



SECRETARIA DE COMERCIO

Y

FOMENTO INDUSTRIAL

NORMA MEXICANA

NMX-F-357-S-1981

**ALIMENTOS PARA HUMANOS - MICROBIOLÓGICOS - FRUTAS,
HORTALIZAS Y DERIVADOS - CUENTA DE FILAMENTOS DE
HONGOS, METODO DE HOWARD**

**FOODS FOR HUMANS - MICROBIOLOGICAL - FRUITS, VEGETABLES
AND ITS DERIVATIVES - COUNT OF MUSHROOMS THREADS,
HOWARD METHOD**

DIRECCION GENERAL DE NORMAS

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma, participaron los siguientes Organismos:

- SUBSECRETARIA DE SALUBRIDAD. DIRECCION GENERAL DE LABORATORIOS DE SALUD PUBLICA.

- ELIAS PANDO, S. A.

- EMPACADORA DEL BAJIO, S. A.

ALIMENTOS PARA HUMANOS – MICROBIOLÓGICOS – FRUTAS, HORTALIZAS
Y DERIVADOS – CUENTA DE FILAMENTOS DE HONGOS, MÉTODO DE
HOWARD

“FOODS FOR HUMANS – MICROBIOLOGICAL – FRUITS, VEGETABLES AND ITS
DERIVATIVES – COUNT OF MUSHROOMS THREADS, HOWARD METHOD

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

Esta Norma Mexicana establece el procedimiento para determinar la cuenta de filamentos de hongos por el método de Howard en frutas, hortalizas y derivados.

2 REFERENCIAS

Esta norma se complementa con las siguientes Normas Oficiales Mexicanas vigentes:

NMX-B-231 Requisitos de las cribas para clasificación de materiales.

NMX-F-236-S Alimentos para humanos - Salsa de tomate catsup - Determinación de sólidos totales por el índice de refracción.

3 FUNDAMENTO

El método se basa en la observación directa al microscopio, para identificar las características de los filamentos de hongos.

4 REACTIVOS Y MATERIALES

4.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan, deben ser grado analítico; cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada.

- Acido clorhídrico
- Alcohol caprílico
- Soluciones estabilizadoras. Se prefiere una solución al 0.5 % de carboximetilcelulosa. Poner 500 cm³ de agua hirviendo en una licuadora, con esta

funcionando agregar 2.5 g de carboximetilcelulosa y 10 cm³ de formaldehído (HCHO), homogeneizando por un minuto.

- Soluciones alternativas: 3-5% de pectina o 1% de alginato. Tratar la solución con vacío o calor para remover las burbujas de aire. Agregar 2 cm³ de formaldehído (HCHO) por cada 100 cm³ de solución, como preservativo. Ajustar el ph a 7 - 7. 5.

4.2 Materiales

- Porta objetos y cubre objetos
- Navaja o escalpelo
- Matraz de 250 cm³
- Kitasato de 150 cm³ a 500 cm³
- Probeta de 100 cm³
- Tubo centrífugo de 50 cm³
- Amiz NMX 2. 5 M (8 US.) (véase 2)
- Tamiz NMX 4. 5 M (14 US.) (véase 2)

5 APARATOS Y EQUIPO

5.1 Celda de Howard

5.2 Microscopio

5.3 Ciclón de laboratorio.- Consiste esencialmente de una pantalla de metal cilíndrico con perforaciones en su superficie. En su interior rota una paleta de agitación que impele los componentes suaves de un producto alimenticio forzándolos a salir por las aberturas del cilindro. Los componentes duros como son las son millas, cáscaras, etc., que se quedaron dentro del cilindro son forzados a salir por una abertura que está al final del cilindro. Como fuente de energía para el ciclón se utiliza comúnmente un motor eléctrico de 186.42 W (.25 caballos de fuerza) y 110 V, con una velocidad de 1.725 r.p.m. La pantalla cilíndrica cuenta con 400 perforaciones por 645.16 mm², teniendo un diámetro interior de cilindro de 63.50 mm con una altura efectiva de 76.2 mm. La paleta de agitación tiene dos aletas de 19.84 mm de ancho cada una, extendiéndose 4.76 mm, a partir del centro del eje. El ciclón está construido de tal manera que la abertura de desechos pueda cerrarse, si así se requiere. Este aparato puede ser fácilmente desarmable para lavar sus partes.

