



D-24879

CIB

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
INSTITUTO DE TECNOLOGÍAS
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ALIMENTOS**

**INFORME DE PRÁCTICAS PROFESIONALES
Previo a la obtención del Título de Tecnóloga en Alimentos**

**Realizado en: EMPRESA PESQUERA ECUATORIANA
(EMPESEC S.A.)**

Autor: JOHANNA ELIZABETH PANCHANA BELLO.

**MBA. Mariela Reyes
Profesora Guía**

**MSc. María F. Morales
Segunda Revisión**

AÑO LECTIVO

2002 - 2003

Guayaquil - Ecuador



CIBT

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
INSTITUTO DE TECNOLOGÍAS
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ALIMENTOS**

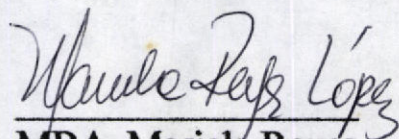
INFORME DE PRÁCTICAS PROFESIONALES
Previo a la obtención del Título de Tecnóloga en Alimentos

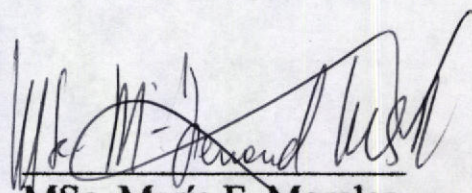
Realizado en: EMPRESA PESQUERA ECUATORIANA
(EMPESEC S.A.)



CIBT

Autor: JOHANNA ELIZABETH PANCHANA BELLO.


MBA. Mariela Reyes
Profesora Guía


MSc. María F. Morales
Segunda Revisión

AÑO LECTIVO

2002 – 2003

Guayaquil - Ecuador

CARTA DE PRESENTACIÓN

Guayaquil, 3 de Julio del 2002.

MTA.

Claudia Icaza de Sánchez
Coordinadora (e) PROTAL
Ciudad.-

Por medio de la presente, me dirijo a usted para hacer la entrega del siguiente informe correspondiente a **PRÁCTICAS PROFESIONALES**, previo a la obtención del título de Tecnóloga en Alimentos.

Atentamente,



Johanna E. Panchana Bello.

EMPESEC

EMPRESA PESQUERA ECUATORIANA S. A.



E M P E S E C

Guayaquil, Junio 25/02

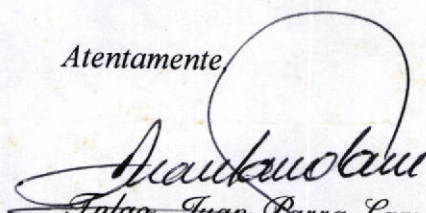
Telg. Claudia Icaza
COORDINADORA (e) DEL PROTAL
Ciudad.-

Estimada Claudia:

Por medio de la presente certifico que la señorita JOHANNA ELIZABETH PANCHANA BELLO, estudiante de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, portadora del Carnet Estudiantil # 1998113312, realizó sus prácticas a nivel de laboratorio en el Dpto. Control de Calidad – Laboratorio Microbiología, desde el 04 de Marzo hasta el 29 de Junio del presente, cumpliendo de una manera satisfactoria las tareas a ella encomendadas y demostrando deseos de superación.

Sin otro particular por el momento, aprovecho la oportunidad para suscribirme de usted muy atentamente.

Atentamente,


Fulgo. Juan Barra Lam
GERENTE CONTROL DE CALIDAD

INDICE

Aspectos Generales de la Empresa.....	1
Organigrama General.....	2
Detalle del Proceso de Producción.....	3
Diagrama de Flujo.....	8
Puntos de Control.....	9
Análisis microbiológicos realizados:	
Coliformes y E. coli como indicadores como indicadores de la calidad higiénica del producto.	
Determinación de Coliformes y E. coli.....	16
Aerobios como indicadores de la calidad sanitaria de los alimentos.	
Determinación de Aerobios.....	19
Procedimiento de Monitoreo Ambiental.	
Muestreo de aire.....	22
Método de Contacto Directo	
Muestreo de superficies de contacto.....	24
Toma de muestra de manos.....	26
Análisis microbiológico de Aguas.....	29
Ensayos de Incubación-Estabilidad.....	31
Inspecciones Sanitarias.....	32
Conclusiones y Recomendaciones.....	33
Bibliografía.....	34
Anexos.....	35

RESUMEN

En el informe se expondrá de forma detallada el proceso de elaboración de atún enlatado en Empesec, describiendo las actividades que representan puntos de control durante el procesamiento.

Las operaciones de recepción, selección y clasificación, almacenamiento en cámaras frigoríficas, descongelación, eviscerado, cocción, limpieza y enlatado son en resumen las operaciones que se desarrollan en la planta procesadora.

El informe contiene además la descripción de ensayos microbiológicos como la determinación de Coliformes, E. coli, Aerobios, toma de muestra de superficies, de ambiente, de manos, de agua.

En una parte del informe se expone las actividades de inspección diarias realizadas por el departamento de microbiología, encaminadas todas a verificar el cumplimiento de Buenas prácticas de higiene y sanización en las diferentes áreas de la planta.

INTRODUCCIÓN

El proceso industrial para obtener conservas de atún enlatadas involucra rigurosos controles que se inician desde las operaciones de captura y prosiguen lo largo del proceso hasta obtener un producto terminado.



CIBT

Es de esta manera que todas estas operaciones son soportadas y complementadas por las actividades que se realizan en el Departamento de Control de Calidad el mismo que se encarga de asegurar La Calidad del producto final a través de la realización de estrictos controles químicos y microbiológicos aplicados tanto a la materia prima donde se analiza químicamente el pescado que se receipta; como durante las etapas de limpieza del pescado donde se analiza microbiológicamente el pescado que en esta etapa es manipulado.

El departamento de control de calidad, específicamente el área de microbiología, desempeña actividades de mucha importancia como es el monitoreo del desarrollo normal de las actividades en cuanto al cumplimiento de buenas prácticas de manufactura y buenas prácticas de higiene por el personal que labora en planta; actividades que involucran en cuanto a niveles de contaminación, superficies de contacto, medio ambiente, agua utilizada para el proceso, etc., en general Control de calidad desarrolla día a día actividades dirigidas principalmente a prevenir situaciones riesgosas y de mala práctica que afecten la calidad del producto.

DETALLE DE LAS LABORES REALIZADAS

Las labores asignadas corresponden al Departamento de Control de Calidad que tiene como Jefe al Tnlgo. Juan Parra Lam.

El horario de trabajo asignado es de 8h00 a 16h30 de la mañana de lunes a viernes.

Las actividades realizadas se centran específicamente en el área de microbiología donde se realizan análisis microbiológicos al producto que está siendo procesado, como al producto terminado, además se analiza el agua utilizada en el proceso, superficies de contacto, manos de operarias que manipulan el pescado durante la etapa de limpieza, se preparan y esterilizan medios de cultivo y materiales que se utilizan.

La inspección de sanitación de áreas externas a la planta, es otra de las actividades que tiene a cargo el departamento de microbiología, actividad en la que pude intervenir con regularidad.

ASPECTOS GENERALES DE LA EMPRESA

HISTORIA

EMPESEC S.A. inició sus actividades en la industria del procesamiento del atún el 15 de Julio de 1991, bajo la supervisión de Star Kist Food, convirtiéndose en el mes de Septiembre en del mismo año en una empresa maquiladora oficialmente autorizada. Siendo a partir de aquello una empresa nacional e internacionalmente reconocida por la calidad de sus productos.

LOCALIZACIÓN

EMPESEC S.A. se halla situada en la ciudad de Guayaquil, en el kilómetro 12½ vía Daule.

MERCADO AL QUE SE DESTINA EL PRODUCTO

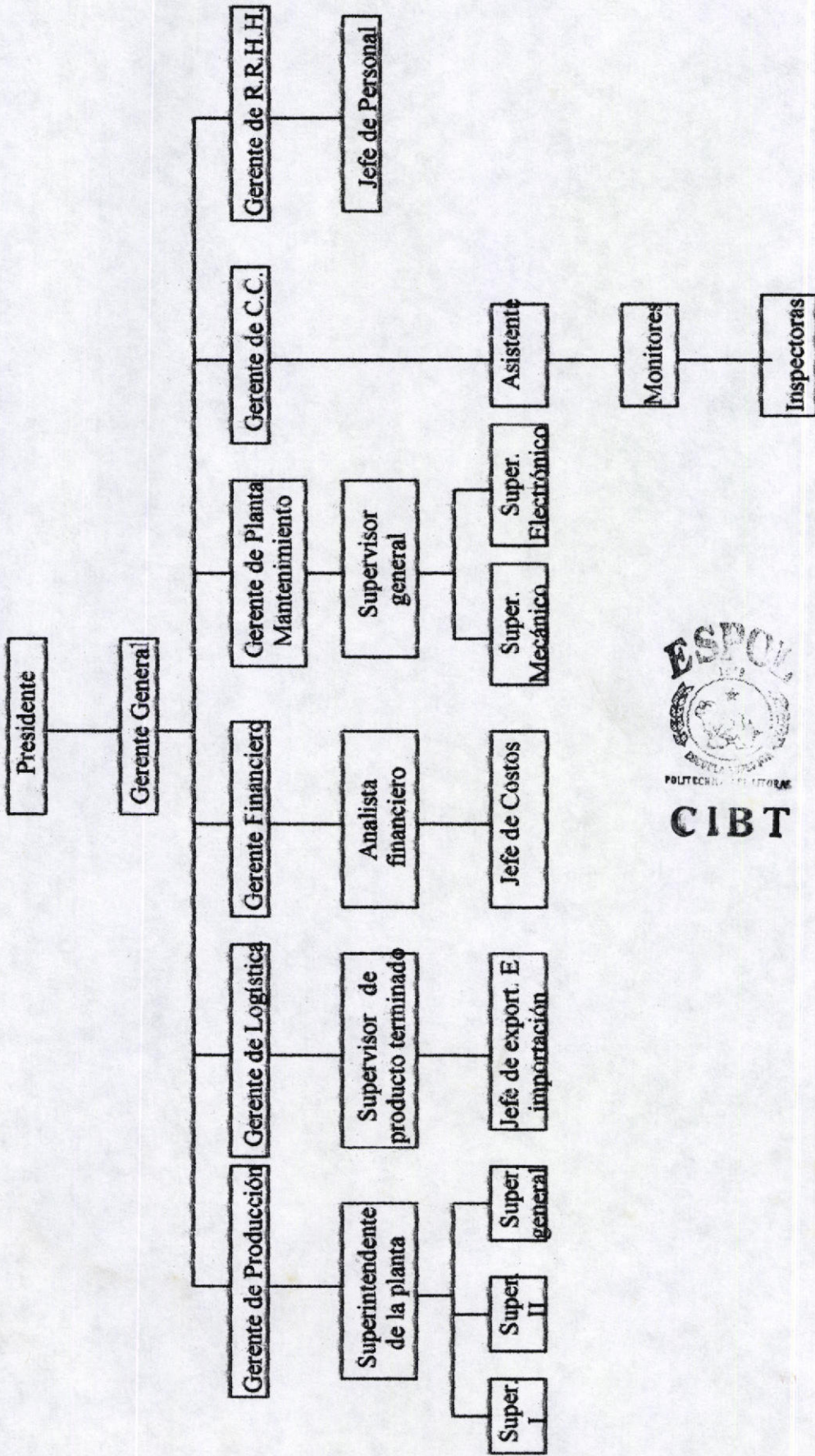
Los países a donde se destina su producto son: Brasil, Argentina, Colombia, Francia, Estados Unidos, Puerto Rico, Perú, Chile y Ecuador.

Además se envía producto por pedido a Europa.

TAMAÑO DE LA PRODUCCIÓN

El tamaño de la producción depende de la materia prima que se dispone, generalmente se producen 185 toneladas diariamente durante todo el año.

ORGANIGRAMA GENERAL



CIBT

DETALLE DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN

1. RECEPCIÓN

El atún es capturado por barcos especiales que cuentan con sistemas de congelación, en donde la carga obtenida de la faena es almacenada a una temperatura de 14°F (-10°C), con el fin de mantener la calidad de esta previo a la etapa de recepción.

Al llegar el pescado a la planta donde están localizadas las cámaras frigoríficas en la ciudad de Manta, se realizan inspecciones en donde se evalúan parámetros como temperatura, características organolépticas, presencia de contaminantes (contaminación por combustible), contenido de histamina, contenido de sal. Las cámaras frigoríficas tienen una capacidad de 2000 Tn.

El pescado es transportado a la planta procesadora en contenedores que cuentan con un sistema de refrigeración, donde el pescado es mantenido a una temperatura máxima de 22°F (-5,5°C), con lo que se logra mantener la calidad de la materia prima.

2. ALMACENAMIENTO

A la llegada a la planta el pescado es seleccionado y clasificado por tamaños colocándose en scouts de acero galvanizado para luego ser pesados codificándose de esta manera cada scout. Posteriormente estos scouts son conducidos a las cámaras frigoríficas de mantenimiento conservando el pescado a una temperatura de 22°F o menor hasta su posterior procesamiento. Las cámaras cuentan con una capacidad de 800 Tn.

3. DESCONGELAMIENTO

Los scouts son trasladados al área de desbuche y colocados en bloque de tres para descongelar el pescado por medio de un sistema cerrado de recirculación en donde el agua utilizada posee cantidades de cloro de 5 a 7 ppm y temperatura alrededor de 60°F (15,5°C). El pescado se descongela hasta alcanzar temperaturas de 28 - 38°F (-2,2°C - 0°C).

4. EVISCERADO - DESBUCHE

Una vez alcanzada la temperatura de descongelamiento, una máquina llamada volteador Dumper vacía los scouts, pasando el pescado por una etapa de lavado para inmediatamente ser eviscerados manualmente cuando el pescado es menor a 7,5 lb., de no ser así, a los pescados de mayor peso se les corta la cabeza, cola y panzas (las que se cocen separadamente), y luego se corta por el centro de forma vertical a lo largo de la espina dorsal siendo luego colocados sobre láminas denominadas "layers" dentro de canastas que se apoyan sobre carros - estantes denominados "racks".



5. PRECOCCIÓN

Los racks tienen capacidad para 18 canastas, y una vez llenos son conducidos hacia los hornos especiales para precocerlos por medio de vapor hasta temperaturas de 120°F - 145°F (48,8°C - 62,7°C), alcanzando el interior de los cocinadores temperaturas de 214°F (101°C); siendo muy importante que la temperatura de carga no sobrepase los 50°F (10°C).

El tiempo de cocción es de 45 minutos para pescados pequeños, y hasta 2 horas para especies grandes. Los hornos especiales tienen capacidad para 20 racks.

6. ENFRIAMIENTO

Las porciones cocidas son sacadas de los hornos especiales y son trasladados al área de enfriamiento (chill room), en donde por medio de unas duchas el pescado es rociado con agua, recibiendo un choque térmico de 5 minutos para luego de forma intermitente continuar rociando agua hasta alcanzar temperaturas de 80,6°F - 89,6°F (27°C - 32°C), con lo que se logra afirmar los tejidos facilitando las etapas de limpieza y separación de espinas.

7. LIMPIEZA

El pescado precocado y frío es volteado (poncheo) desde las canastas de los racks sobre las líneas de limpieza, donde manualmente con la ayuda de cuchillos especiales la piel es raspada

y la carne blanca y oscura es separada del esqueleto, utilizándose únicamente la carne blanca o clara del pescado (lomo).

8. LLENADO

De acuerdo al producto final, las porciones comestibles (lomos-carne blanca) se clasifican en carne compacta, trozos, rallada, desmenuzada, y se transfieren a la zona de llenado automático: para lomos/lomitos, para trozos, para rallado de 15 - 25%, obteniéndose la característica bocaditos o trocitos, rallado y desmenuzado.

9. ADICIÓN DE LÍQUIDO DE COBERTURA

Una vez llenas las latas con las diferentes presentaciones (*loins, flake, chunk), son conducidas hacia la zona de dosificación, en donde la máquina ya calibrada para dosificar el peso correspondiente de la mezcla de broth (según tamaños de latas) adiciona dicho líquido.

Con este peso ya standarizado en la máquina dosificadora se evita excesiva acumulación de presión que provocaría daño en el doble cierre.

* (lomo, desmenuzado, trozo)

10. SELLADO

Las latas ya llenas pasan hacia la máquina selladora, la misma que tiene incorporado un mecanismo de flujo de vapor, al tiempo que se produce la aspiración del aire retenido en el envase. De igual manera la máquina tiene incorporado un mecanismo de codificación para así sellar y codificar (por medio de *marquilla) al mismo tiempo las latas.

El sellado en caliente de los envases favorece a que se contrarreste la presión generada por el calentamiento del contenido de la lata hasta la temperatura de tratamiento.

