



SECRETARIA DE COMERCIO

Y

FOMENTO INDUSTRIAL

NORMA MEXICANA

NMX-F-255-1978

**METODO DE CONTEO DE HONGOS Y LEVADURAS EN
ALIMENTOS**

METHOD OF TEST FOR COUNT OF FUNGI AND YEAST IN FOOD

DIRECCION GENERAL DE NORMAS

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma, participaron las siguientes instituciones y organismos:

LABORATORIO NACIONAL DE LA SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA.

DIRECCION GENERAL DE CONTROL DE ALIMENTOS, BEBIDAS Y MEDICAMENTOS.

KRAFT FOODS DE MEXICO, S.A. DE C.V.

ALIMENTOS DEL FUERTE, S.A. DE C.V.

THE COCA COLA EXPORT CO.

LABORATORIO CENTRAL DE LA SECRETARIA DE HACIENDA Y CREDITO PUBLICO.

COMPAÑIA NESTLE, S. A.

CAMARA DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS ELABORADOS CON LECHE.

ANDERSON CLAYTON, S.A.

PEPSI COLA MEXICANA, S.A.

METODO DE CONTEO DE HONGOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS

METHOD OF TEST FOR COUNT OF FUNGI AND YEAST IN FOOD

0 INTRODUCCION

Los hongos y levaduras son microorganismos que tienen interés como causa de alteración y como elementos biológicos utilizados en la manufactura de algunos alimentos: quesos, cerveza, pan, etc.

Ciertos hongos pueden producir al desarrollarse en animales y en el hombre, sustancias que genéricamente reciben el nombre de micotoxinas.

Los hongos se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza, como en la tierra y en el polvo, las levaduras se desarrollan con facilidad en los utensilios que no han sido perfectamente lavados, utilizados en las industrias de carbohidratos.

El objetivo principal de investigación en el laboratorio es descubrir las fuentes de contaminación y la defectuosa conservación de algunos alimentos. Por ello la técnica se ha diseñado para estimar su abundancia y no solo su presencia.

Investigar cepas toxigénicas no es práctico.

La prueba no se aplica a cualquier tipo de alimento, sino solo en aquellos en los que de acuerdo con la experiencia, permite correlacionar su hallazgo, por encima de ciertos límites, con prácticas sanitarias defectuosas en la producción y almacenamiento del alimento.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

Esta Norma establece el método microbiológico para determinar el número de hongos y levaduras en alimentos.

2 REFERENCIAS

Esta Norma se complementa con las Normas Mexicanas en vigor, siguientes:

NMX-F-285 "Muestreo y transporte de la muestra".

NMX-BB-14 "Clasificación y tamaños nominales para utensilios de vidrio usados en laboratorio".

3 REACTIVOS Y MATERIALES

Los reactivos empleados en esta prueba deben ser grado analítico. Cuando se hable de agua debe entenderse por destilada.

3.1 Medios de cultivo

3.1.1 Agar papa dextrosa:

Infusión de papa	-200 g
Dextrosa	-20 g
Agar	-15 g
Agua	-1000 ml

Suspender 39 g del medio deshidratado en un litro de agua y calentar a ebullición. Distribuir en porciones de 100 ml y esterilizar en autoclave por quince minutos a 121°C. Enfriar a 45-48°C y acidificar a pH 3.5 con una disolución estéril de ácido tartárico al 10% (aproximadamente 1.4 ml de ácido por 100 ml de medio).

3.1.2 Disolución estéril de ácido tartárico al 10%

Acido tartárico	- 10 g
Agua destilada	- 100 ml

Disolver y esterilizar a 121°C durante quince minutos.

3.1.3 Disolución reguladora diluyente. Disolver 34 g de fosfato monopotásico en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7.2 con hidróxido de sodio 1N, esterilizar a 121°C durante 20 minutos. Conservar en refrigeración, tomar 1.25 ml y completar el volumen a 1000 ml con agua. Tomar porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera. Esterilizar a 121°C durante 20 minutos. El pH final debe ser de 7.2.

4 APARATOS E INSTRUMENTOS

Además de ser estéril, todo el material de vidrio empleado en esta prueba debe cumplir con la NMX-BB-14 en vigor.

Horno para esterilizar a 180°C.

Autoclave con termómetro o manómetro probado con termómetro de máximas.

Baño de agua con control de temperatura $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

Incubadora con control de temperatura $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

Licuada de 1 ó 2 velocidades controladas por un réostato, con vasos estériles.

Balanza capaz de pesar hasta 2500 g con sensibilidades de 0.1 g.

Cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas y espátulas.

Frascos de dilución de 200 a 250 ml con tapa de rosca que contengan de 99 a 90 ml de tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca conteniendo 9 ml de la disolución reguladora diluyente, en ambos casos $\pm 1\%$ del volumen señalado después de la esterilización.

Pipetas bacteriológicas de 10 y 1 ml graduadas en 0.1 y 0.01 ml respectivamente.

Cajas petri de 100 x 15 mm.

Contador de colonias Quebec o equivalente.

Contador manual Tally o similar.

5 PREPARACION DE LA MUESTRA

La preparación de la muestra se debe hacer de acuerdo a la NMX-F-285. "Muestreo y transporte de la muestra".

6 PROCEDIMIENTO

De cada dilución colocar 1 ml por duplicado en cajas petri y agregar 12 a 15 ml de agar-papa-dextrosa acidificado, fundido y mantenido a $45^{\circ}\text{-}48^{\circ}\text{C}$.

Homogeneizar y dejar solidificar.

Incubar una serie de placas a 22°C durante 5 días y la otra serie a 35°C durante 48 horas.

7 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Contar las colonias de hongos en la serie incubada a 22°C y las colonias de levaduras en la serie incubada a 35°C así como en la incubada a 22°C .

Multiplicar por la inversa de la dilución e informar "Cuenta de hongos en placas agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 5 días a 22°C y "Cuenta de levaduras en placas de agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 48 horas a 35°C ó 5 días a 22°C (según el caso en el cual el recuento sea más elevado) por gramo o mililitro de la muestra.

8 BIBLIOGRAFIA

Técnicas para el muestreo y análisis microbiológico de alimentos. Dirección General de Investigación Salud Pública. Secretaría de Salubridad y Asistencia. 1976.

NMX-Z-13-1997 Norma Mexicana. Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Mexicanas. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial.

9 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta Norma no concuerda con ninguna Norma Internacional por no existir sobre el tema.

México. D.F. Febrero 28, 1978.

EL DIRECTOR GENERAL.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'RS', with a stylized flourish extending to the right.

DR. ROMAN SERRA CASTAÑOS.

Fecha de aprobación y publicación: Marzo 3, 1978