5.4 Balanza analítica con + 0.1 mg de sensibilidad

5.5 Centrífuga

6 MUESTRAS

6.1 Preparación de la muestra de prueba

6.1.1 Ates de zarzamora, frambuesas y otros moras de drupa:

Reducir a pulpa toda la muestra; si es de 908 g o menor, a través de un ciclón de laboratorio. Si la muestra pasa de 908 g; se debe reducir a pulpa una porción representativa de cerca de 908 g y mezclarse. Determinar la masa de 50 g de pectina al 3% de otra solución estabilizadora, en un Kitasato de 250 cm³.

Añadir 500 g del ate o conserva, 10 gotas de alcohol caprílico y mezclar muy bien. Aplicar succión y agitar suavemente hasta que desaparezca la mayoría de las burbujas de aire (5-10 minutos). Mezclar muy bien y hacer el conteo de moho como se indica en 7.

6.1.2 Ates de fresa y otras frutas: Reducir a pulpa y mezclar la muestra como se indica en 5.1, añadir 100 g de pulpa a un Kitasato de 150 a 500 cm³. Calentar el matraz suavemente bajo condiciones de vacío hasta que la mayoría de las burbujas de aire desaparezcan del ate o conserva. Mezclar la muestra muy bien y hacer el conteo de moho como se indica en 7.

6.1.3 Derivados del tomate (molido, excepto la salsa para espagueti, pescado, etc.): Para el jugo y la salsa de tomate se hace el conteo sin diluirlos. Para el catsup, poner 50 cm³ de solución estabilizadora en una probeta graduada de 100 cm³. Añadir 50 cm³ de muestra bien mezclada de catsup, por desplazamiento mezclar muy bien. Diluir la pasta o el puré con agua hasta que se logre un contenido de sólidos solubles de tomate que den un índice de refracción de 1.3442-1.3448 a 298 K (25 °C) o 1.3448 - 1.3454 a 293 K (20 °C) (equivalente a 8.0 - 8.4 % de sacarosa de acuerdo con la escala internacional de índices de refracción de la sacarosa, p.p. 931 - 33 y 935 tablas de referencias 47.012, 47.013 y 47.015 del libro "Métodos Oficiales de Análisis de AOAC", 11a. Ed., 1970) véase 2 y 9. Reducir a pulpa la salsa para pizza por medio de un ciclón de laboratorio y diluir con agua hasta lograr un contenido de sólidos solubles de tomate que den un índice de refracción de 1.3409-1.3415 a 298 K (25 °C) a 1.3415 - 1.3421 a 293 K (20 °C) (equivalente a 5.8 -6.2% de acuerdo con las tablas de referencia AOAC).

6.1.4 Concentrado de jugo de piña; hacer el conteo de moho en una muestra bien mezclada con se indica en 7.

6.1.5 jugo de piña: verter el contenido del envase en un vaso de precipitado y mezclar muy bien, pasándolo del vaso al envase por lo menos 12 veces. Después de mezclado, transferir 50 cm³ del jugo a un tubo centrífugo de 50 cm³ con fondo en forma de cono. Accionar durante 10 minutos a 2200 r.p.m. Dejar que la centrifuga se detenga gradualmente. Quitar los tubos, leer el volumen de sedimento y decantar el líquido de arriba sin levantar el sedimento. Añadir 0.5 cm³ de HCl para disolver los cristales de oxalato. Añadir agua al tubo para subir el nivel hasta la marca de 10 cm³ y añadir 5 cm³ de solución de pectina al 3 % u otra solución estabilizadora. Mezclar muy bien el sedimento, el agua y la solución de pectina y verter en un vaso pequeño. Mezclar pasándolo del vaso al tubo de la centrifuga por lo menos seis veces. Revolver la mezcla muy bien en el vaso y proceder como en 7.