* sello en alto relieve que describe el código.



11. ESTERILIZACIÓN

Las latas una vez selladas herméticamente se cargan de forma manual en cestas que son luego transportadas a los autoclaves discontinuos a vapor saturado y enfriamiento a presión alcanzando temperaturas de 242°F (118°C) y 11 PSI, dependiendo el tiempo del tamaño y peso del envase, de la forma de presentación o tipo de producto.

LATAS DE 1/4 LIBRA	PRODUCTO	TIEMPO(MIN)	TEMPERATURA (°F)
SAW	SÓLIDO ALBACORA CON AGUA/BROTH	50	242
SYW/KEW	SÓLIDO Y/F EN AGUA/BROTH	50	242
LATAS DE 1/2 LIBRA			
SIW	SÓLIDO ALBACORA CON BROTH	55	242
SAW	SÓLIDO ALBACORA CON BROTH	55	242
SLW	SÓLIDO ALBACORA CON BROTH	55	242
LATAS DE 4 LIBRAS			
SAW	SÓLIDO ALBACORA CON AGUA/BROTH	190	242
SKW	CHUNG ALBACORA	190	242

En esta etapa es importante que no transcurra más de una hora entre el llenado del envase y el tratamiento térmico.

12. ENFRIAMIENTO

Al finalizar el tratamiento térmico, los envases son enfriados a presión hasta temperaturas menores de 40°C (centro del envase). En esta etapa se presta importante atención a los niveles de cloro del agua de enfriamiento los cuales se sitúan entre 0,5 a 1 ppm. Lo que garantiza que no exista posteriores contaminación.

Una vez concluido el tratamiento térmico, se sacan las cestas y se secan a temperatura ambiente de forma inclinada durante aproximadamente 1 hora, para luego trasladarlas al área de etiquetado.

Una vez que las latas están frías, se toman muestras al azar de cada lote y se realizan la verificación del cumplimiento de las especificaciones del producto final.

13. ETIQUETADO Y ENCARTONADO

Las latas son conducidas hacia el área de etiquetado, donde automáticamente se adhieren las etiquetas. Las gomas calientes y frías son las que se utilizan para este proceso. Una vez adheridas las etiquetas a los envases, estos son envalados en cajas de cartón correctamente identificadas; dependiendo las unidades en cada caja de las dimensiones de las latas, para luego paletizarse y almacenarse.

14. ALMACENAMIENTO

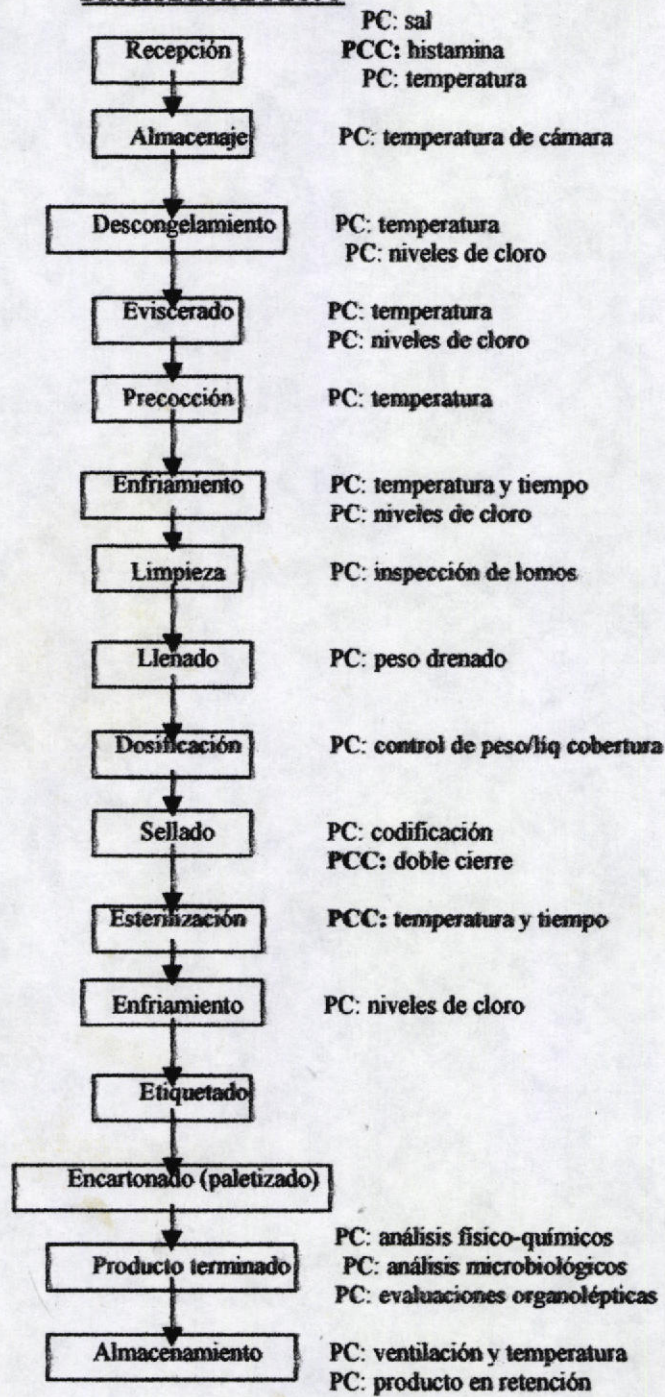
Las conservas son almacenadas sobre pallets, los cuales son colocados a una distancia de 45 cm de las paredes y en pilas evitando al mismo tiempo la compresión y deformación de los envases ubicados en las capas inferiores.

Cuando existan lotes defectuosos serán aparte identificados y permanecerán en la bodega de *"hold" hasta su liberación o de lo contrario serán destruidos.

* hold: producto en espera.



DIAGRAMA DE FLUJO



PUNTOS DE CONTROL

1. ETAPA DE RECEPCIÓN

EVALUACIÓN FÍSICA

Se realiza a la llegada de cada lote de materia prima con el objetivo de determinar las condiciones de calidad en que llega el pescado (evaluación organoléptica).

El pescado en buenas condiciones presenta las siguientes características:

- Piel (En general aspecto brillante con color natural)
- Ojos (brillantes, claros, prominentes)
- *Branquias (Olor a marisco, color rojo intenso)
- Carne muscular (propia de la especie)
- Olor (a marisco fresco en la piel y cavidades corporales)
- Contaminación por combustible. (debe estar exento de contaminantes).

*Durante la evaluación se presta principal atención a las branquias del pescado.

DETERMINACIÓN DE HISTAMINA (PCC)

Se realiza a la llegada de cada carga con el objetivo de verificar el estado de frescura o deterioro en que llega el pescado.

Menor a 1,7 mg%	lote aceptable
Mayor o igual a 1,7 mg%	rechequeo de compositas y muestras individuales
Menor o igual a 2 mg%	proceso normal.
2 a 5 mg%	aceptable con *SH por histamina.
Mayor o igual a 5 mg%	rechazo.

* Proceso Special handling.

DETERMINACIÓN DE SAL

Se realiza a la llegada de cada carga con el objeto de determinar las cantidades de sal presentes en el pescado.

1,21 - 2,26% (todo proceso)

2,27 - 3,22% STD

Mayor o igual a 3,23% sujeto a rechazo o negociación.



CIBT

DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA

Se realiza a la llegada de cada carga de materia prima con el objetivo de verificar que la temperatura interna del pescado durante La transportación haya sido la adecuada: menor o igual a 22 °F (-5,5°C).

2. ETAPA DE ALMACENAMIENTO

DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA

Se realiza un control cada 2 horas de la temperatura en las cámaras de frío las cuales deben encontrarse de 0°F a 10°F (-17,7°C a -12,2°C), con el objeto de mantener el pescado a temperaturas inferiores o iguales de 22°F (-5,5°C) hasta el momento de su procesamiento.

3. ETAPA DE DESCONGELAMIENTO

DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA

Se realiza la toma de temperatura al primer scout que ingresa al área, con el objeto de controlar la temperatura de descongelamiento a la que debe llegar el pescado para continuar hacia la etapa de Desbuche 28°F a 32°F (-2,2°C a 0°C).

La velocidad de descongelamiento depende del tamaño del pescado y de la temperatura en que ingresa cada lote al área para ser descongelado:

TAMAÑO POR PESO	T° INICIAL	T° FINAL	TIEMPO DE DESCONGELAMIENTO
20 LIBRAS	5,5°C	2,2°C	3 HORAS, 15 MINUTOS
7,5 LIBRAS	5,5°C	2,2°C	1 HORA, 35 MINUTOS
4 A 7 LIBRAS	5,5	2,2°C	1 HORA

DETERMINACIÓN DE CLORO

Se realiza cada 2 horas al agua utilizada para descongelar el pescado, la misma que proviene de la cisterna general de agua potable, y que por estar en contacto directo con el producto debe contener de 5 a 7 ppm de cloro.

4. ETAPA DE DESBUCHE Y RACKEO

DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA

Se verifica que la temperatura de desbuche se encuentre dentro de los parámetros anteriormente indicados.

DETERMINACIÓN DE CLORO

Se realiza el control de las cantidades de cloro existentes en el agua de la cisterna general 2 veces al día, las cuales deben estar entre 0,8 ppm a 1,5 ppm.

5. ETAPA DE PRECOCCIÓN

DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA

Se realiza durante la precocción de cada lote, donde la temperatura alcanzada dentro de los cocinadores es de 214°F (101°C), la temperatura al momento de la carga debe ser máximo



50°F/ 10°C., siendo la temperatura de descarga (temperatura alcanzada en la espina dorsal) de 120°F - 145°F (48,8°C - 62,7°C).

6. ETAPA DE ENFRIAMIENTO

DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA Y TIEMPO

Se realiza a varios lotes tomados al azar los mismos que se encuentran en el chill room o cuarto de enfriamiento, Se controla la temperatura y tiempo, donde el pescado debe alcanzar de 80,6°F a 89,6°F (27°C a 32 °C), por 5 minutos (evitar excesiva cocción), luego se rocía de manera intermitente por 2 minutos cada 15 minutos para luego ser llevado hacia el área de limpieza.

DETERMINACIÓN DE CLORO

Se realiza análisis dos veces al día para determinar que las cantidades de cloro del agua procedente de la cisterna general contengan las adecuadas cantidades de cloro: 0,8 ppm a 1,5 ppm.

7. ETAPA DE LIMPIEZA

INSPECCIÓN DE LOMOS

Se realiza cada hora tomando al azar una bandeja en cada una de las líneas con el objeto de inspeccionar defectos de limpieza, espinas, sangre, piel, decoloración; se inspecciona la carne roja (sangre) y la carne blanca (lomos).

8. ETAPA DE LLENADO

CONTROL DE LLENADO

Se realiza a medida que las latas son llenadas, tomando al azar diez latas y verificando el peso, haciendo luego un promedio para obtener las desviaciones controlándose de esta manera la graduación de la máquina.

9. ETAPA DE DOSIFICACIÓN DE BROTH

CONTROL DEL LÍQUIDO DE COBERTURA

Se realiza cada 15 minutos durante la dosificación de las latas; se toman muestras al azar y se verifica que el peso de la mezcla de broth se encuentre entre los rangos permitidos dependiendo de los empaques. (ver anexo # 1).

10. ETAPA DE SELLADO

CONTROL DE CÓDIGO

Se realiza al inicio de cada turno o cambio de empaque con el objeto de verificar la correcta codificación en base a: presentación del producto, especie de pescado, turno en que fue procesado dicho lote, línea de donde proviene el producto.

LÍNEA SUPERIOR	
PRIMERA POSICIÓN	PAÍS DE FABRICACIÓN
SEGUNDA, TERCERA Y CUARTA POSICIÓN	FECHA DE FABRICACIÓN
QUINTA POSICIÓN	AÑO DE FABRICACIÓN
LÍNEA INFERIOR	
PRIMERA POSICIÓN	TIPO DE PRODUCTO S,K,F
SEGUNDA POSICIÓN	TIPO DE PESCADO
TERCERA POSICIÓN	LÍQUIDO DE COBERTURA
CUARTA POSICIÓN	LÍNEA DE PRODUCCIÓN Y SELLADO
QUINTA POSICIÓN	HORA

La codificación de la segunda fila es expresada en números los cuales tienen el siguiente significado: E = EMPESEC, a continuación el día de elaboración, año L = 2002.

CONTROL DEL DOBLE CIERRE (PCC)

Se realiza cada media hora tomando 4 muestras de latas selladas que está calculado de acuerdo al número de cabezales que posea la máquina selladora.

Según los resultados analizados por método del micrómetro, se puede realizar las respectivas calibraciones a la máquina. (ver anexo # 2).

11. ETAPA DE ESTERILIZACIÓN (PCC)

CONTROL DE LA TEMPERATURA DE ESTERILIZACIÓN

Se realiza cada vez que se efectúa la esterilización de las latas, con el objetivo de controlar y verificar en los termógrafos que la temperatura del tratamiento sea la adecuada.

CONTROL DE CLORO EN AGUA DE ENFRIAMIENTO

Se realiza cada 2 horas con el objetivo de determinar los niveles de cloro del agua del sistema de enfriamiento los que deben ser de 0,5 a 1,5 ppm.

CONTROLES DE CALIDAD FINALES

Se realizan cada vez esterilizadas las latas. Se toman muestras al azar de cada lote y se las somete a inspecciones visuales (condiciones externas del envase), evaluaciones organolépticas (olor, color, sabor); análisis físicos (pH, vacío, peso); químicos (histamina, sal); y microbiológicos (C.T., APC, E. coli, estabilidad) con el fin de garantizar que el producto procesado es inocuo, que cumple con las especificaciones de los clientes para sólo de esta forma ser liberados para su despacho y distribución.

12. ETAPA DE ETIQUETADO, ENCARTONADO Y ALMACENAMIENTO



CIBT

El departamento de Control de calidad maneja el área de bodegas, donde constantemente se realizan controles como el ingreso de etiquetas, etiquetado de latas, defectos de golpes en latas al salir de la máquina etiquetadora, en general se realiza un control al producto terminado.

Una vez el producto ingresado a bodegas, es también controlado, enfatizando los controles cuando se trata de productos retenidos por algún defecto, los mismos que se someterán a mayores controles con la finalidad de liberar, reprocesar o destruir aquellos productos.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS.

OBJETIVOS

* Los análisis microbiológicos practicados al producto terminado tienen como objetivo verificar que éste sea inocuo, que el mismo esté libre de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas, así como también esté libre de microorganismos sin relevancia en la salud pública.

* Mediante los análisis microbiológicos realizados durante el procesamiento del pescado, se asegura que cada una de las etapas sean ejecutadas, atendiendo las normas de Ascéptica e Higiene (SSOP) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

COLIFORMES Y E. COLI COMO INDICADORES DE LA CALIDAD HIGIÉNICA DEL PRODUCTO.

El índice de coliformes es utilizado para determinar la calidad higiénica de los alimentos, puesto que una contaminación por tales microorganismos, asegura que ésta es de origen fecal. Por tal motivo los organismos coliformes son considerados como indicadores de unas buenas prácticas de higiene durante cada etapa del proceso.

De esto se deriva que E. coli cepas enteropatógenas, productoras de toxiinfecciones alimentarias, consideradas como coliformes son al mismo tiempo un indicador de contaminación proveniente de heces de individuos.

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES Y E. COLI

FUNDAMENTO

El crecimiento de colonias bajo condiciones adecuadas de temperatura en las placas petrifilm, se fundamenta en la utilización por parte de los microorganismos de nutrientes como el Violeta Rojo Bilis (V.R.B), un agente gelificante soluble en agua, un indicador de la actividad

glucoronidasa (5 bromo-4-cloro-3-indolili-B-D-glucoronido) (B.C.I.G), y un indicador tetrazolio que facilita la numeración de colonias.

El medio de cultivo para preparar las diluciones de la muestra actúa enriqueciendo el medio. (ver anexo # 3).

ALCANCE

Aplicable a lomos de pescado limpio y producto terminado.

MATERIALES

Espátulas

Stomacher.

Fundas stomacher .

Balanza

Pipetas de 1 ml. y 2 ml y/o puntas de 1 ml.

Tubos de ensayo

Frascos para diluciones de 250 ml.

Gradilla

Pipeteador manual

Placas petrifilm (coliformes/E. coli).

Estufa a 37°C.

Cámara de flujo laminar



SUSTANCIAS

Alcohol

Agua de peptona tamponada

Lomo de pescado limpio

PROCEDIMIENTO

1. pesar 25 gr. de la muestra dentro de una funda stomacher utilizando una espátula.

