

Dénombrement des levures et moisissures dans les épices et aromates

Norme AFNOR NF V 03-454 (décembre 1981)

Principe	Les levures et moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur un milieu inhibiteur pour les bactéries aérobies (gélose OGA), forment des colonies après une incubation à 20 °C pendant 5 jours.
Mode opératoire	<p>• Préparation des milieux</p> <ul style="list-style-type: none"> - Faire fondre le milieu de base et le refroidir à 45/48 °C. - Ajouter à 10 mL de milieu de base fondu 1 mL de la solution d'oxytétracycline - Bien mélanger, et couler en boîtes de Pétri - Après solidification, sécher la surface du milieu à l'étuve à 55 °C, couvercle entrouvert, et laisser refroidir couvercle fermé. <p>• Préparation de l'échantillon La quantité d'échantillon pour laboratoire doit être suffisante pour les besoins de !</p> <p>• Réalisation des dilutions Préparer 2 tubes de dilution au 10⁻² à partir de la suspension mère et préparer un tube de dilution au 10⁻³ à partir de chacun de ces tubes.</p> <p>• Ensemencement et incubation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Suspension mère <ul style="list-style-type: none"> o Transférer à l'aide d'une pipette de 1 mL, à la surface de 4 boîtes de Pétri contenant la gélose OGA, 0,1 mL de la suspension mère, o Répartir sur toute la surface du milieu à l'aide d'un étaleur en verre stérile - Dilutions <ul style="list-style-type: none"> o Transférer à l'aide d'une nouvelle pipette de 1 mL à la surface de 2 boîtes de Pétri contenant la gélose OGA, 0,1 mL prélevé après agitation du premier tube de dilution 10⁻² o Répartir sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un étaleur en verre stérile o Réaliser les mêmes opérations à partir du deuxième tube de dilution 10⁻², et de même à partir des tubes de la dilution 10⁻³, o Incuber les boîtes retournées pendant 5 jours à 20-25 °C.
Lecture	<ul style="list-style-type: none"> - Après 48 h d'incubation, repérer chaque jour les colonies sur les boîtes. - Dénombrer les colonies de levures et de moisissures sur les boîtes présentant au total 10 à 100 colonies.
Expression des résultats	Exprimer le résultat par un nombre de levures et de moisissures compris entre 1,0 et 9,9.10 ^x par gramme d'épice.

Composition du milieu	Gélose glucosée à l'oxytétracycline (OGA)	Milieu de base Extrait de levure déshydraté.....5 g Glucose..... 20g Agar..... 16 à 24 g Eau..... 1 000 mL
		Solution d'oxytétracycline à 0,1 %
<p>Répartir le milieu, soit en tubes de 20 mm x 200mm, à raison de 20 mL par tube, soit en fioles de 150 mL. à raison de 100 mL par fiole. Stériliser à l'autoclave à 121°C +/- 1°C pendant 20 min.</p> <p>Au moment de l'utilisation :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Faire fondre le milieu de base et le refroidir à 45-48 °C. Ajouter à 10 mL de milieu de base fondu 1 mL de la solution d'oxytétracycline. -Mélanger et couler en boîtes de Pétri. -Laisser solidifier, puis sécher la surface du milieu à l'étuve à 55°C, couvercle entrouvert, et laisser refroidir couvercle fermé. 		