6.1.6 Piña en rebanadas o en trazos: Escurrir la piña sobre un tamiz NMX 2.5 M (8 US.) de un diámetro adecuado por espacio de dos minutos hacer el conteo de moho en el jugo escurrido como en 6.1.5.

6.1.7 Piña molida: Escurrir la piña sobre un tamiz número NMX 4.5 M (14 US.) de diámetro adecuado por dos minutos. Hacer el conteo de moho en el jugo escurrido como en 6.1.5.

7 PROCEDIMIENTO

7.1 Limpiar la cámara de Howard hasta que se produzcan anillos de Newton entre la lámina y el cubre objetos. Para lograr este objetivo, se lava con agua destilada y se seca con un paño libre de pelusa, se pasa por la flama de un mechero bunsen. Se pone el cubre objeto sobre los soportes de la cámara y se presiona. Los anillos de Newton son círculos concéntricos o fracciones de arco iridiscentes que se forman entre los dos cristales y se pueden observar por reflexión de la luz.

7.2 Quitar el cubre objetos y transferir, por medio de una espátula, una porción de la muestra bien mezclada el área central, se puede ayudar a transferir la muestra con una aguja de disección. Bajar el cubre objetos lentamente hasta que toque la superficie del material. A continuación bajarlo rápidamente para que se extienda en toda la superficie. Cuidar que no queden burbujas y que el líquido no se derrame fuera del área de cuenta.

7.3 Las lentes de microscopio deben estar meticulosamente limpias, y el mecanismo del microscopio, principalmente el ajuste fino, en perfectas condiciones.

7.4 El área del campo del microscopio se debe ajustar a un diámetro de 1.382 mm (que es la distancia entre la dos líneas paralelas de la cámara). Este ajuste se puede hacer por medio de un diafragma ocular o cortando un círculo en un cartón que delimite el área .

7.5 La luz del microscopio debe ser adecuada para facilitar la identificación de filamentos.

8 EXPRESION DE RESULTADOS

8.1 Poner la cámara bajo el microscopio y examinarla con un aumento de 90 - 125 X. Examinar al menos 25 campos, de tal forma, que sean representativos de todo el frotis. Esto puede hacerse en hileras alternadas, horizontales y verticales.

8.2 Anotar como positivos, los campos en donde se observen filamentos cuando a 1 a 3 fracciones de filamentos sumadas excedan de una sexta parte del diámetro del campo. Contar como un micelio, los cúmulos de micelios.

8.3 Calcular la proporción de campos positivos en relación con el número total, para sacar el porcentaje.

$$\frac{\text{Número de campos positivos}}{\text{número de campos observados}} \times 100 = \% \text{ de campos positivos}$$

9 BIBLIOGRAFIA

- NMX-Z-13 1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Oficiales Mexicanas.
- NMX-F-33-1952 Puré de tomate enlatado.
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists; AOAC 12 th Edition, part. 44.092 p. 883: 1975.
- Tolerancias y Métodos Analíticos para la Sanidad de Alimentos exportados por México a Estados Unidos, 1975 IMCE 2a. edición pp. 21, 27, 52, 60, 63, 64.
- Health Protection Branch. Ottawa-Official Methods MF05 Ottawa Canadá (Reprinted Sept. 1974).

México, D.F., Julio, 6 1981

EL DIRECTOR GENERAL DE LABORATORIOS DE SALUD PUBLICA DE LA
SUBSECRETARIA DE SALUBRIDAD.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'E. Favela Alvarez', written in a cursive style.

Q.F. ERNESTO FAVELA ALVAREZ.

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'R. Serra Castaños', written in a cursive style.

DR. ROMAN SERRA CASTAÑOS

Fecha de aprobación y publicación: Enero 22, 1982