2. Agregar agua de peptona tamponada hasta completar 250 ml.
3. Colocar la funda stomacher con la muestra dentro de la máquina stomacher.
4. Agitar por espacio de 30 segundos.
5. Retirar la muestra de la máquina.
6. Llevar la muestra a la cámara de flujo laminar para proceder a la siembra.
7. Tomar 1 ml. de la muestra por medio de una pipeta estéril y con la ayuda de un pipeteador manual. (dilución 1:10), sembrar sobre una placa petrifilm para determinación de Coliformes/E. coli.
8. Tomar 1 ml. de dilución 1:10 y trasvasar a un tubo de ensayo que contenga 9 ml de agua de peptona tamponada. (dilución 1:100).
9. Tomar 1 ml. de la dilución 1:100 y sembrar sobre placa petrifilm para determinación de Coliformes/E. coli.
10. Incubar las placas en una estufa a 37°C por 24 horas.
11. Leer las placas haciendo uso de una fuente de luz con aumento y reportar los resultados (ver anexo # 4 y 5).

EJEMPLO

Line	Time	Code	Lot	Boat	Spice	C.total(cfu/cm ²)	E. Coli.(cfu/cm ²)
Línea 1	9H00	Lomo limpio	76	Mirelur	*B/E	2 x 10	Ausencia
Línea 3	12H45	Lomo limpio	77	Elizabeth	*Y/F	6 x 10	1 x 102

* Bigeye Tunna.

* Yellowfin Tunna.

PARÁMETROS: (ver anexo # 6).



CIBT

AEROBIOS COMO INDICADORES DE LA CALIDAD SANITARIA DE LOS ALIMENTOS.

El recuento total APC, tiene como objetivo fundamental verificar que las condiciones de manipulación, estado de calidad de la materia prima, condiciones higiénicas, etc. durante el procesamiento, estén ejecutándose de acuerdo a los estatutos de la empresa.

DETERMINACIÓN DE AEROBIOS

FUNDAMENTO

El crecimiento de organismos aerobios se evidencia debido a la degradación de los nutrientes presentes tanto en la placa petrifilm (peptona de caseína, extracto de levadura, D (+) glucosa, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador químico: tricloruro de trifetil tetrazolio (TTC); así como en el agua de peptona utilizada para preparar las respectivas diluciones de la muestra que se utiliza. (ver anexo # 3).

ALCANCE

Aplicable a muestras de lomo de pescado limpio y producto terminado.

MATERIALES

Pipetas estériles de 1 ml y 2 ml.

Puntas de 1 ml.

Pipeteador manual

Tubos de ensayo

Gradilla

Espátulas

Balanza

Frascos para diluciones de 250 ml.

Aplicador para aerobios

Bolsas stomacher

Máquina stomacher



Incubadora a 37 °C.

Cámara de flujo laminar

SUSTANCIAS

Alcohol

Agua de peptona tamponada

Lomo de pescado limpio

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 25 gr. de la muestra dentro de una funda stomacher utilizando una espátula.
2. Agregar agua de peptona tamponada hasta completar 250 ml.
3. Colocar la funda stomacher con la muestra dentro de la máquina stomacher.
4. Agitar por espacio de 30 segundos.
5. Retirar la muestra de la máquina.
6. Llevar la muestra a la cámara de flujo laminar para proceder a la siembra.
7. Tomar 1 ml. de la muestra por medio de una pipeta estéril y con la ayuda de un pipeteador manual. (dilución 1:10), sembrar sobre una placa petrifilm para determinación de Coliformes/E. coli.
8. Tomar 1 ml. de dilución 1:10 y trasvasar a un tubo de ensayo que contenga 9 ml de agua de peptona tamponada. (dilución 1:100).
9. Tomar 1 ml. de la dilución 1:100 y sembrar sobre placa petrifilm para determinación de Aerobios.
10. Incubar las placas en una estufa a 37°C por 48 horas.
11. Leer las placas haciendo uso de una fuente de luz con aumento y reportar los resultados (ver anexo # 7).

EJEMPLO

Date	Time	Code	Lot	Boat	Spice	APC(cfu/cm²)
-------------	-------------	-------------	------------	-------------	--------------	--------------------------------

12H30 a.m. CBWCL E081L

< 10

12H30 a.m. KBWAK E081L

< 10

PARÁMETROS: (ver anexo # 6).



PROCEDIMIENTO DE MONITOREO AMBIENTAL MUESTREO DE AIRE.

FUNDAMENTO:

El crecimiento de microorganismos presentes en el ambiente se fundamenta en la utilización de los nutrientes contenidos en la placa petrifilm, previamente hidratadas con agua de peptona tamponada. (ver anexo # 3)

ALCANCE:

Prueba realizada a medio ambiente – muestreo de aire

MATERIALES:

Placas petrifilm para recuento de Aerobios, coliformes/E. coli.

Pipetas estériles de 1 ml.

Cinta adhesiva.

Tubos de ensayo

Gradilla

Cámara de flujo laminar

Incubadora a 37°C.

SUSTANCIAS

Agua de peptona tamponada.

PROCEDIMIENTO:

1. Hidratar las placas para recuento de Aerobios con 1 ml. de agua de peptona tamponada.
2. Dejar que permanezcan cerradas por lo menos 1 hora antes de usarlas. No es necesario que el gel esté solidificado completamente.
3. Levantar el film superior y sostenerlo con la ayuda de una cinta adhesiva en el lugar donde se va a realizar el monitoreo ambiental, cuidando de no tocar el área circular de crecimiento.
4. Exponer las placas por espacio de 15 minutos.



5. Incubar a 37°C por espacio de 48 horas.
6. Contar las colonias presentes con la ayuda de una fuente de luz e interpretar los resultados. (ver anexo # 4, 5 y 7).

EJEMPLO

Time	Sample	APC(cf _u /cm ²)	C. Totales(cf _u /cm ²)	E. coli (cf _u /cm ²)
14H30	Línea 1	2,4 x 10	0	Ausencia
14H28	Línea 2	5,4 x 10	0	Ausencia
14H25	Línea 3	3,3 x 10	0	Ausencia
14H23	Línea 4	2,6 x 10	0	Ausencia
14H35	Enlatado (línea D)	7,3 x 10	0	Ausencia
14H38	Enlatado (línea A)	7,1 X 10	0	Ausencia



PARÁMETROS: (ver anexo # 6)

NOTA: Almacenar las Placas Petrifilm hidratadas en bolsas plásticas selladas con cinta. Proteger las placas de la luz (se puede usar el empaque original) y refrigerar de 2-8°C (36-46°C).

Las placas de Recuento Aeróbico hidratadas pueden ser refrigeradas por un máximo de 14 días.

METODO DE CONTACTO DIRECTO.

FUNDAMENTO:

El crecimiento de microorganismos se fundamenta en la utilización de los nutrientes presentes en la placa petrifilm, previamente hidratadas con caldo letheen libre de bisulfitos el mismo que neutraliza efectivamente los sanitizantes ácidos, halógenos y cuaternarios de amonio. (ver anexo # 3)

ALCANCE:

Aplicable a todas aquellas superficies que entran en contacto directo con el producto.

MATERIALES:

Placas petrifilm para recuento de Aerobios, Coliformes totales/E. coli.

Cinta adhesiva

Pipetas estériles de 1 ml.

Pipeteador manual.

Tubos de ensayo

Gradilla

Incubadora a 37°C

Cámara de flujo laminar



CIBT

SUSTANCIAS

Alcohol

Caldo litheen libre de bisulfitos

PROCEDIMIENTO

1. Hidratar las placas petrifilm a ser utilizadas con 1 ml. de caldo litheen libre de bisulfitos.
2. Dejar reposar por 1 hora antes de utilizar las placas.
3. Levantar el film superior y contactar la porción del gel situada en el film superior con la superficie a analizar.

4. Frotar con los dedos la parte exterior del área gelificada para asegurar un buen contacto con la superficie.
5. Dejar caer suavemente el film superior de la placa.
6. Incubar a 37°C por 24 y 48 horas para Coliformes totales/E.coli y Aerobios respectivamente.
7. Leer los resultados con la ayuda de una fuente de luz e interpretarlos según la guía. (ver anexo # 4, 5 y 7).

EJEMPLO

Time	Sample	A.P.C. (cfu/cm ²)	C. Total (cfu/cm ²)	E. coli (cfu/cm ²)
7:10 a.m.	Línea 1	MNPC	6	Ausencia
7:08 a.m.	Línea 2	1,1 x 10	0	Ausencia
6:59 a.m.	Línea 3	2,4 x 10	0	Ausencia
6:55 a.m.	Línea 4	MNPC	8	Ausencia

PARÁMETROS: (ver anexo # 6).

Nota: A veces, el gel se puede romper (adhiriéndose tanto al film superior como inferior) cuando se levanta el film superior. Este rompimiento del gel no afectará el resultado de las placas que se usen para muestreo de aire, pero no deben usarse para el monitoreo por contacto directo.



TOMA DE MUESTRA DE MANOS

FUNDAMENTO

El crecimiento de microorganismos Aerobios, Coliformes/E. coli se fundamenta en la utilización por parte de la flora microbiana presente en las manos del personal de limpieza del pescado, de los nutrientes contenidos en la placas pretrifilm, como también la utilización de nutrientes que aporta el caldo letheen utilizado en las diluciones. (ver anexo # 3).

ALCANCE

Aplicable a la superficie de las manos del personal de líneas que realizan la limpieza del pescado.

MATERIALES

Quick Swabs (isopos).

Marcador permanente para rotulación de muestras.

Placas petrifilm para recuento de Aerobios, Coliformestotales/E. coli.

Pipetas estériles de 1 ml.

Pipeteador manual.

Incubadora a 37°C

Cámara de flujo laminar

Tubos de ensayo

Gradilla

SUSTANCIAS

Alcohol

Caldo letheen libre de bisulfitos.

PROCEDIMIENTO: (ver anexo # 8)

1. Preparar el swab sosteniéndolo con el bulbo cerca del dedo pulgar.
2. Presionar los lados del bulbo y doblar a un ángulo de 45° hasta que se escuche que se rompa la válvula.



3. Apretar el bulbo para forzar que todo el caldo letheen pase al interior del tubo del swab.
4. Girar y tirar del bulbo a que salga del tubo.
5. Sostener el swab en un ángulo de 30° con respecto a la superficie a muestrear,
6. Frotar el swab lenta y completamente por la superficie de los dedos, uñas y entrededos del personal.
7. Después de realizar el muestreo, insertar el swab nuevamente en el tubo y transportar al laboratorio para ser inoculado.
8. En el laboratorio agitar vigorosamente el swab para liberar las bacterias de la punta del swab.
9. Exprimir el contenido del swab presionando y girando el contenido del swab contra la pared interna del tubo.
10. Vaciar cuidadosamente el contenido del tubo sobre la placa petrifilm para recuento de Coliformes totales/E. coli.
11. Se pueden preparar diluciones a partir del contenido del tubo con la muestra:
 - Pipetear el contenido del swab (1 ml.) a un tubo de ensayo conteniendo 9 ml. de letheen (dilución 1:10) y agitar.
 - Tomar 1 ml de la dilución 1:10 e inocular sobre la placa petrifilm, levantando ante el film superior.
 - Tomar 1 ml. de la dilución anterior y trasvasarlo a un tubo que contenga 9 ml. de letheen (dilución 1:100) y agitar.
 - Tomar 1 ml de la dilución 1:100 e inocular sobre la placa petrifilm, levantando antes el film superior.
 - Tomar 1 ml. de la dilución anterior y trasvasar a un tubo que contenga 9 ml de letheen (dilución 1:1000) y agitar.
 - Tomar 1 ml. de dilución anterior e inocular sobre la placa petrifilm, levantando antes el film superior.
12. Incubar por 24 horas a 37°C.
13. Leer los resultados e interpretarlos con la ayuda de una fuente de luz según la guía. (ver anexo # 4,5 y7).

EJEMPLO



Time	Sample	A.P.C. (cfu/cm ²)	C.T(cfu/cm ²)	E. coli (cfu/cm ²)
12:30 a.m.	Línea 4	1 x 10	<10*	Ausencia
	Línea 2	4,8 x 10	3 x 10	Ausencia
	Línea 4	6,9 x 10	4,5 x 10	Ausencia
	Inspectora Q.C.	6 x 10	3 x 10	Ausencia
	Inspectora Q.C.	8 x 10	<10	Ausencia
	Línea 4	8,7 x 10	<10	Ausencia
	Línea 2	MNPC	<10*	Ausencia
	Línea 4	2,4 x 10	<10	Ausencia

Comments: MNPC. Muy numeroso para contar

*Presentan colonias gram negativas no coliformes.

Muestreo realizado en la entrada principal a lineas de limpieza después del lavado y desinfección de manos. Personal femenino.

PARÁMETROS: (ver anexo # 6).

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE AGUAS

FUNDAMENTO

El crecimiento de microorganismos se fundamenta en la degradación del medio nutritivo impregnado en las placas petrifilm,; y a la no interferencia de compuestos clorados presentes en el agua gracias al medio Caldo de Lethen. (ver anexo # 3).

ALCANCE

Aplicable a agua de cisterna general (potable); y agua de pozo.

MATERIALES

Fundas para muestreo

Placas petrifilm para recuento de Coliformes totales/E. coli y Aerobios.

Pipetas estériles de 1 y 2 ml. y/o puntas de 1 ml.

Pipeteador manual

Tubos de ensayo

Gradilla

Incubadora a 37°C

Cámara de flujo laminar



SUSTANCIAS

Alcohol

Caldo de letheen

PROCEDIMIENTO

1. Tomar 1 ml. de muestra con la ayuda de una pipeta estéril y trasvasar a un tubo de ensayo que contenga 9 ml. de caldo letheen (dilución 1:10), y agitar.
2. Tomar 1 ml de la dilución 1:10 e inocular sobre la placa petrifilm, levantando antes el film superior.
3. Tomar 1 ml de la dilución anterior y trasvasar a un tubo que contenga 9 ml de caldo letheen. (dilución 1:100), y agitar.

4. Tomar 1 ml de la dilución anterior e inocular sobre la placa petrifilm.
5. Tomar 1 ml de la dilución anterior y trasvasar a otro tubo con 9 ml. de caldo letheen: (dilución 1:1000), y agitar.
6. Tomar 1 ml. de la dilución anterior e inocular sobre la placa petrifilm.
7. Incubar a 37°C por 24 y 48 horas para Coliformes/E. coli y Aerobios respectivamente.
8. Leer e interpretar los resultados de acuerdo a la guía. (ver anexo # 4, 5 y 7).



EJEMPLO

Time	Sample	A.P.C.(ufc/cm)	C.T.(ufc/cm)	E. coli (ufc/cm)
14:30 p.m.	Pozo	4	0	Ausencia
	Cisterna Empesec	0	0	Ausencia
	Cisterna Incopeca	1 x 10	0	Ausencia

PARÁMETROS: (ver anexo # 6)

ENSAYOS DE INCUBACIÓN- ESTABILIDAD

FUNDAMENTO:

Estos ensayos se fundamentan en la aplicación de temperaturas adecuadas (55° y 37°C) que requieren los microorganismos mesófilos y termófilos para poder crecer y desarrollarse si existiese contaminación de los envases que se van a analizar.

MATERIALES

Estufa a 55°C y 37°C.

MUESTRA

2 latas de atún por cada código que se elabora. (producto terminado).

PROCEDIMIENTO

1. Pesar las muestras (latas) y rotular con el peso y la fecha de incubación.
2. Llevar las muestras al interior de la estufa a 55°C para seguimiento de posible presencia de organismos mesófilos; y a 37 °C para seguimiento de posible presencia de organismos termófilos.
3. Dejar que las muestras permanezcan en el interior de la incubadora por el lapso de 5 días para evaluación de mesófilos, y 15 días para la evaluación de termófilos.
4. Transcurridos los días respectivos, sacar las muestras y observar visualmente si se ha manifestado cambio alguno.
5. Las muestras sometidas a temperaturas de 37°C son luego analizadas microbiológicamente; mientras que las muestras sometidas a 55°C son analizadas para determinar pH, defectos externos en las latas y vacío.
6. Reportar los resultados en la hoja de registro correspondiente. (ver anexo # 14).

EJEMPLO

Número de muestra	Código	Condiciones del sello	pH	Peso (g)	Prueba estabilidad	Vacío
1	SAWDC E121L	OK	6	206,4	OK	7
2	CBWCC E121L	OK	5,8	205,0	OK	5

PARÁMETROS:

VACÍO: 5,0 - 9,0

pH: max. 8

Nota: El objetivo de estas pruebas de estabilidad es efectuar controles, que si bien no se deben tomar como únicos criterios para determinar la inocuidad del producto, representan un medio de información valiosa en cuanto a la efectividad del tratamiento térmico. Estos registros representan también información que evidencia los controles complementarios que se realizan para garantizar una vez más la inocuidad del producto.



