

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
2948-92**

**ALIMENTOS. METODO PARA
RECUENTO DE ESPORAS
TERMOFILAS RESPONSABLES DE
ACIDEZ PLANA "FLAT SOUR"**



TRAMITE

COMITE TECNICO DE NORMALIZACION CT10 : PRODUCTOS ALIMENTICIOS
PRESIDENTE : DRA. FANNY CARRILLO DE PADILLA
VICEPRESIDENTE : DR. DOUGLAS YANEZ
: DR. JOSE FELIX CHAVEZ
SECRETARIO : LIC. ORLANDO TORTOLERO
SUBCOMITE TECNICO SC3 : MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS
COORDINADORA : MSc. YADIRA GUEVARA

PARTICIPANTES

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL (M.S.A.S.) VICMAR VILACHA
INDUSTRIAS LACTEAS (INDULAC) MIROSLAVA MORLES
INDUSTRIAS LACTEAS DE PERIJA (ILAPECA) ALICIA PEÑA
PRODUCTOS EFE HELEN RIVERO
LAB. BROLAB OLGAMAR FRANCESCHI
CERVECERIA POLAR, C.A. MATILDE DE GARCIA
INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION (I.N.N.) MARIELA CALDERON
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE (I.N.H.) MANUELA SELGRAD
MARIA L. NOVDA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA (U.C.V.) FAC. FARMACIA PILAR HERNANDEZ
UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR (U.S.B.) SILVIA MENDOZA
FRICA CRISTINA CALDERON

DISCUSION PUBLICA

FECHA DE ENVIO: 17-06-92
DURACION: 30 DIAS

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 05-10-92

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 09-12-92

NORMA VENEZOLANA
ALIMENTOS
METODO PARA RECUENTO DE
ESPORAS TERMDFILAS
RESPONSABLES DE ACIDEZ PLANA "FLAT SOUR"

COVENIN
2948-92

1 NORMA COVENIN A CONSULTAR

COVENIN 1126-77 Alimentos. Codificación y preparación de muestras para análisis microbiológicos.

2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Este método contempla la detección y recuento de colonias de esporas termófilas responsables de acidez plana "flat sour".

3 RESUMEN DEL METODO

El método consiste en someter las muestras o diluciones de las mismas a un proceso de calentamiento con el fin de permitir el paso de esporas a célula vegetativa. Sembrar un volumen dado de la muestra o diluciones sucesivas de la misma en un medio de enriquecimiento sólido, selectivo, repartido en Placas de Petri. Someter a condiciones de incubación preestablecidas y contar las colonias utilizando un contador de colonias.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Baño de Agua con regulador de temperatura 40-45°C.
- 4.2 Contador de colonias.
- 4.3 Cronómetro.
- 4.4 Incubadora con regulador de temperatura de 50 - 55°C.
- 4.5 Frascos de dilución de 250 ml, estériles.
- 4.6 Pipetas graduadas de 1 y 5 ml, estériles.
- 4.7 Placas de Petri 100 x 15 mm, estériles.
- 4.8 Erlenmeyer de 250 ml, estéril.
- 4.9 Agua destilada estéril.

5 MEDIOS DE CULTIVO

5.1 Agar glucosa triptona

Fórmula:

Triptona o Tripticasa	10,0 g
Dextrosa	5,0 g
Púrpura de Bromocresol (solución 2% en etanol)	2,0 ml
Agar	15,0 g
Agua destilada estéril c.s.p	1000 ml

Preparación: Mezcle los ingredientes en agua destilada, caliente a ebullición hasta disolución completa. Esterilice en autoclave a 121°C por 15 minutos. El pH final debe ser 6,7 ± 0,2.

6 PREPARACION Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

El material a ensayar consiste en una muestra representativa del alimento. Su identificación y preparación se hará según lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN 1126.

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 Se colocan 20 g de la muestra en un Erlenmeyer de 250 ml, se le agrega agua destilada estéril hasta completar 100 ml y se agita hasta disolución completa.

8.2 Se lleva la muestra rápidamente a ebullición durante cinco (5) minutos. Se enfria la solución.

8.3 Se coloca 2 ml de la muestra tratada a cada una de las 5 placas de Petri. Se añade agar glucosa triptona, previamente fundido y temperado a 40-45°C, se mezcla con el inóculo y se deja solidificar.

8.4 Se invierten las placas y se incuban a 50-55°C, durante 48 a 72 horas.

8.5 Se cuenta el total de colonias en las cinco placas y se multiplica por cinco.

8.6 Las colonias de esporas responsables de acidez plana "flat sour" son redondas, de 2 - 5 mm de diámetro, con el típico punto central opaco, rodeadas de un halo amarillo, debido a la producción de ácido. El halo amarillo puede ser insignificante o estar ausente cuando las colonias pertenecen a cierto tipo de cepas poco productoras de ácido, cuando ha ocurrido reversión alcalina, o cuando la placa esta muy poblada, de tal modo que el color del medio vira completamente al amarillo. Este halo puede desaparecer al sacar las placas de incubación, por lo que es preferible hacer el conteo inmediatamente. Las colonias en profundidad son compactas, biconvexas y se asemejan a puntas de alfiler. Cuando la producción de ácido es cuestionable después de 48 horas, se reincuba otras 24 horas adicionales. Si la identidad de las colonias en profundidad es dudosa, se recomienda reaislar en superficie, a fin de observar la morfología típica de la colonia, ya descrita.

NOTA 1: En el caso de productos como cacao y leche, en los cuales el tamaño de la partícula puede interferir en el conteo de colonias, se puede pesar 10 g de producto y sembrar 1 ml de dilución en lugar de 2 ml, como se describe arriba.

9 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 9.1 El total de colonias en las cinco placas, multiplicado por cinco representa el número total de esporas en 10 g de muestra.
- 9.2 Los resultados se expresan: recuento de esporas termófilas responsables de acidez plana "flat sour" ufc/10 g de muestra.

10 INFORME

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

- 1.- Ensayo realizado según la Norma COVENIN 2948
- 2.- Fecha en la cual se realizó el ensayo.
- 3.- Identificación de la muestra.
- 4.- Resultados del ensayo.
- 5.- Nombre del analista.
- 6.- Observaciones.


BIBLIOGRAFIA

- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, 1984, American Public Health Association, NW Washington, D.C. - Pag 242 - 250.

COVENIN
2948-92

CATEGORIA
B

COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO
Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12
Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12
CARACAS

publicación de :  FONDONORMA

CDU: 579.2.24

ISBN 980-06-0986-5

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

Descriptores: Microorganismo, análisis microbiológico, espora, acidez.