

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
1337-90**

**ALIMENTOS.
METODO PARA RECUENTO DE
MOHOS Y LEVADURAS.**

(1^{ra.} REVISION).



PROLOGO

La presente norma sustituye a la Norma Venezolana COVENIN 1337-78 Alimentos.
Método para recuento de hongos y levaduras.

TRAMITE

COMITE CT10: PRODUCTOS ALIMENTICIOS

PRESIDENTE: DRA. FANNY CARRILLO DE PADILLA

SECRETARIA: LIC. GISELA PADRON

SUBCOMITE: CT10/SC3: MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

COORDINADORA: LIC. GISELA PADRON

ASISTENTES

ENTIDAD

REPRESENTANTES

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL

DOUGLAS YANES
VICMAR DE PERNIA

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA

ARTURO TINED

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

MANUELA RIOS
MARIA LUISA NOVDA

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

MARIA DE VALLEJO

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE FARMACIA

PILAR HERNANDEZ

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

SILVIA MENDOZA

ASOCIACION DE INDUSTRIALES DE LA CARNE (AICAR)

MARINILDA PINEDO

ASOCIACION AMERICANA DE SOYA

JOSE FELIX CHAVEZ

FUNDACION CIEPE

EUMELIA GOMEZ
ISMENIA DE MENDEZ

BROLAB S.R.L.

OLGAMAR FRANCESCHI

INDULAC

ZULIA GRAFF

ALIVEN

MARIA PAEZ

DISCUSION PUBLICA

FECHA DE ENVIO: 24-04-90

DURACION: 45 DIAS

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 04-07-90

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 01-08-90

1 **NORMAS COVENIN A CONSULTAR**

COVENIN	902-87	Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri.
COVENIN	1126-89	Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico

2 **OBJETO Y CAMPO DE APLICACION**

Esta Norma Venezolana contempla el método de ensayo para el recuento de mohos y levaduras en alimentos, mediante la utilización de placas de Petri y un medio de cultivo apropiado.

3 **PRINCIPIO DE ENSAYO**

El método consiste en mezclar un volumen dado de una muestra representativa y homogénea del alimento a analizar o de diluciones de la misma, con un medio de cultivo en placas de Petri. Después del período de incubación se determina el número de unidades formadoras de colonias (ufc) mediante un contador de colonias.

4 **EQUIPO E INSTRUMENTOS**

- 4.1 Equipo para la preparación de muestras (según Norma Venezolana COVENIN 1126)
- 4.2 Contador de colonias
- 4.3 Equipo para realizar filtración por membrana.
- 4.4 Incubadora regulada entre 20 y 25°C.
- 4.5 Potenciómetro.
- 4.6 Placas de Petri de 15 mm x 100 mm, estériles.

4.7 Baño de agua regulado a $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.8 Equipo de uso común en el laboratorio de análisis microbiológico.

5 MEDIOS DE CULTIVO

5.1 DILUENTES

5.1.1 Solución tampón fosfato (solución de Butterfield) (Ver Norma Venezolana COVENIN 1126).

5.1.2 Agua peptonada al 0,1% (Ver Norma Venezolana COVENIN 1126)

5.2 MEDIOS DE CULTIVO (Ver su preparación en el anexo I).

5.2.1 Agar oxitetraciclina gentamicina-extracto de levadura-glucosa (OGY).

5.2.2 Agar papa-dextrosa con adición de antibiótico o de ácido.

5.2.3 Agar estándar para recuento en placas con adición de antibiótico o de ácido.

5.2.4 Agar extracto de malta con adición de antibiótico o de ácido.

6 MATERIAL A ENSAYAR

El material a ensayar consiste en una muestra representativa del alimento de acuerdo a las Normas Venezolanas COVENIN correspondientes.

7 CONDICIONES DE ENSAYO

7.1 Previo al análisis, las muestras deben mantenerse en condiciones apropiadas.

7.2 Todo el análisis debe realizarse en condiciones de asepsia.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 La muestra deberá identificarse y prepararse según la Norma Venezolana COVENIN 1126.

NOTA:

Si se van a analizar alimentos muy alcalinos debe controlarse que el pH no exceda de 8,0.

8.2 Se coloca 1 ml de la muestra original ó 1 ml ó 0,1 ml de las diluciones respectivas según sea el caso, en placas de Petri por duplicado.

8.3 Se añade a cada placa de 15 a 20 ml del medio de cultivo previamente fundido y temperado a $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Se mezcla convenientemente y se deja solidificar sobre una superficie plana. No debe transcurrir más de 20 min desde el momento de la preparación de la dilución hasta el agregado del medio de cultivo.

8.4 Se invierten las placas y se incuban en la oscuridad a una temperatura de 20 a 25°C durante 3 a 5 días, observándolas diariamente.

8.5 Finalizado el período de incubación se seleccionan preferentemente las placas donde aparezcan entre 10 y 100 colonias. Con la ayuda de un cuenta colonias o en su defecto, una lente de aumento, se cuentan todas las colonias de mohos y levaduras por separado y se anota la dilución correspondiente. Si el número de mohos y levaduras es demasiado elevado o si se trata de mohos de crecimiento rápido, debe hacerse el recuento al tercer día y repetirlo al quinto día. Debe evitarse contar como colonias, partículas de muestra, pequeñas burbujas u otros.

8.5.1 Si las placas de todas las diluciones tienen más de 100 colonias, se seleccionan aquellas que tengan el valor más cercano a 100.