CIBT

INSPECCIONES SANITARIAS PRE INICIO DIARIO



OBJETIVO

El departamento de microbiología perteneciente al área de Control de Calidad, tiene a su cargo la verificación diaria de las buenas prácticas de Sanitación e Higiene; las mismas que tienen importante relevancia por cuanto a través de esta actividad se puede prevenir cualquier situación que represente un riesgo para el producto durante el proceso y como producto terminado.

DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES

Diariamente y alrededor de las 10h30 de la mañana se realiza la inspección visual de las áreas exteriores a la planta.

Se realiza un recorrido junto a un representante del departamento de Sanitación confirmando que las actividades expuestas en la hoja de registro se hallan desarrollado con regularidad.

En caso de encontrarse alguna situación no satisfactoria, ésta será corregida inmediatamente por personal del área. Sólo de esta forma se procederá a tomar como corregida la acción lo cual será evidenciado en la hoja de registro correspondiente. (ver hoja de registro, anexo # 9); caso contrario se reportará de la acción no satisfactoria o reincidente al jefe inmediato superior del Departamento de Control de Calidad y de Producción.

Estos documentos serán archivados en caso de evidenciar las acciones sucedidas anteriormente durante las auditorias.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La gran aceptación de los productos a nivel internacional es el resultado del gran esfuerzo realizado por todos los miembros que pertenecen a EMPESEC, lo que refleja la elaboración de un producto de gran calidad.

Para seguir manteniendo esta gran aceptación es necesario tomar en cuenta que:

- * Debe existir un mayor control durante los procesos de codificación para así evitar equivocaciones que constituyan pérdidas de tiempo y la realización de actividades opcionales no inmersas en el proceso.
- * Es necesario poner mayor énfasis en la capacitación dirigida hacia el personal; cada miembro debe de ser consciente de la labor que desempeña, **cómo lo debe hacer, y por qué lo hace.**
- * Es importante el trabajo en equipo y la integración entre los diferentes departamentos involucrados en el proceso productivo para lograr un mejor desempeño que conduzca hacia el mejoramiento continuo.
- * Se debe realizar las tareas de Higiene y Sanitación en general con clara visión del **por qué se lo hace y la importancia que tiene el hacerlo.**

En conclusión y como criterio personal, considero que todas aquellas personas involucradas directamente en la elaboración de un producto tiene que poseer una clara visión de la responsabilidad que involucra elaborar un producto alimenticio dirigido al consumidor.

BIBLIOGRAFÍA:

Manual de Medios de Cultivo. MERCK. Alemania, 1994.

WATSON rhenania. Manual Doble Cierre.

WWW.industriaalimentaria.com

Guías de Interpretación. 3M PETRIFILM.

MUÑOZ Ingrid. Informe de Prácticas Profesionales. Escuela Superior Politécnica, 1995.

Manual de Procesos de Elaboración de Conservas. EMPESEC.

TOROSONA José María. Microbiología Moderna de los Alimentos. 2º edición española. Editorial Acibia. Zaragoza (España).

REES. J.A.G.; BETTINSON J. Procesado Térmico y envasado de los Alimentos. Editorial Acibia S.A. Zaragoza (España).

ANEXOS

ANEXO # 1

BROTH

Mezcla de extracto vegetal (soya, papa y zanahoria) el cual es reconstituido y usado como un caldo vegetal en productos enlatados de pescado.

Este producto presenta una elevada capacidad de absorción de agua y es fácilmente dispersable en una solución de salmuera. Proporciona una elevada calidad y adecuado sabor y aspecto al producto.

EXAMEN DEL DOBLE CIERRE.- MEDIDAS



CIBT

0. Introducción

Sucede con frecuencia que un cierre aparentemente normal y dentro de especificaciones en sus medidas exteriores, presenta, al efectuar un análisis más completo, una serie de defectos que lo hacen incorrecto.

Por tanto, es necesario su evaluación con objeto de garantizar su estanqueidad y hermeticidad.

El examen de un doble-cierre comprende cuatro fases, aportando, cada una de ellas abundante información cualitativa y cuantitativa. Estas son:

1. Examen visual y Medidas Exteriores.
2. Desmontaje del cierre y Medidas Interiores.
3. Seccionamiento del cierre y Medidas Interiores directas.
4. Detección de fugas.

Cualquier evaluación de un cierre requerirá el empleo de instrumental adecuado, el cual debe, a su vez, estar calibrado, de modo que el cero esté correctamente ajustado, efectuándolo en caso contrario.

1. Inspección visual

El examen visual del envase y su aspecto es el primer medio de detectar defectos del cierre y del envase. Para ello, se procede del modo siguiente

- a) Identificar cada unidad a examinar de forma clara y duradera.
- b) Colocar dos señales coincidentes sobre la etiqueta y el envase, separadas unos 120°. Identificar la etiqueta con el mismo código que se haya elegido para el envase.
- c) Eliminar con cuidado la etiqueta, para mantenerla lo más intacta posible.
- d) Examinar ambos lados de la etiqueta observando manchas de óxido, humedad, etc. En caso afirmativo, marcarlo sobre la etiqueta y comprobar si en la superficie del envase existe o no y si es coincidente.

- e) Coger el envase con una mano por el cuerpo y recorrer el cierre con el dedo pulgar e índice de la otra, con precaución para no cortarse. Recorrer la periferia interna y externa del doble cierre.
- f) Inspeccionar el cierre, el cuerpo y la costura lateral para detectar arrugas, ondulaciones, picos, presencia de soldadura, compuesto, etcétera.

2. Medidas exteriores

2.1. Modo

Se efectuarán en varios puntos de la periferia del cierre. Sólo se registrarán las medidas de tres (3) puntos situados en los vértices de un hipotético triángulo equilátero inscrito en la tapa/fondo, es decir, separados entre sí 120° situados, al menos, 12,5 mm. (una pulgada) de la unión (montaje), para envases redondos.

2.2. Longitud/Altura de cierre

La altura o longitud del cierre se mide con un micrómetro o ganchímetro, en su defecto usar un calibre o pie de rey.

Mantener la superficie plana del micrómetro contra el cuerpo del envase tal y como se ve en la figura 49.

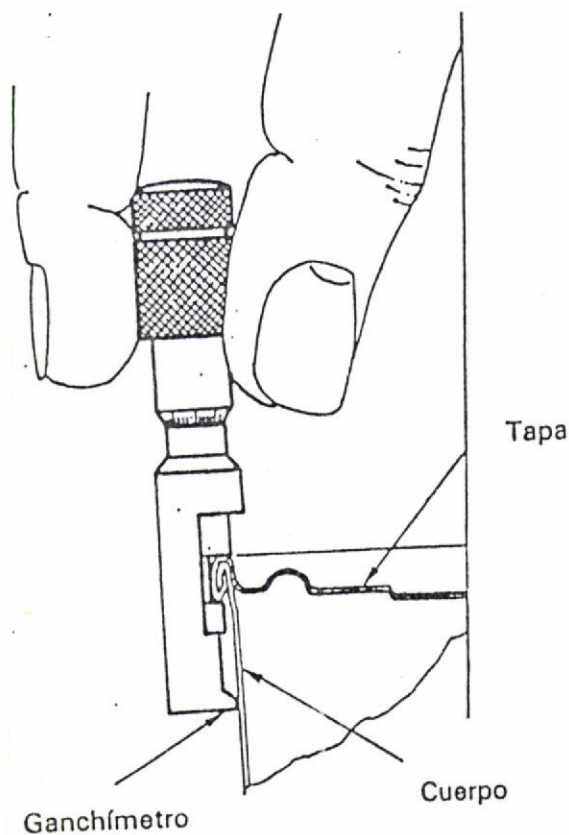


Figura 49

2.3. Ancho o espesor del cierre

Para medir este parámetro se puede emplear una galga especial o bien un ganchímetro (micrómetro). El empleo de la galga da más exactitud y es susceptible de menos errores de medida por parte del inspector.

Cuando se emplea el micrómetro (ganchímetro) se debe balancear ligeramente con el índice una vez situado sobre el cierre hasta que el ángulo sea el mismo que el de la pared de la cubeta, tal y como muestra la figura 51.

2.4. Profundidad de cubeta

Para medir la profundidad de cubeta se coloca la barra de la galga sobre la cumbre del cierre. La punta de la galga se sitúa en el punto más bajo adyacente a la pared de cubeta, pero alejada de la unión por lo menos 12,5 mm. (ver fig. 52). Hay que evitar, también que la barra horizontal descansa sobre la unión o la punta toque algún código troquelado sobre la tapa.

La profundidad de cubeta varía según los tipos de envases, pero siempre será superior a la altura del cierre.

En los envases de forma se mide en cuatro puntos, cada uno correspondiente a uno de los radios.

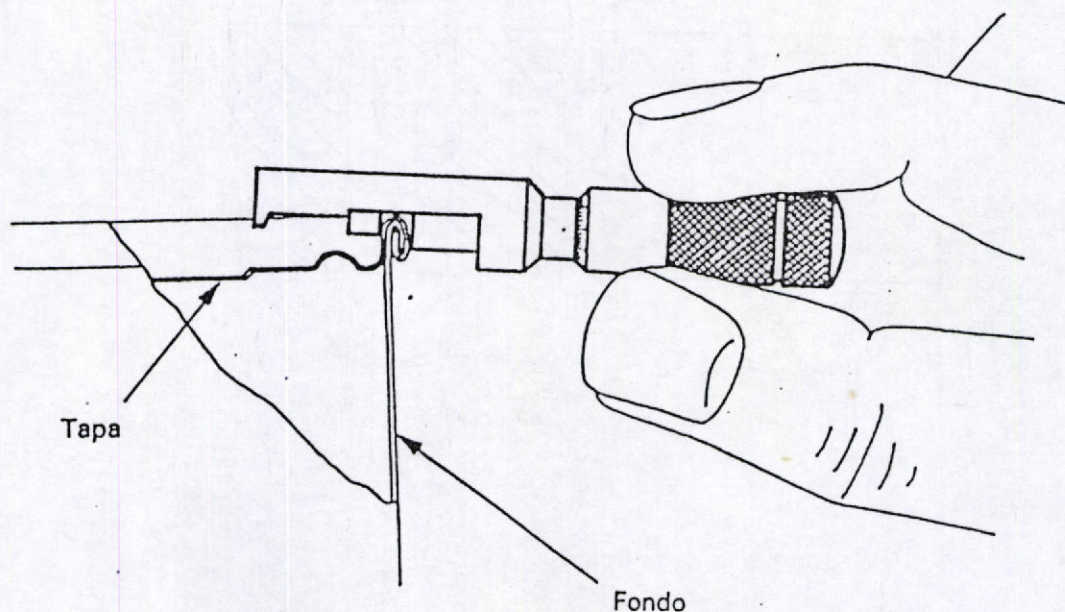


Figura 51. Galgas para el espesor de cierre.

2.5. Deflexión del panel central

Se determina con el verificador de profundidades (fig. 52) colocando su barra horizontal sobre el cierre pero alejada de la unión. La punta de la galga se coloca en el centro del envase o lo más próximo, es decir, en el punto más bajo del fondo/tapa, evitando que cualquier troquel interfiera en la medición.

Este valor es un índice del vacío interior existente en el envase cerrado o de su carencia.

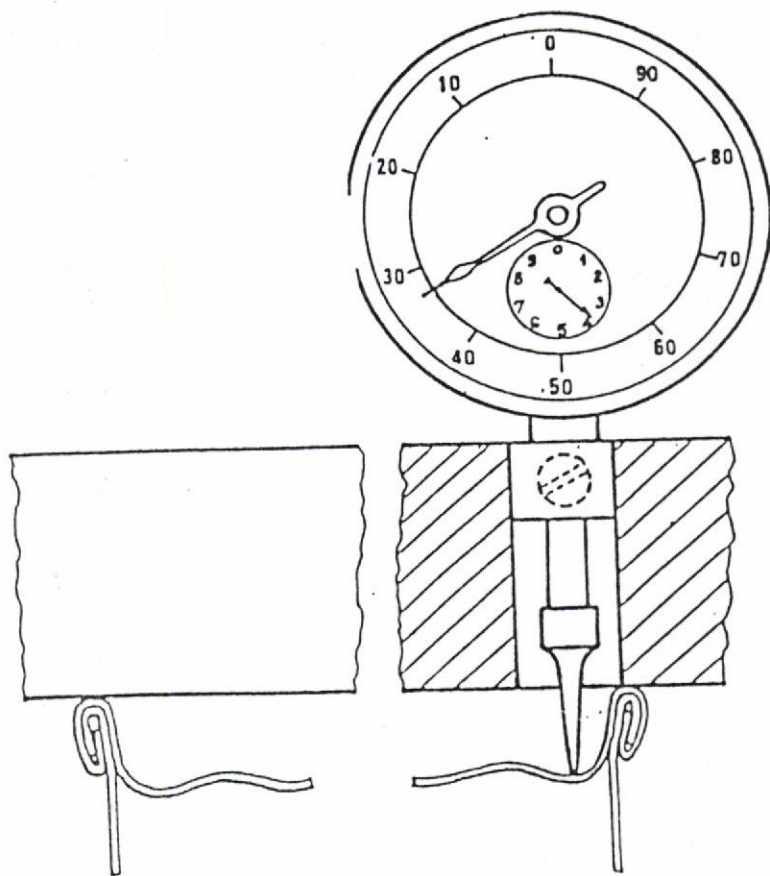


Figura 52. Medida de la profundidad de cubeta.

3. Desmontaje del cierre

Este procedimiento ofrece información directa sobre los factores de integridad del cierre, tales como grado de apretado, gancho del cuerpo, gancho de la tapa, huella de la pared del mandril, compuesto, etcétera.

Para ello se efectúan las operaciones siguientes:

- a) Cortar el panel central de la tapa usando un abridor bacteriológico o unas tijeras curvas a una distancia de 6 a 12 mm. de la parte interna del cierre (Fig. 57).
- b) Extraer el panel central.
- c) Hacer un corte en el resto del panel que todavía permanece unido al cierre.
- d) *Girar hacia arriba con unas tenacillas o alicates una de las esquinas del corte.*
- e) Coger la parte vuelta con las tenacillas y tirar en sentido contrario al radio del panel, como se ve en la figura 58 y alrededor de todo el cierre hasta que quede completamente separado. Evitar modificar el cierre.
- f) Cortar el cierre con una sierra o unas tijeras a unos 25 mm. de la unión.
- g) Usando la parte plana de los alicates o tenacillas golpear suavemente hacia abajo la parte correspondiente al gancho de la tapa del cierre, de modo que quede desunido del gancho del cuerpo en toda la periferia del envase (Fig. 60).
Tener cuidado de que no se distorsione el gancho del cuerpo durante esta operación.
- h) Guardar el gancho de la tapa, una vez desprendido, respetando su estado original para evitar cualquier modificación.

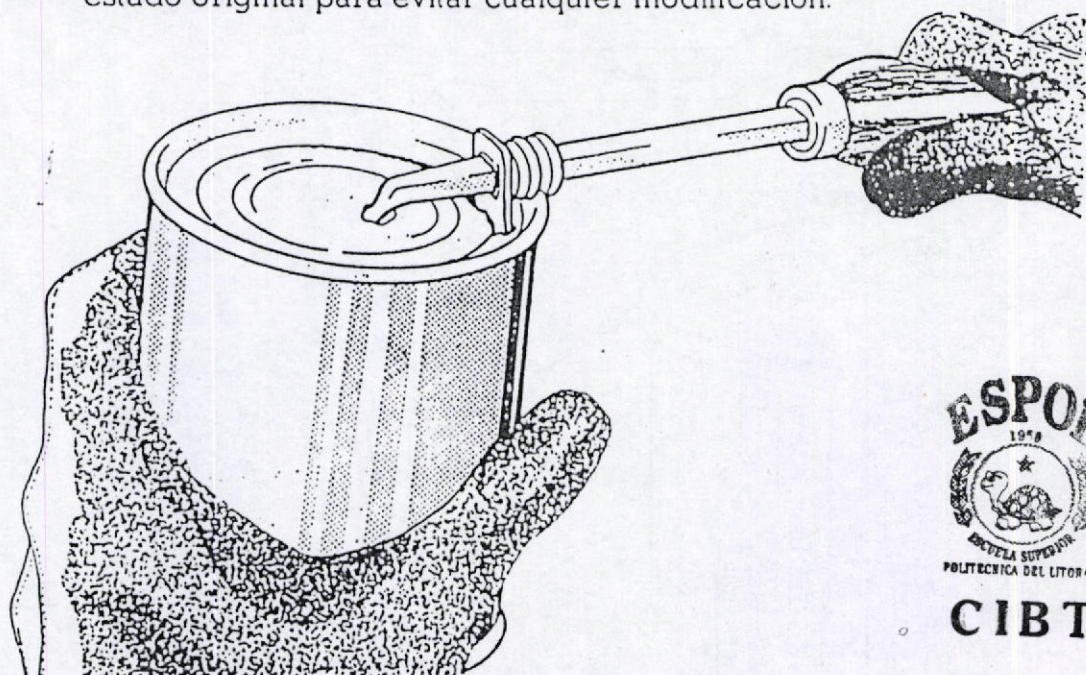


Figura 57 Corte del panel central de la tapa con abridor bacteriológico.

