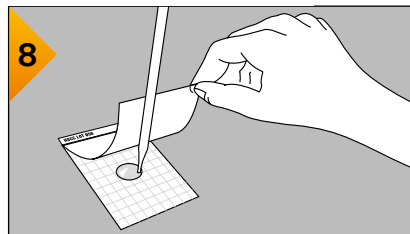


Wymieszać lub homogenizować próbkę zgodnie z aktualną procedurą.

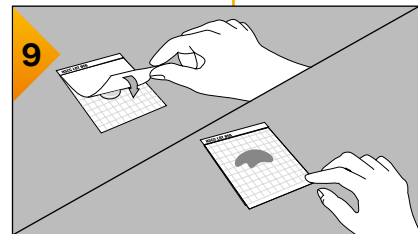
### Posiew



Umieścić płytkę na płaskiej powierzchni. Unieść górną folię.



Za pomocą pipety ustawionej prostopadle do płytki nanieść 1 ml próbki na środek spodniej warstwy.

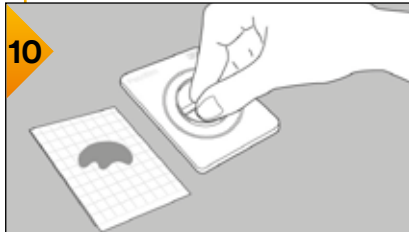


Opuścić górną folię; pozwolić jej opaść. Nie dociskać górnej warstwy.

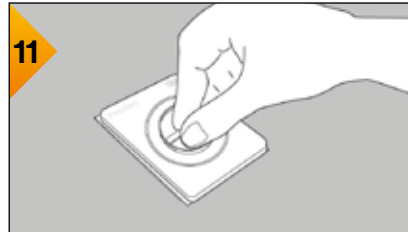
## Płytki 3M™ Petrifilm™ do oznaczania drożdży i pleśni



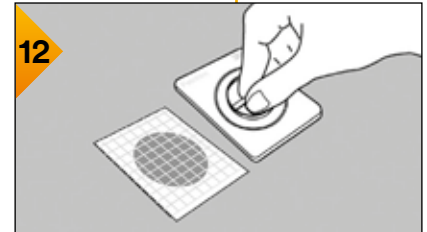
## Posiew



10 Trzymając głaszczkę za uchwyt, umieścić ją na płytce.

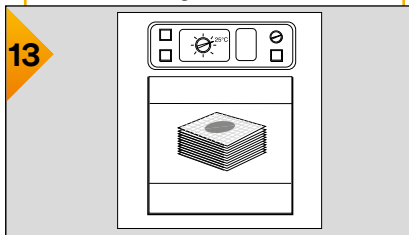


11 Nacisnąć głaszczkę, aby rozprowadzić posiew na okrągłym obszarze płytki. Nie kręcić, ani nie przesuwac głaszczki.



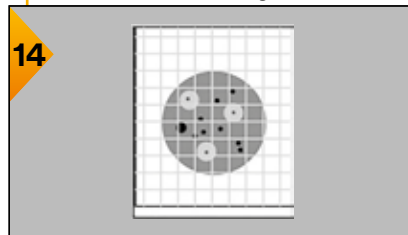
12 Unieść głaszczkę. Odczekać minutę, aby żel się zestalił.

## Inkubacja



13 Inkubować płytki przezroczystą stroną do góry w stosach nie więcej niż po 20 sztuk, w temperaturze 25°C przez 3-5 dni.

## Interpretacja wyników



14 Policzyć kolonie. Płytki 3M™ Petrifilm™ można zliczać standardowym licznikiem kolonii lub pod innym podświetlonym powiększeniem. Przy odczytywaniu wyników należy odnieść się do rozdziału Interpretacja wyników.

## Dodatkowe uwagi

- Uwaga: Przed przejściem do kolejnej płytki należy posiać próbkę i rozprowadzić posiew.
- Kroki 9 i 10 stosuje się tylko i wyłącznie do obliczania liczby drożdży i pleśni.
- Dla optymalnego rozwoju kolonii płytki zastąpić 3M™ Petrifilm™ należy inkubować w plastikowym pojemniku lub worku.



**3M Poland Sp. z o.o.**  
Dział Bezpieczeństwa Żywności  
Al. Katowicka 117  
05-830 Nadarzyn  
Tel. +48 22 739 60 00  
[3M.com/foodsafety](http://3M.com/foodsafety)

**Odpowiedzialność użytkownika:**

Płytki 3M™ Petrifilm™ nie zostały ocenione dla wszystkich kombinacji i matryc żywnościowych. To użytkownik jest odpowiedzialny za walidację metody w odniesieniu do badanej matrycy.

© 3M 2017. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
3M i Petrifilm są znakami handlowymi 3M Company.  
Należy podać recyklingowi.  
Wydrukowano w Polsce.