8.5.2 Si las placas de todas las diluciones tienen menos de 10 colonias, se seleccionan aquellas que tengan el valor más cercano a 10.

8.5.3 El número de colonias promedio de las dos placas de una misma dilución se multiplica por la dilución correspondiente reportándose por separado mohos y levaduras.

8.5.4 Si placas de dos diluciones decimales consecutivas presentan entre 10 y 100 colonias se multiplica cada recuento por la dilución correspondiente, se establece el promedio y éste será el resultado final. Si el recuento más alto es superior a dos veces el más bajo, se descarta y se toma como resultado el valor más bajo.

9 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Los resultados se expresan como recuento estándar por gramo o mililitro de muestra.

9.2 El número de colonias obtenido según 8.5.1 y 8.5.2 se multiplica por la dilución correspondiente y se expresa como "Estimado del recuento estándar".

9.3 Si no hay colonias en ninguna placa, el recuento se reporta como "menos de 1" multiplicado por la primera dilución de la muestra y se expresa como "Estimado del recuento estándar".

9.4 El número de colonias se expresa como ufc/g ó ml.

10 INFORME

El informe del ensayo deberá indicar como mínimo la siguiente información:

- 10.1 Ensayo realizado según la Norma Venezolana COVENIN 1337.
- 10.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo y nombre de la persona que lo realizó.
- 10.3 Identificación de la muestra.
- 10.4 Resultados.
- 10.5 Observaciones.

BIBLIOGRAFIA

APHA 1984 Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. 2nd Edition. M. Speck Editor.

FDA 1984 Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration. Bureau of Foods Division of Microbiology. 6th Edition. AOAC. Box 540. Benjamin Franklin Station. Washington DC 20044 U.S.A.

ICMSF 1978 Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Volumen I. 2a. Edición. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos. España.

ANEXO I

MEDIOS DE CULTIVO

1. AGAR OXITETRACLINA GENTAMICINA - EXTRACTO DE LEVADURA - GLUCOSA (DGY)

1.1 Fórmula

1.1.1 Medio base

Gentamicina (solución acuosa al 0,5%).....	10 ml
Extracto de levadura.....	5 g
Glucosa	20 g
Agar.....	20 g
Agua destilada.....	1000 ml

1.1.2 Solución de oxitetraciclina al 0,1 %

Se disuelve 0,1 g de oxitetraciclina en 100 ml de agua destilada y se esteriliza por filtración. Se recomienda conservar la solución al abrigo de la luz a $6^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta 1 mes.

1.2 Preparación:

Se añaden los ingredientes del medio base al agua destilada y se calienta a ebullición hasta completa disolución de los mismos. Se esteriliza por 121°C por 15 minutos. Se tempera a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y se añade asepticamente 10 ml de solución de oxitetraciclina al 0,1 % por cada 90 ml de medio. pH final: 6,6.

2 AGAR PAPA DEXTROSA (Con adición de antibiótico o de ácido)

2.1. Fórmula

2.1.1 Medio base

Infusión de papa	200 g
Dextrosa	20 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 ml

2.1.2 Solución de antibiótico (clorhidrato de clortetraciclina, cloranfenicol, estreptomina, oxitetraciclina o gentamicina) al 0,1 %

Se disuelve 0,1 g del antibiótico seleccionado en 100 ml de agua destilada y se esteriliza por filtración. Se recomienda conservar la solución al abrigo de la luz a $6^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta 1 mes.

2.1.3 Solución de ácido tartárico al 10 %.

Se disuelven 10 g de ácido tartárico en 100 ml de agua y se esteriliza por filtración.

2.2 Preparación:

2.2.1 Se añaden todos los ingredientes del medio base a 1000 ml de agua destilada y se calienta a ebullición hasta disolver completamente. Se esteriliza a 121 °C por 15 minutos y luego se tempera a 45 °C ± 2 °C.

2.2.2 Se añade asépticamente 1 ml de la solución de antibiótico al 0,1 % por cada 100 ml de medio o si va a ser acidificado, se añade la cantidad necesaria de la solución de ácido tartárico al 10% hasta ajustar el pH del medio a 3,5 ± 0,2.

NOTA 1:

La esterilización por filtración de las soluciones no es necesaria si se toman las debidas precauciones durante su preparación.

NOTA 2:

Una vez que se añade ácido tartárico no se debe recalentar el medio.

3 AGAR MALTA (con adición de antibiótico o de ácido)

3.1 Fórmula

3.1.1 Medio base

Extracto de malta	30 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

3.1.2 Solución de antibiótico al 0,1 % (ver punto 2.1.2)

3.1.3 Solución de ácido tartárico al 10 % (ver punto 2.1.3)

3.2 Preparación:

3.2.1 Se añaden los ingredientes del medio base a 1000 ml de agua destilada y se calienta a ebullición hasta disolver completamente. Se esteriliza a 121 °C por 15 minutos y se tempera a 45 °C ± 2 °C. pH final: 5,5 ± 0,2

3.2.2 Se continúa con el procedimiento descrito en el punto 2.2.2 de este anexo.

4 AGAR ESTANDAR PARA RECuento EN PLACAS (Con adición de antibiótico o de ácido).

Ver su preparación en la Norma Venezolana COVENIN 902.

Una vez preparado el medio se continúa con el procedimiento descrito en el punto 2.2.2 de este anexo.

COVENIN
1337-90

CATEGORIA
B

COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO

Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12

Tel. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12

CARACAS

publicación de:



CDU: 576.093.21

ISBN 980 - 06 - 0612 - 2

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS .

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.