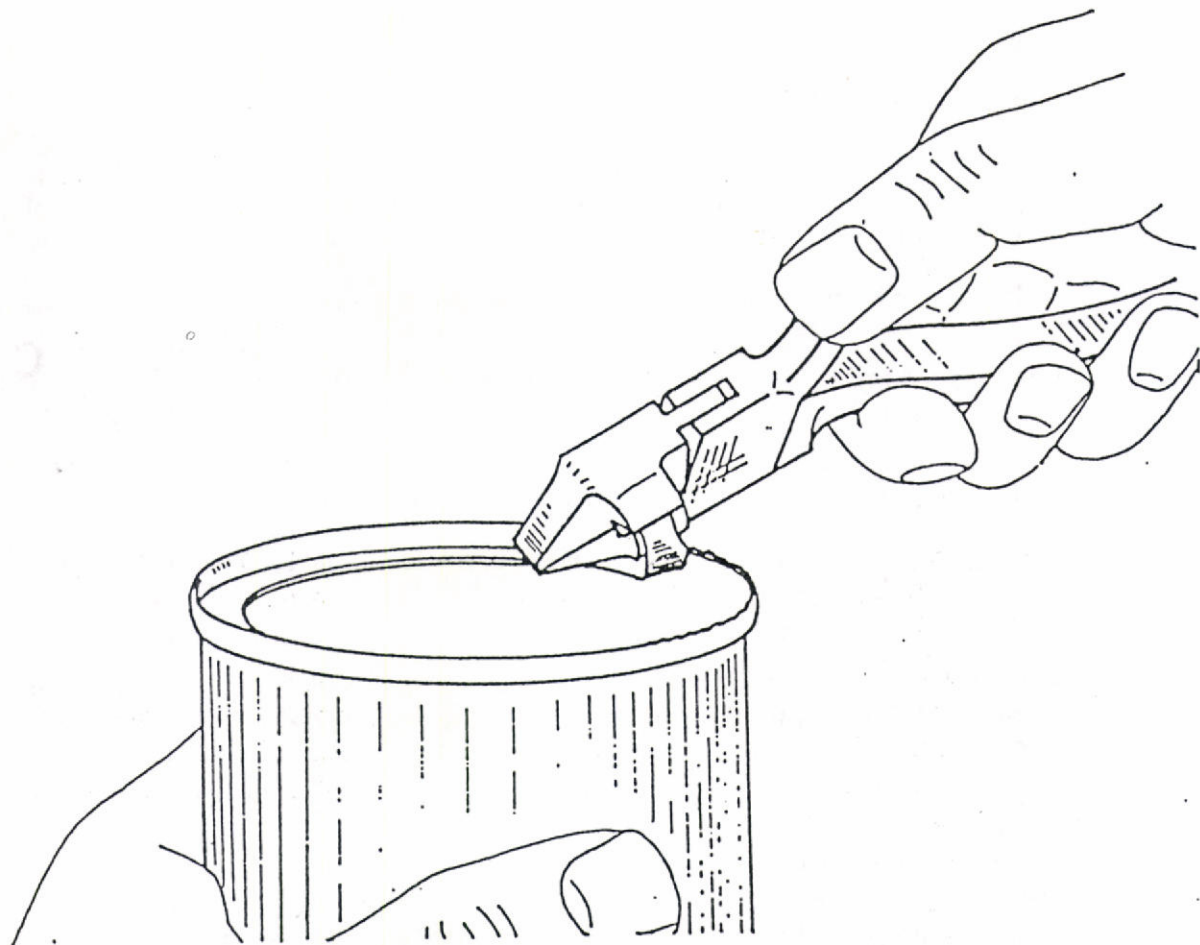


Figura 58 *Eliminación del resto del panel. Acción de las tenacillas para su eliminación.*

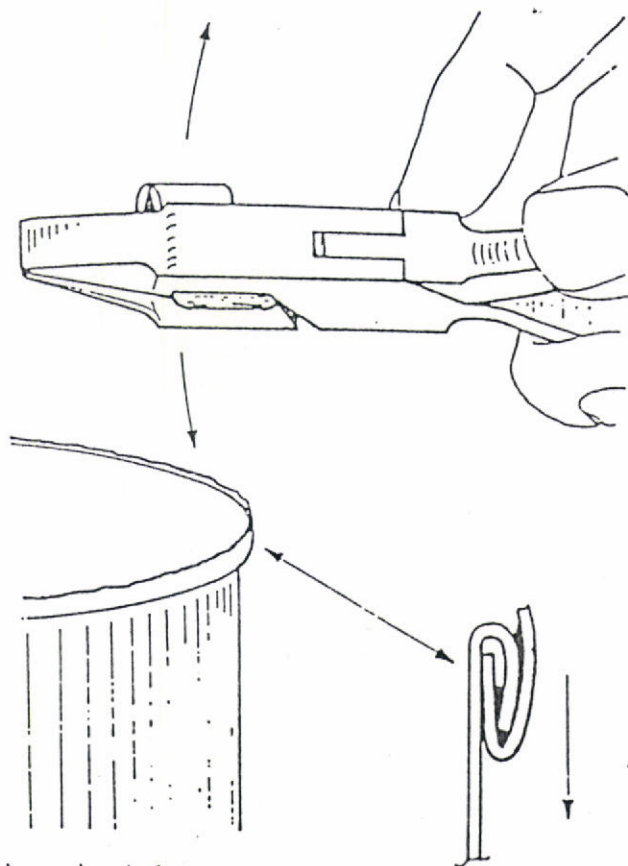


Fig. 60. *Separación del gancho de la tapa*

4. Seccionado del cierre (Proyector)

Permite la medición del cierre y los factores de integridad en secciones del mismo. Para ello se procede del modo siguiente:

- a) Cortar el panel central del fondo/tapa usando un abridor bacteriológico o unas tijeras curvas a una distancia de 6-12 mm. de la pared de cubeta (Fig. 57).
- b) Efectuar dos cortes separados unos 6 mm. en el cierre mediante una sierra de corte fino, alineados con el diámetro del envase y paralelos a su eje, situado, como mínimo, a 25 mm. de la costura lateral. (Fig. 61). Una sierra adecuada a este fin debe tener hojas circulares de 100 mm. de diámetro, con un diente/mm. de 0,35 mm. de grosor y una velocidad de giro de 520 r.p.m.
- c) Extender los cortes a lo largo del cuerpo en sentido paralelo al eje del envase y unos 25 mm. como mínimo.

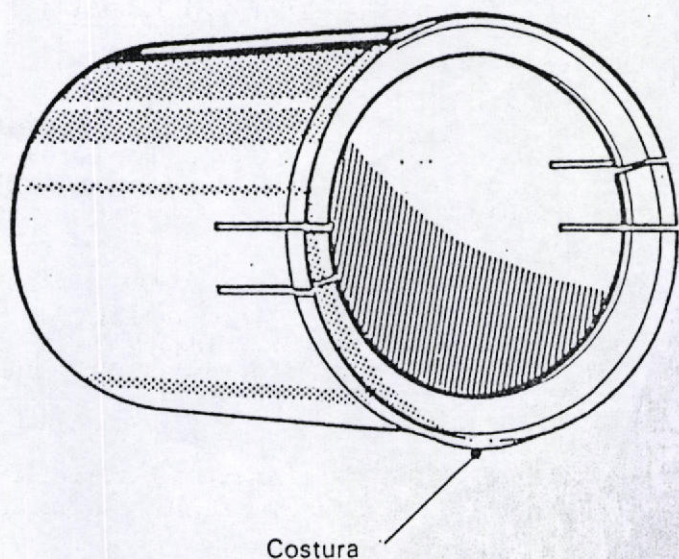


Figura 61 Seccionado del cierre.

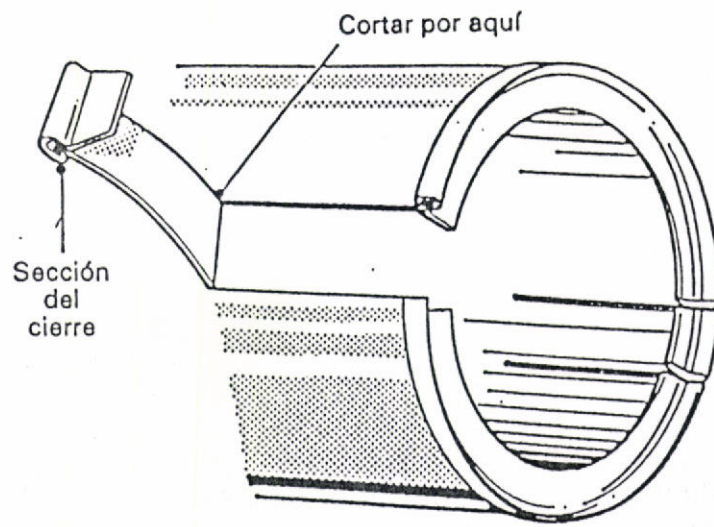
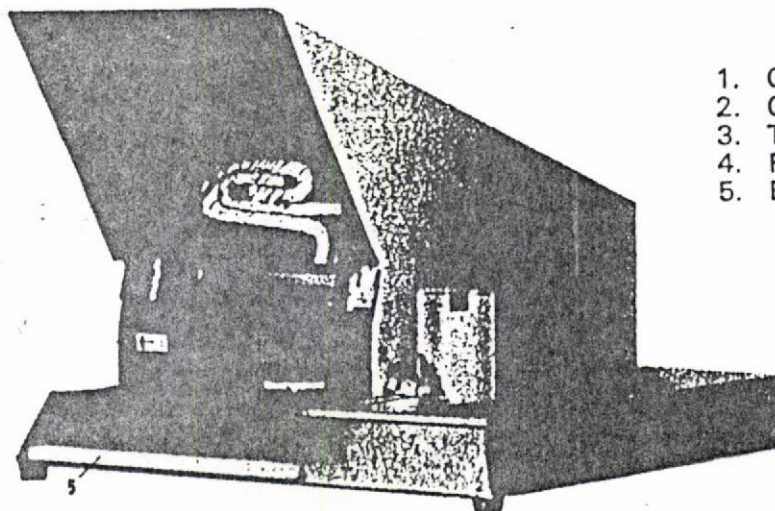
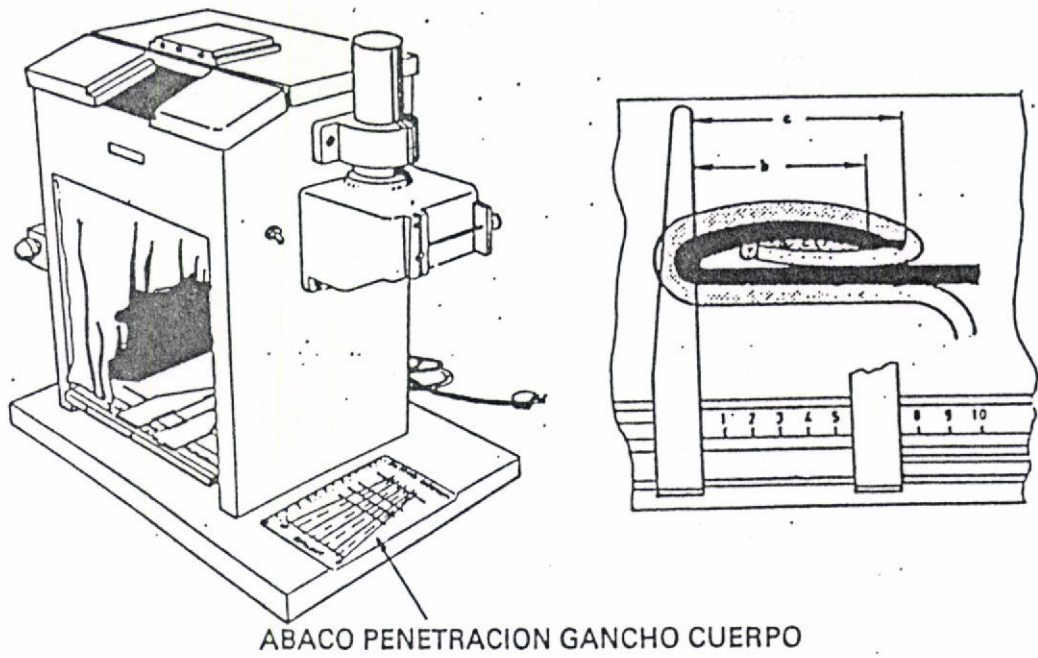


Figura 62. Doblado y corte de la sección.



1. Conexión.
2. Objeto.
3. Tornillo de ajuste.
4. Plato base.
5. Eliminación plato base.

Figura 63. Proyector de cierre

- d) Cortar otra sección, al menos en el lado opuesto al anterior. Es de desear dos secciones adicionales además de la del punto "b" situado a 120° de ella.
- e) Doblar hacia atrás con unos alicates las secciones producidas (Figura 62).
- f) Uniformizar los bordes de las secciones con piedra de esmeril o papel.
- g) Cortar cada sección con un trozo de cuerpo, con unos alicates (Figura 62).
- h) Colocar las secciones en el proyector para proceder a su evaluación (Fig. 63).
- j) Eliminar el gancho de la tapa para comprobar la huella producida por las rulinas al actuar contra el mandril, y la presencia de salto de rulinas (Fig. 69)

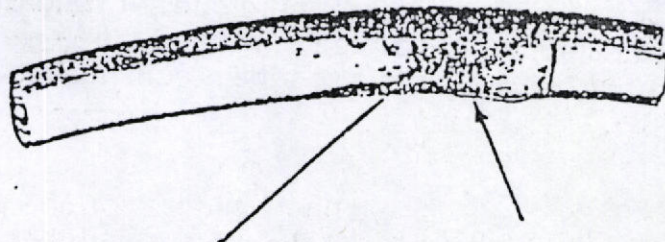


Figura 69. Salto de rulinas.



5. Medidas internas del cierre

El desmontaje del cierre, así como su seccionamiento, procedimientos expuestos en los apartados anteriores, sirven para poder determinar las medidas internas del cierre y que incluyen:

- Longitud del gancho del cuerpo y de la tapa.
- Compacidad.
- Traslape. Solapado.
- Grado de Apretado. Arrugas.
- Porcentaje de Penetración gancho del cuerpo.
- Impresión huella del mandril.

Las medidas en milímetros, y porcentaje se deben efectuar en tres puntos situados a 120° , registrando siempre el intervalo en que se mueven, para los envases redondos. Para los envases de forma, se mediran en las partes rectas, tal y como se indican en el punto 2.1., determinando los valores extremos en los radios por si estuvieran fuera de tolerancias.

5.1. Longitud del gancho del cuerpo y del fondo

Se pueden medir usando un ganchímetro, pero si se desea una medición más exacta se puede proceder con el proyector de cierre (Figura 65).

En él, se efectúa la lectura directa de ambas longitudes mediante una adecuada colocación del cierre y moviendo los brazos. Situar el cierre de forma que se obtenga una imagen nítida sobre la pantalla.

Sea, Lgc = longitud del gancho del cuerpo.

Lgf = longitud del gancho del fondo.

V. 5.2. Cálculo de la compacidad

Se determina mediante la expresión siguiente:

$$C = \frac{3 e_f + 2 e_c}{E} \times 100$$

siendo e_f = espesor hojalata del fondo

e_c = espesor hojalata del cuerpo

E = espesor del cierre.

La compacidad será más satisfactoria cuanto mayor sea este cociente. El mínimo requerido es de 75 por 100, siempre que se trate de envases redondos, para conservas o alimentos, y no para envases del tipo de bebidas carbonatadas. En el caso de envases de forma se requiere un mínimo del 60 por 100.

5.3. Penetración del gancho del cuerpo

5.3.1. Proyector

Se puede efectuar dicha medida directamente. Abrir los brazos móviles tanto como sea posible y colocar el ábaco (Fig. 64) de modo que sea visible en la pantalla. Posicionarlo de modo que las líneas de referencia del ábaco aparezcan paralelas al gancho.

