09-13-95 NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 194 fracción I de la Ley General de Salud; 2o. fracción III, 34, 37, 40 y demás aplicables del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y

CONSIDERANDO

Que con fecha 28 de abril de 1994, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 15 de agosto de 1994, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana a efecto que dentro de los siguientes noventa días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que en fecha previa, fueron publicadas en el **Diario Oficial de la Federación** las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-111-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. METODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

INDUSTRIAS VINICOLAS PEDRO DOMECQ, S.A. DE C.V.

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A. DE C.V. LICONSA

SIGMA ALIMENTOS, S.A. DE C.V.

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.

NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

2. FUNDAMENTO

3. REFERENCIAS

4. DEFINICIONES

5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

6. REACTIVOS Y MATERIALES

7. APARATOS E INSTRUMENTOS

8. PREPARACION DE LA MUESTRA

9. PROCEDIMIENTO

10. EXPRESION DE RESULTADOS

11. INFORME DE LA PRUEBA

12. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

13. BIBLIOGRAFIA

14. OBSERVANCIA DE LA NORMA

15. VIGENCIA

0. Introducción

Los mohos y levaduras están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o como agentes contaminantes y en los equipos sanitizados inadecuadamente, provocando el deterioro fisicoquímico de éstos, debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos originando mal olor, alterando el sabor y el color en la superficie de los productos contaminados. Además los mohos y levaduras pueden sintetizar metabolitos tóxicos termoresistentes, capaces de soportar algunas sustancias químicas, así como la irradiación y presentan capacidad para alterar sustratos desfavorables, permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas.

Es de gran importancia cuantificar los mohos y levaduras en los alimentos, puesto que al establecer la cuenta de estos microorganismos, permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima inadecuada.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el método general para determinar el número de mohos y levaduras viables presentes en productos destinados al consumo humano por medio de la cuenta en placa a 25 ± 1°C.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Fundamento

El método se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3,5 e incubado a una temperatura de 25 ± 1°C, dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos.

3. Referencias

Esta Norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994	Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

NOM-110-SSA1-1994	Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico
NOM-092-SSA1-1994	Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

4. Definiciones

Para fines de esta Norma se entiende por:

4.1 Colonias, agrupamiento de células en forma de masas visibles, sobre el agar de cultivo.

4.2 Levaduras, son microorganismos cuya forma dominante de crecimiento es unicelular. Poseen un núcleo y se multiplican por reproducción sexual o asexual, por gemación o por fisión transversal. La reproducción sexual cuando ocurre, es por medio de ascosporas contenidas en un saco o asca.

4.3 Mohos, grupo de hongos microscópicos; organismos pertenecientes al reino Fungi, que se caracterizan por tener un cuerpo formado por estructura filamentosa con ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no, las paredes celulares pueden ser de queratina, celulosa o manana. Crecen formando colonias en un medio selectivo a 25 °C.

4.4 Unidades Formadoras de Colonias (UFC), término que debe utilizarse para reportar la cuenta de colonias en placa, las cuales pueden surgir de una célula o de un cúmulo de células.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta Norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

mm	milímetro
µm	micrómetro
g	gramo
ml	mililitro
pH	potencial de hidrógeno
N	normal
°C	grado Celsius
%	por ciento
UFC	unidades formadoras de colonias
l	litro
h	hora

6. Reactivos y materiales

6.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser de grado analítico y cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

6.1.1 Medios de cultivo.

Agar papa - dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada.

Preparación del medio de cultivo.

Seguir instrucciones del fabricante y después de esterilizar, enfriar en baño de agua a 45 ± 1°C, acidificar a un pH de 3,5 ± 0,1 con ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1,4 ml de ácido tartárico por 100 ml de medio). Después de adicionar la solución, mezclar y medir el pH con potenciómetro. Dejar solidificar una porción del medio. Hacer esto en cada lote de medio preparado.

A fin de preservar las propiedades gelificantes del medio, no calentar después de agregar el ácido tartárico.

6.1.2 Soluciones.

6.1.2.1 Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada)

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Fosfato de potasio monobásico	34,0 g
Agua	1,0 l

Preparación:

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con hidróxido de sodio 1 N.

Llevar a 1,0 l de agua.

Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a 1,0 l con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a 121 ± 1°C durante 15 minutos.

6.1.2.2 Solución estéril de ácido tartárico al 10%

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Acido tartárico	10,0 g
Agua destilada	100,0 ml

Preparación:

Disolver el ácido en el agua y esterilizar a 121 ± 1,0 °C por 15 minutos o por filtración a través de membrana de 0,45 µm.

6.2 Materiales.

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 1 ml y 2 ml), con tapón de algodón. Pueden utilizarse pipetas graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Cajas Petri.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio, deben esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h de 170 a 175°C o por 1h a 180°C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a 121 ± 1,0°C.

7. Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Incubadora con termostato que pueda ser mantenido a 25 ± 1,0°C provista con termómetro calibrado.

Autoclave que alcance una temperatura mínima de 121 ± 1,0°C.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de 0,1°C y que mantenga la temperatura a 45 ± 1,0°C.

Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadriculada y lente amplificador.

Registrador mecánico o electrónico.

Microscopio óptico.

Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25 °C.

8. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

9. Procedimiento

9.1 Colocar por duplicado en cajas Petri 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril.

9.2 Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.

9.3 Verter de 15 a 20 ml de agar papa dextrosa acidificado, fundido y mantenido a 45 ± 1 °C en un baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que es vertido el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.

9.4 Mezclar cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Permitir que la mezcla se solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.

9.5 Preparar una caja control con 15 ml de medio, para verificar la esterilidad.

9.6 Invertir las cajas y colocarlas en la incubadora a 25 ± 1°C.

9.7 Contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, seleccionar aquellas placas que contengan entre 10 y 150 colonias. Si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis.

9.8 Si es necesario, cuando la morfología colonial no sea suficiente, examinar microscópicamente para distinguir las colonias de levaduras y mohos de las bacterias.

10. Expresión de resultados

Cálculo del Método

Considerar las cuentas de placas con 10 a 150 colonias como las adecuadas para el informe. Multiplicar por el inverso de la dilución, tomando en consideración los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa, para la expresión de resultados.

11. Informe de la prueba

Informar:

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de mohos en agar papa - dextrosa acidificado, incubadas a 25 ± 1°C durante 5 días.

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a 25 ± 1°C durante 5 días.

12. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma no tiene concordancia con normas internacionales.

13. Bibliografía

13.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-008-SCFI-1993. Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.

13.5 Bacteriological Analytical Manual. 1984. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. 6a Ed. Washington, D.C.

13.6 Norma ISO 7954. 1987. Microbiology - General Guidance for Enumeration of Yeast and Moulds - Colony Count Technique at 25 °C. International Organization for Standardization.

13.7 NORMA-Z-013/02. 1981. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.

13.9 Vanderzant F., Carland S., y Don F., 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. Washington, D.C.

14. Observancia de la Norma

La vigilancia en el cumplimiento de la presente Norma corresponde a la Secretaría de Salud.

15. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana, entrará en vigor con su carácter obligatorio a los 30 días siguientes a partir de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación.**

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General, **José Meljem Moctezuma**.- Rúbrica.