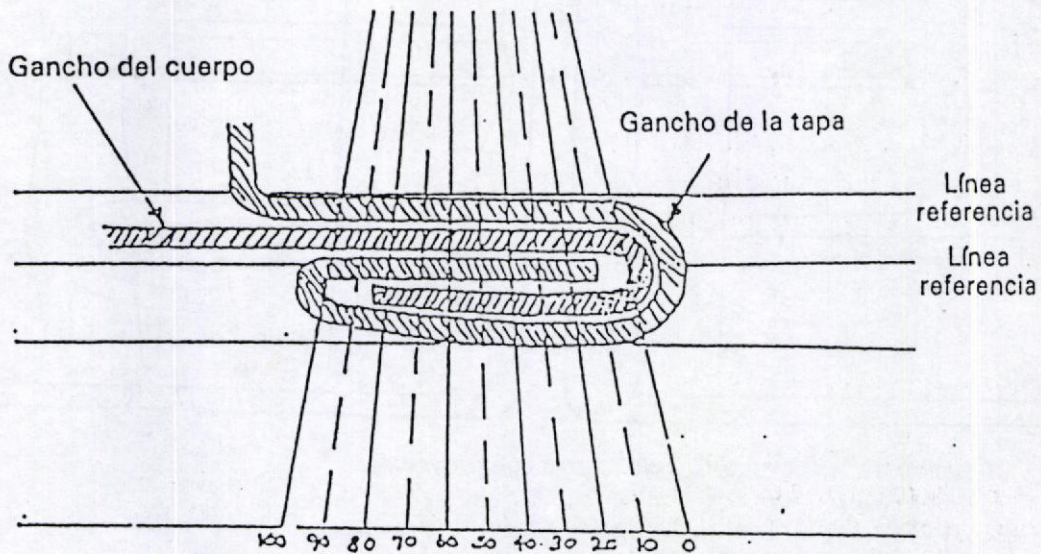


Figura 64. Ábaco para cálculo de ganchos y solape con proyector de cierre.

Ajustar la posición del ábaco de modo que se localice el cero en el interior del radio del gancho del cuerpo. Moverlo de modo que el 100 esté en el interior del radio del gancho del fondo.

Leer la línea al final del gancho del cuerpo. Este valor es el tanto por ciento de penetración.

5.3.2. Método de cálculo

Se determinará aplicando la expresión:

$$\% \text{ Penetración} = \frac{LG_c - 1,1 e_c}{L_c - 1,1 (2 e_f + e_c)} \times 100$$

siendo, LG_c = longitud gancho del cuerpo.

e_c = espesor de la hojalata del cuerpo.

L_c = longitud del cierre.

e_f = espesor de la hojalata del fondo.

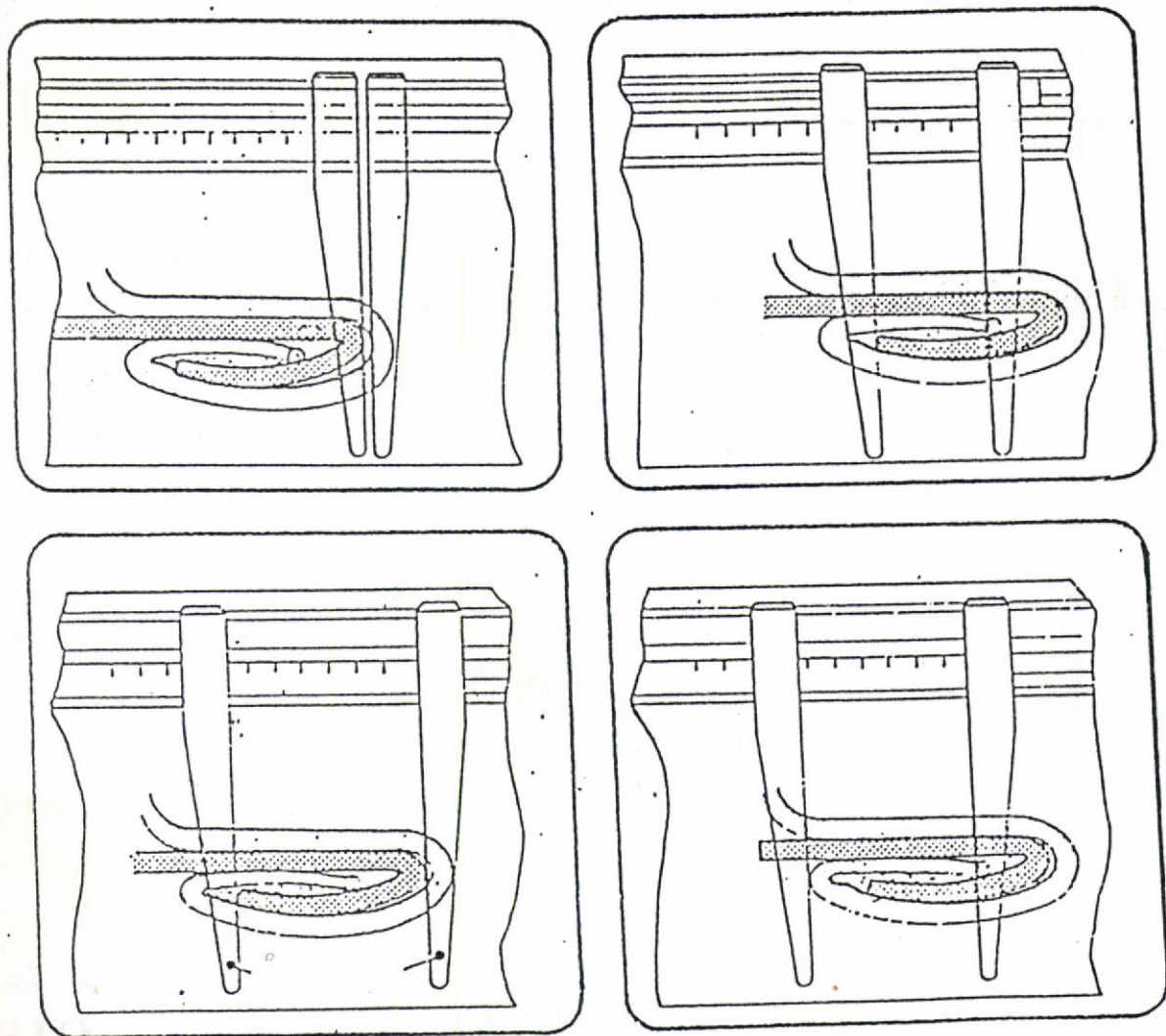


Figura 65. Medición de los parámetros del cierre con proyector.

5.4. Solapado

5.4.1. Proyector

Después del seccionado del cierre y determinado el tanto por 100 de penetración del gancho del cuerpo, el solape, en tanto por 100, se determina con el proyector del modo siguiente:

a) Penetración del gancho de fondo.

Para ello se sigue el mismo procedimiento que en el gancho del cuerpo, excepto que sea el tanto por 100 desde cero correspondiente al punto final del gancho del fondo. En la figura 64, será 10 por 100. El tanto por 100 de penetración será el resultante de restar de 100 dicho valor, es decir 90 por 100.

b) Solape.

Sumar los valores del tanto por 100 de penetración del gancho del cuerpo y del fondo. Restar de dicha suma 100 y el resultado será el tanto por 100 de SOLAPE.

ANEXO # 3

MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

a. LITHEEN BROTH

El litheen broth se utiliza como base para la determinación del coeficiente de fenol de materiales catiónicos activos en la superficie.

La finalidad para la que se usa este medio de cultivo atañe a la no interferencia de los iones cloro con el medio de enriquecimiento de las placas PETRIFILM, cloro que está presente en el agua que se utiliza en diferentes etapas del proceso.

COMPOSICIÓN:

Fórmula aproximada por litro

Peptona de proteosa N° 3.....	10,0g.
Extracto de res.....	5,0g.
Lecitina.....	0,7g.
Polisorbato 80.....	5,0g.
Cloruro de sodio.....	5,0g.

pH final: 7,0 +/- 0,2.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO: Almacenar entre 2 y 8°C.

PREPARACIÓN:

Suspenda 25,7 gramos del polvo en 1 litro de agua purificada y hierva para disolver completamente. Autoclave a 121°C por 15 minutos.



b. VRB (AGAR-VIOLETA cristal-Rojo neutro-bilis)

Agar selectivo para la numeación y demostración e bacterias coliformes, inclusive E. coli, según Davis (1951), en agua, leche, helados, carnes y otros alimentos.

FORMA DE ACTUACIÓN

El violeta cristal y las sales biliares inhiben el crecimiento sobre todo, de la flora gram-positiva acompañante. La demostración n de la lactosa o ácido se pone de manifiesto por el viraje a rojodel indicador de pH rojo neutro y por una precipitación de ácidos biliares.

COMPOSICIÓN (g/litro)

Peptona e carne 7,0; extracto de levadura 3,0; cloruro sódico 5,0; lactosa 10,0; rojo neutro 0,03; mezcla de sales biliares 1,5; violeta cristal 0,002; Agar-agar 13,0.



CIBT

c. AGAR-AGAR

Agente gelificante para la preparación de medios de cultivo microbiológicos.

El Agar-agar que se obtiene a partir de determinadas especies de algas rojas marinas, es un poligalactósido cuyos grupos hidroxilo están parcialmente esterificados con ácido sulfúrico. La inmensa mayoría de los microorganismos son incapaces de degradar el Agar-agar.

El Agar-agar utilizado en microbiología es de un tipo especialmente purificado. Una solución de 12 g/litro en agua recién destilada o desmineralizada, tiene el aspecto de un el claro en el recipiente de cultivo.

DATOS CARACTERÍSTICOS DEL GEL

Punto de solidificación: Aprox. 32-36°C. Estabilidad del gel: 50 g, como mínimo (según I.D. Costin).

d. AGUA DE PEPTONA

Para el enriquecimiento previo no selectivo de bacterias, especialmente de Enterobacteriáceas patógenas a partir de alimentos y otros materiales.

El caldo rico en sustancias nutritivas provoca una alta cuota de sobrevivencia de bacterias dañadas subletalmente y un crecimiento intenso. El tampón de fosfato evita una variación de pH perjudicial para las bacterias

COMPOSICIÓN TÍPICA (g/litro)

Peptona.....	10,0
Cloruro sódico.....	5,0
Tampón de fosfato.....	10,5

pH final: 7,2 +- 0,2

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO: Almacenar de + 15°C hasta +25°C.

e. AGAR PLATE COUNT (Agar peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura)

Medio de cultivo exento de sustancias inhibitoras y de indicadores, concebido esencialmente para la determinación del número total de gérmenes en productos.

COMPOSICIÓN (g/litro)

Peptona de caseína 5,0; extracto de levadura 2,5; D (+)-glucosa 1,0; Agar-agar 14,0.



PREPARACIÓN:

Disolver 22,5 g/litro y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C).

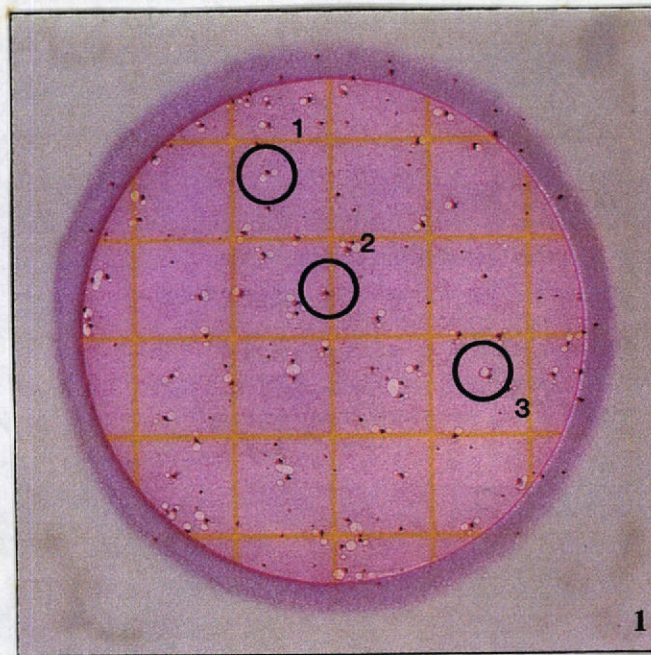
pH: 7,0 \pm 0,1.

Las placas con medio de cultivo son claras e incoloras.



ANEXO # 4

PETRIFIL RECuento DE COLIFORMES TOTALES GUÍA DE INTERPRETACIÓN.

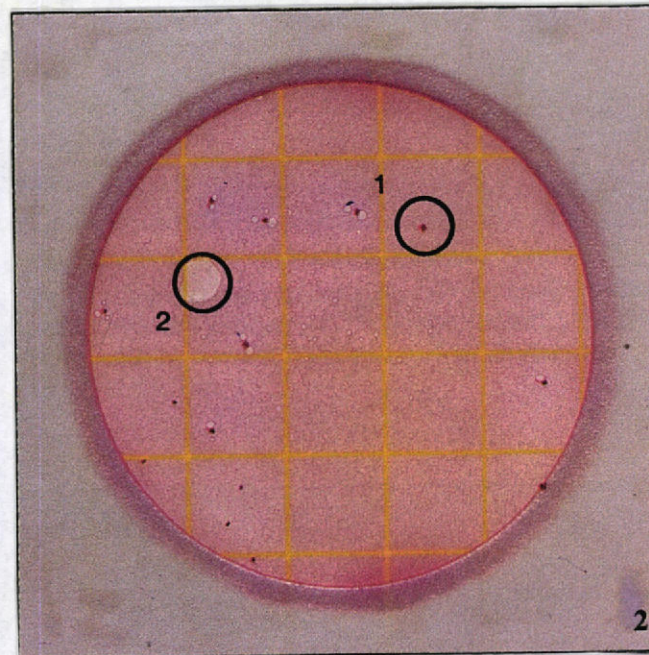


1. Recuento de Coliformes = 73

Es muy fácil contar las colonias coliformes en las placas Petrifilm para recuento de coliformes. Un indicador rojo presente en la placa, colorea todas las colonias, y la película superior atrapa el gas producido por los coliformes.

Los coliformes producen colonias de color rojo asociadas con las burbujas de gas. Observar en la figura 1, los círculos 1,2 y 3. Los no-coliformes producen colonias rojas las cuales no están asociadas con las burbujas de gas. Ver figura 2, círculo 1.

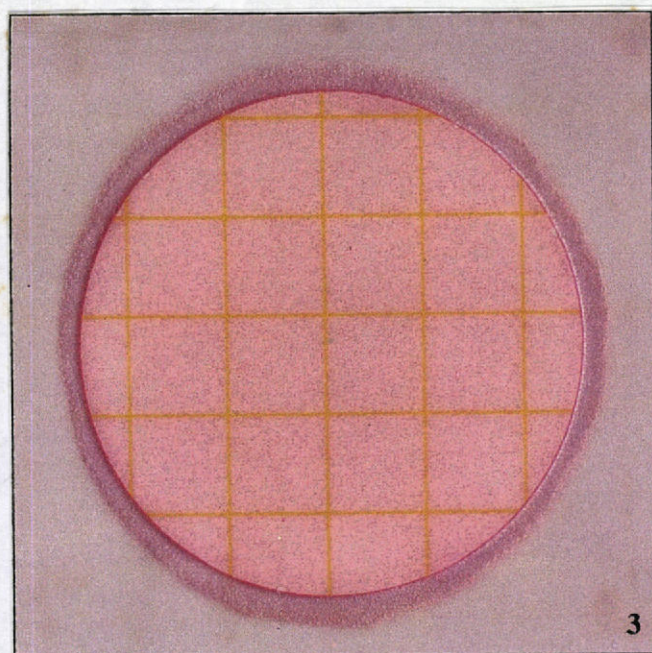
En los círculos 1, 2 y 3 de la figura 1 también se demuestran como las formas de las burbujas pueden variar. Algunas veces el gas desorganiza las colonias y hace que éstas contorneen la burbuja como sucede en el círculo 3.



2. Recuento de Coliformes = 8

Las burbujas de recipiente pueden resultar de la inoculación inapropiada de la placa Petrifilm para recuento de Coliformes. Estas son de forma irregular y no están asociadas colonia roja. Ver figura 2, círculo 2.

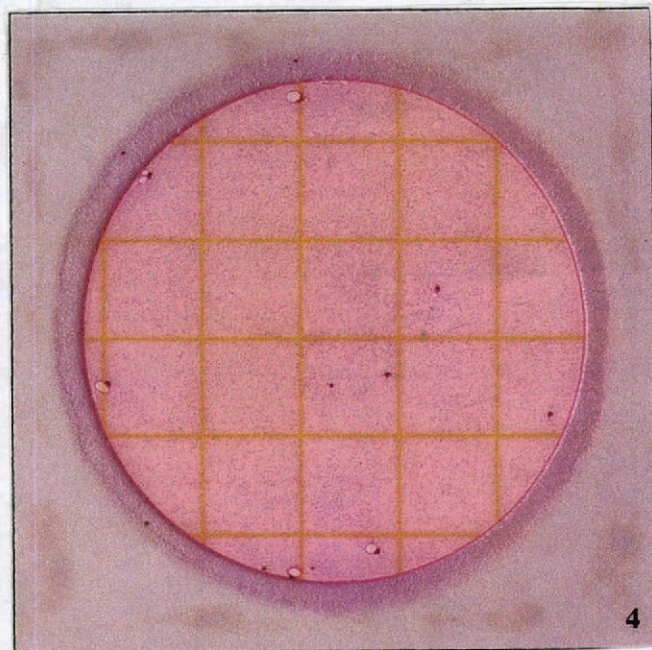
No cuente las colonias que aparecen en la barrera de espuma, éstas se encuentran lejos de la influencia selectiva del medio.



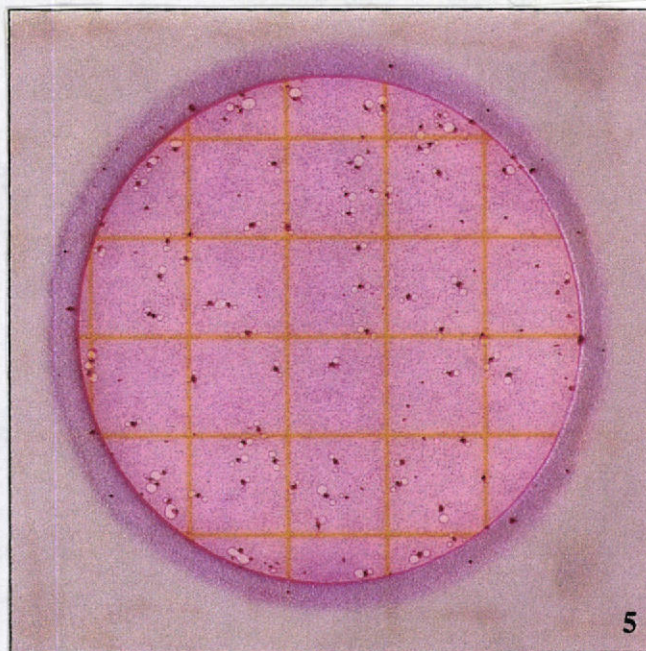
3. Recuento de Coliformes = 0

Observe el cambio de color en las figuras 3 a 8.

Cuando el número de coliformes aumenta, el color del gel se intensifica de un rosado claro a un rojo púrpura.

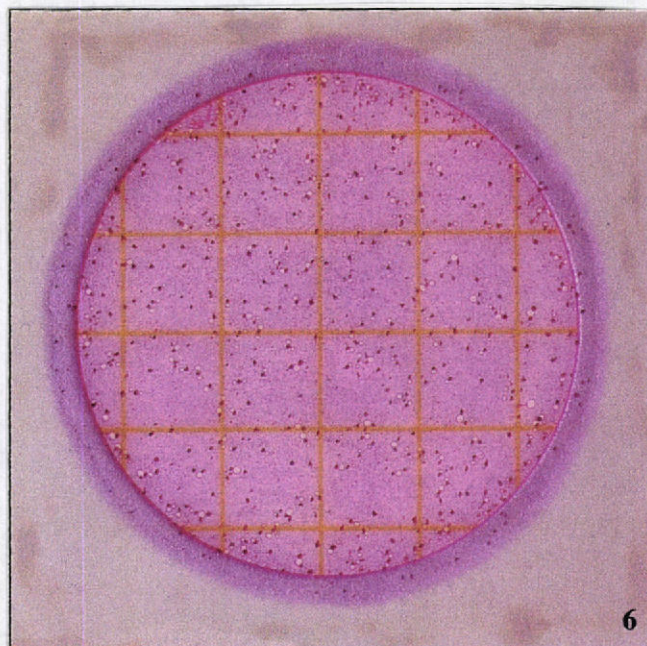


4. Recuento de coliformes = 9



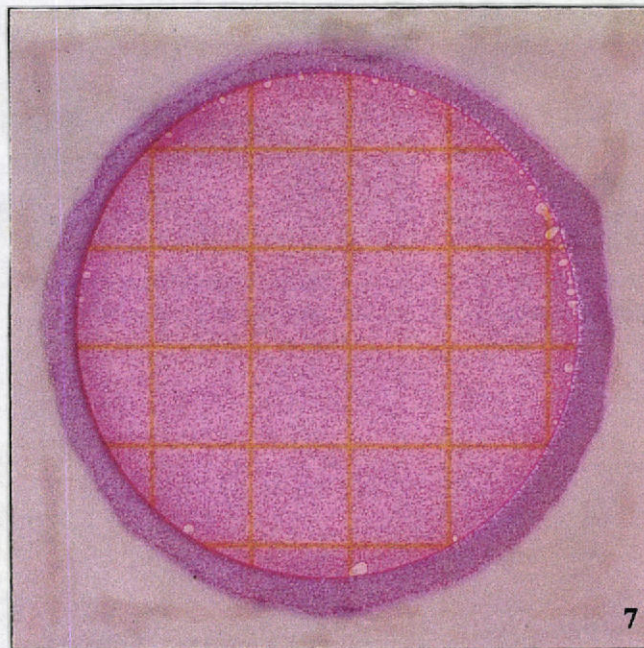
5. Recuento de Coliformes = 79

Como en las placas de agar del bilis rojo violeta, el campo preferencial de conteo en las placas Petrifilm es de 15 a 150 colonias . (ver figura 5).



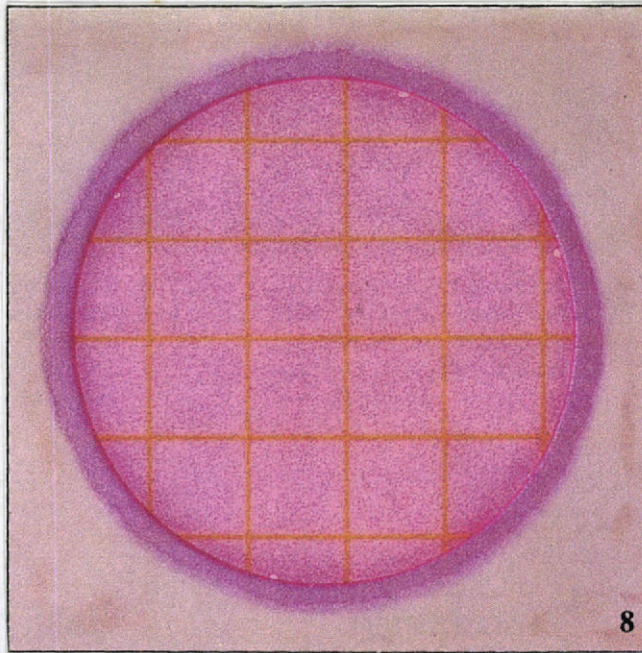
6. Recuento de Coliformes = 220

Cuando el número de colonias es mayor a 150, haga una estimación del recuento. Determine el número de colonias por centímetro cuadrado y multiplique por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de crecimiento en una placa para recuento de Coliformes es de 20 centímetros cuadrados aproximadamente. (Ver figura 6).



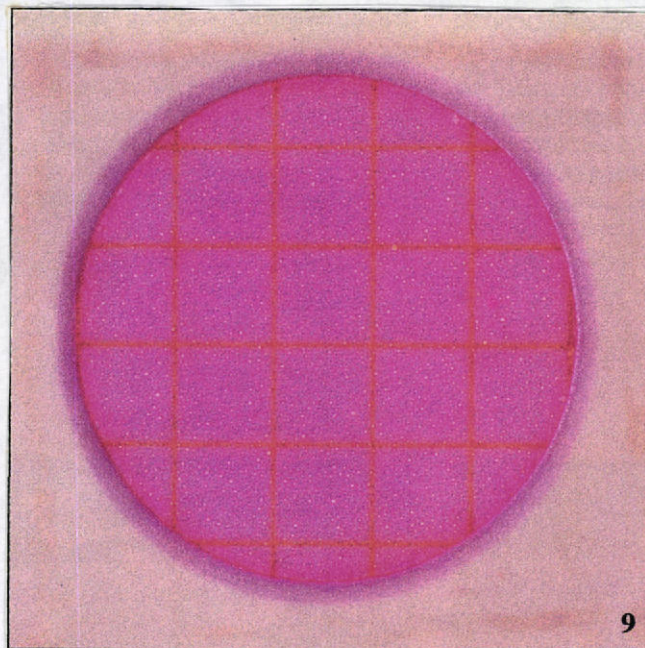
7. Recuento de Coliformes = MNPC

Las placas Petrifilm para recuento de coliformes en las cuales las colonias son muy numerosas para contar (MNCP) tiene una, o más de las siguientes características: 1) muchas colonias pequeñas, 2) muchas burbujas de gas y 3) el color del gel se intensifica.



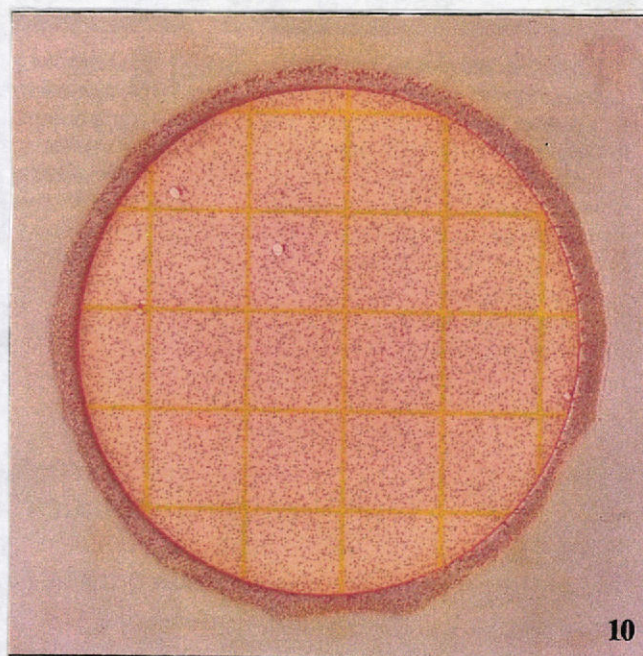
8. Recuento de Coliformes = MNCP

En la figura 8, el recuento es tan alto que las colonias individuales y las burbujas de gas no aparecen, el color intensificado del gel indica que este es un caso de MNCP.



9. Recuento de Coliformes = MNCP

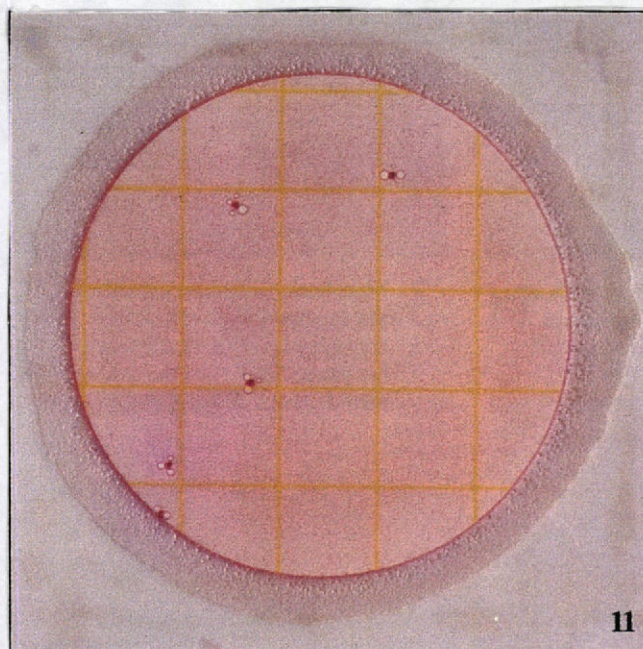
La placa Petrifilm para recuento de coliformes en la figura 9 tiene dos rasgos que indican colonias MNCP : 1) intensificación del color de gel, y 2) muchas burbujas.



10. Conteo de Coliformes = 4

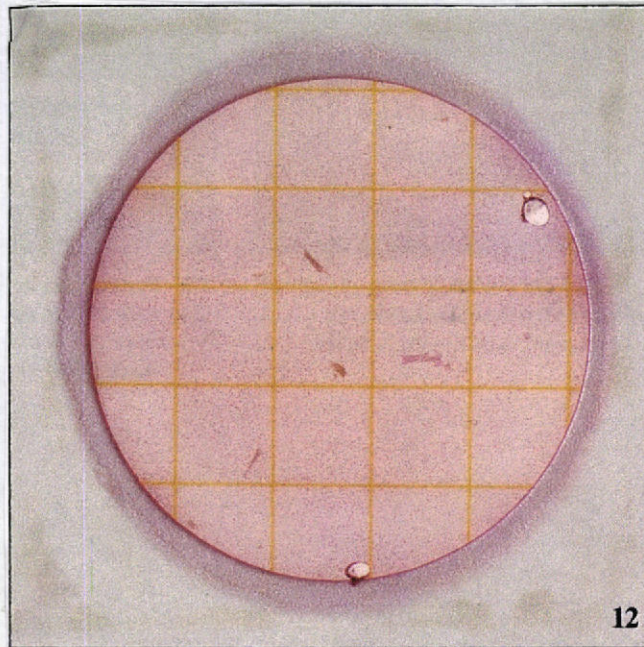
En la figura 10 vemos una placa de Petrifilm con una gran cantidad de colonias no-coliformes gram-negativas y unas pocas colonias de coliformes.

Cuando un gran número de organismos tales como *Pseudomonas* se presentan, la espuma y el gel se tornan amarillos, como se observa en esta figura.



11. Recuento de Coliformes = 5

La figura 11 muestra la Placa Petrifilm con colonias de coliformes en una muestra de helado. Las colonias y el gel difieren en apariencia.

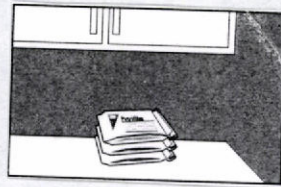
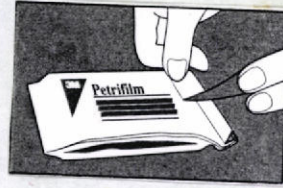
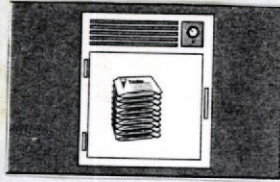


12. Recuento de Coliformes = 2

Las partículas de alimentos son frecuentemente de forma irregular y no están asociadas con burbujas.

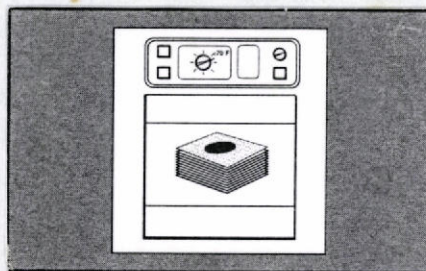
ALMACENAMIENTO

1. Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
 2. Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.
 3. Mantener las bolsas cerradas a $\leq 21^{\circ}\text{C}$, a $\leq 50\%$ HR. No refrigerar las bolsas abiertas.
- Usar las placas Petrifilm durante un mes después de su apertura.



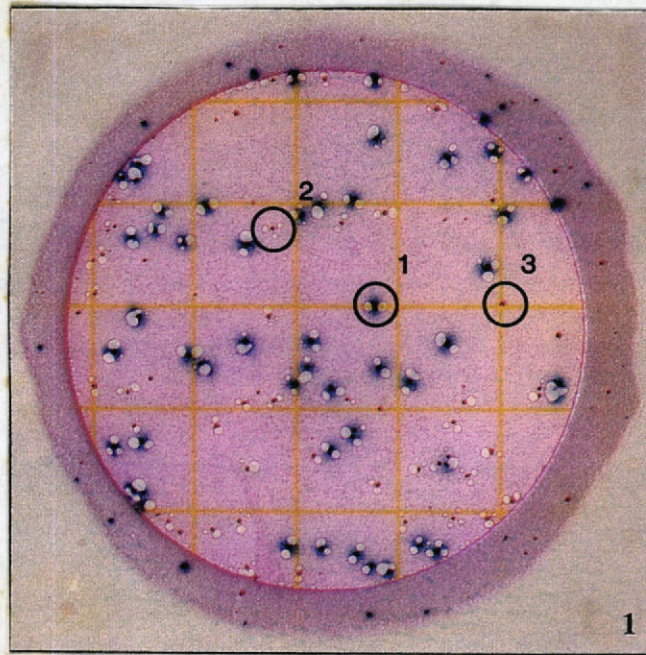
INCUBACIÓN

Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas, según las normas locales de incubación para tiempo y temperatura así: 30 o 35°C +/- 1°C por 24 +/- 2 horas (normas AFNOR, normas IDF), 32 o 35°C +/- 1°C por 24 horas +/- 2 horas (métodos estándar para pruebas de productos lácteos, normalizados por la AOAC).



ANEXO # 5

PETRIFILM PLACA PARE EL RECuento DE E. COLI GUIA DE INTERPRETACIÓN



1. Recuento E. coli. = 50; coliformes = 91

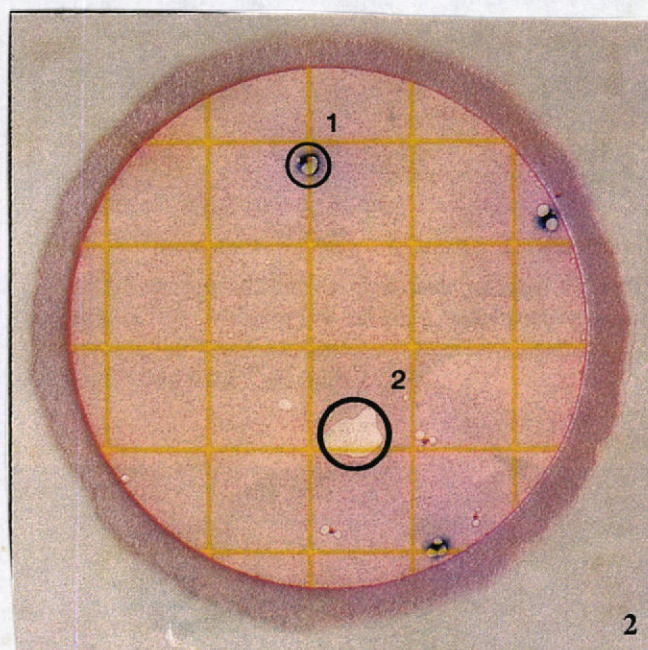
Es muy fácil contar las colonias E. coli en las Placas Petrifilm. E. coli produce glucuronidasa la cual reacciona con un indicador en la placa y se produce una precipitación azul alrededor de la colonia. La mayoría de cepas E. coli producen gas el cual es atrapado por la película superior. Cunte las colonias azules asociadas con burbujas de gas como colonias confirmadas E. coli. Ver figura 1, círculo 1.

Los coliformes diferentes a E. coli. forman colonias de color rojo asociadas con las burbujas de gas. Ver figura 1, círculo 2. Cunte todas las colonias azules y rojas con gas para obtener un conteo total de coliformes.



CIBT

Las colonias no-coliformes son de color rojo pero no están asociadas con burbujas de gas.
Ver figura 1.

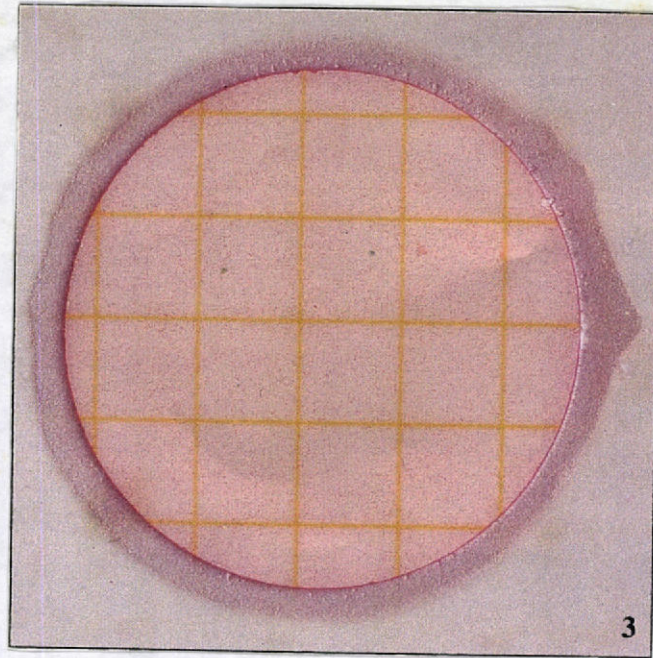


2. Recuento E. coli. = 3; coliformes = 6

Los círculos 1,2 de la figura 1 demuestran como los patrones de burbujas puede variar. Algunas veces al gas irrumpe en la colonia y hace que esta quede en el borde de la burbuja, observar la figura 2, círculo 1.

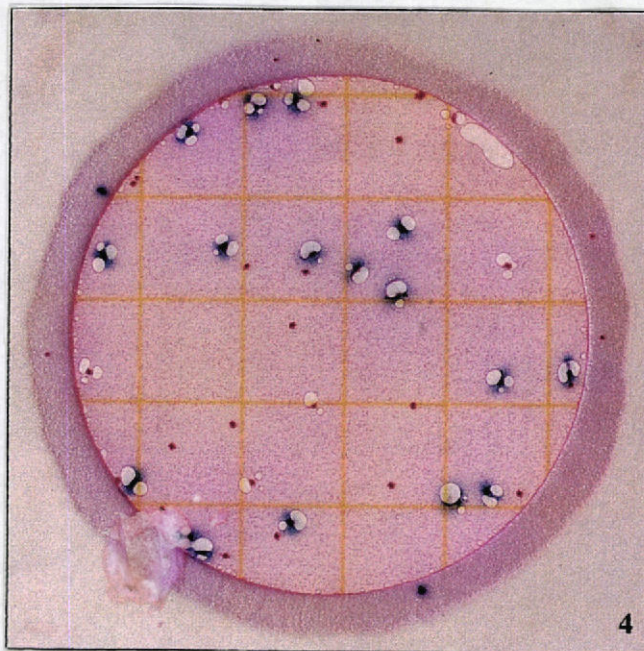
La inoculación inapropiada puede producir burbujas de recipiente. Estas tienen forma irregular y no están asociadas con la colonia de color rojo. Ver figura 2, círculo 2.

No cuente las colonias que aparecen en la barrera de espuma, debido a que éstas se encuentran lejos de la influencia selectiva del medio.

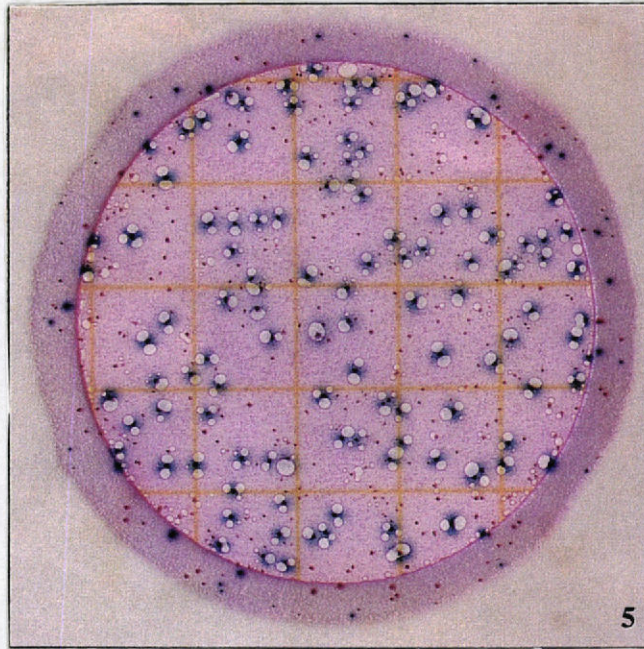


3. Recuento E. coli. = 0

Observe los cambios de color en las figuras 3 a 8. A medida que el encuentro de E. coli. aumenta, el color del gel cambia a azul púrpura.

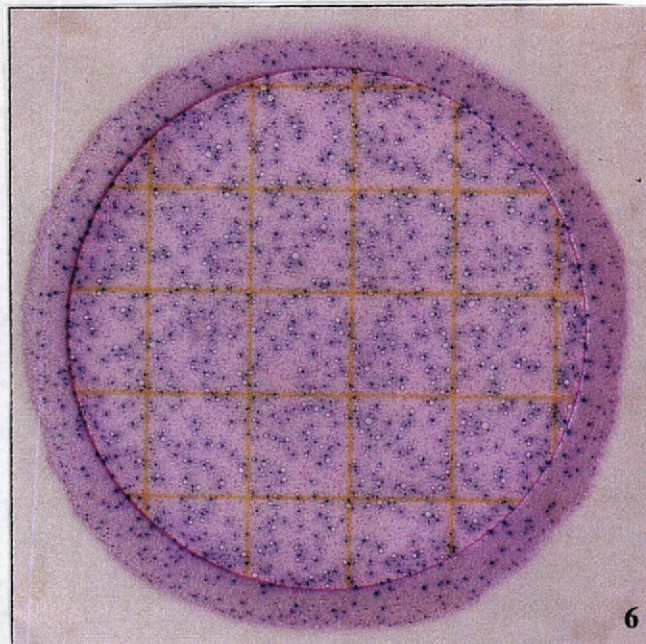


4. Recuento E. coli. = 17



5. Recuento E. coli. = 114

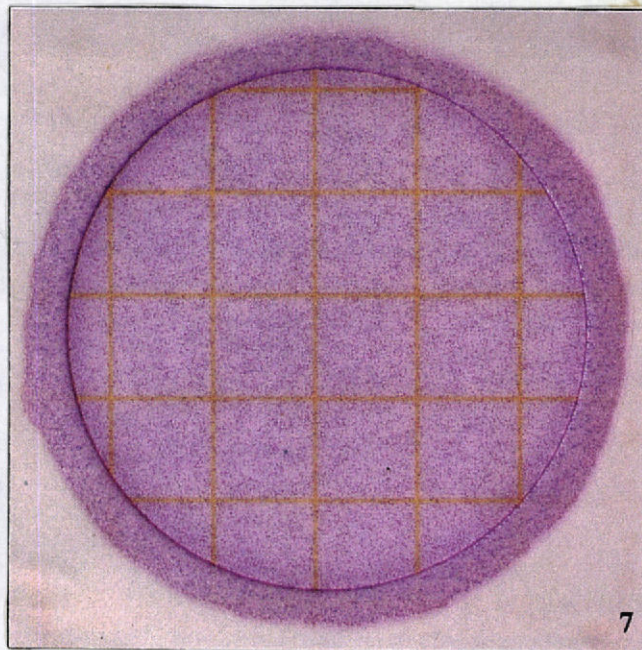
El recuento promedio preferiblemente será de 15 a 150 colonias por campo.



6. Recuento estimado de E. coli. = 500

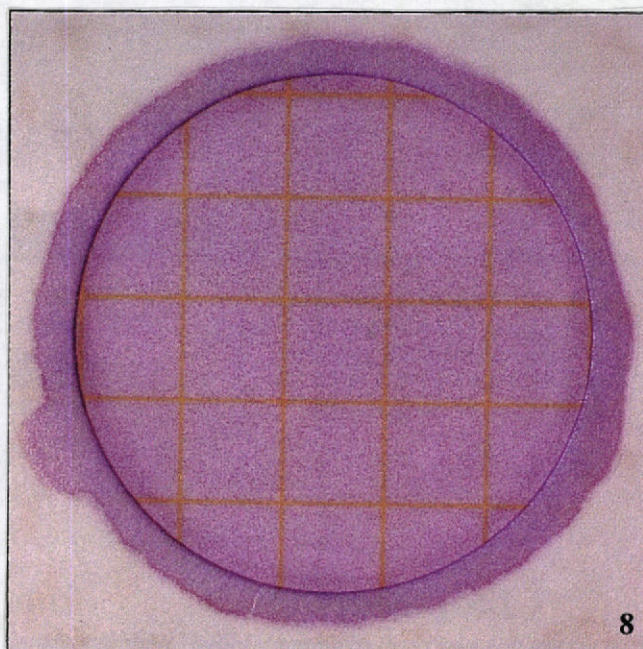
Cuando el número de colonias es mayor a 150, haga una estimación del recuento. Determine el número de colonias por centímetro cuadrado y multiplique por 20 para obtener el recuento

total por placa. El área de crecimiento en una placa para recuento de Coliformes es de 20 centímetros cuadrados aproximadamente. (Ver figura 6).



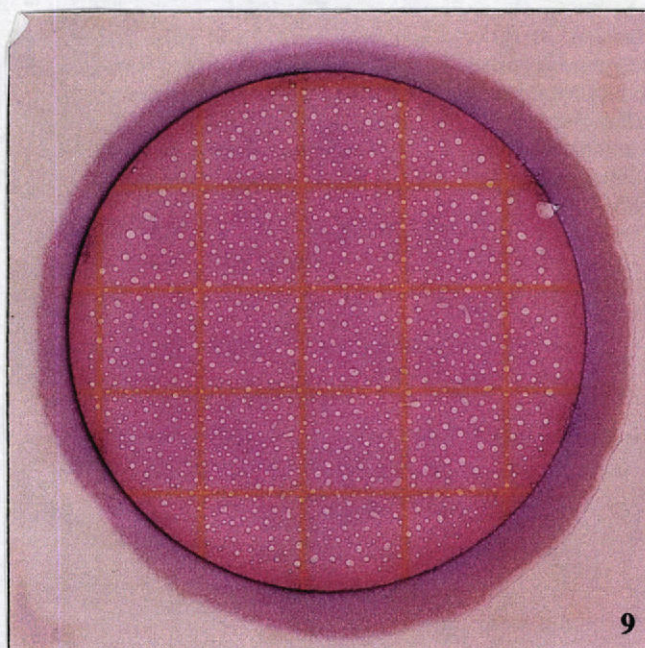
7. Recuento E. coli. = MNCP

Las Placas para recuento de E. coli. que son muy numerosas para contar (MNCP) tiene una, o más de las siguientes características: 1) muchas colonias pequeñas, 2) muchas burbujas de gas y 3) Azul púrpura en el gel. Ver figura 7



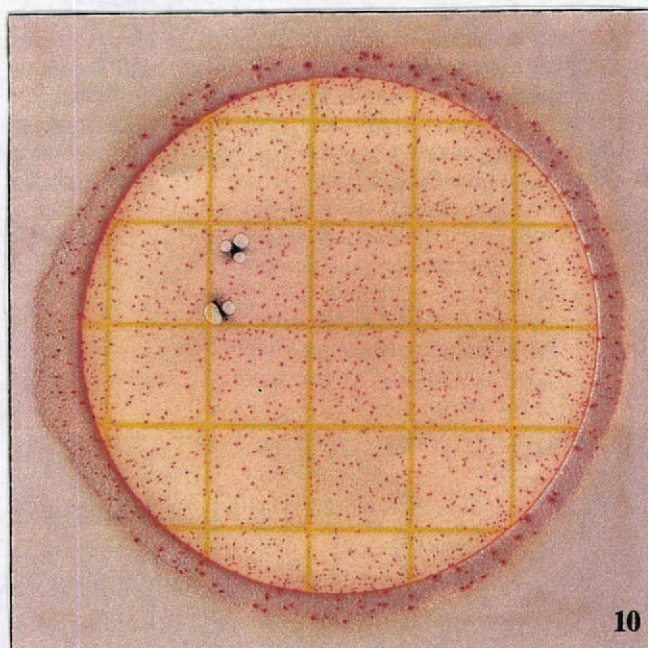
8. Recuento E. coli. = MNCP

En la figura 8, el recuento es tan alto que las colonias individuales y las burbujas de gas no pueden observarse. El color del área de crecimiento azul púrpura, indica un resultado MNCP.



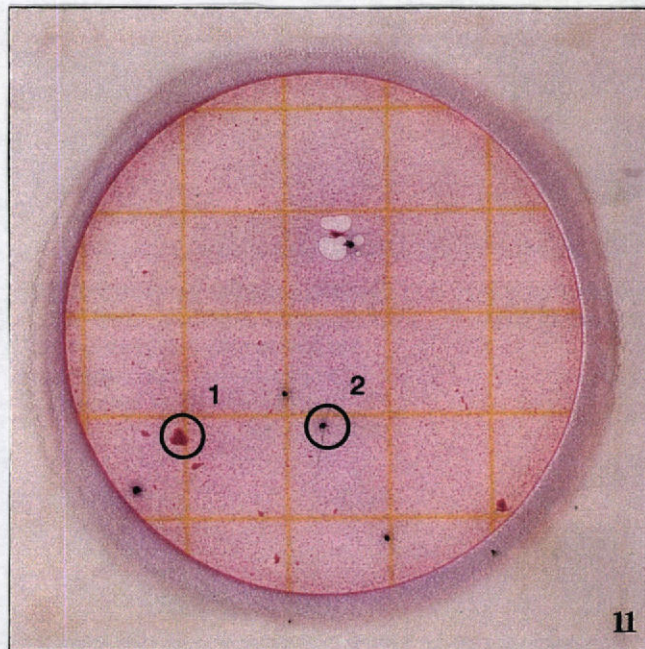
9. Recuento E. coli. = MNCP

La placa Petrifilm para recuento de E. coli en la figura 9 tienes dos rasgos que indican colonias MNPC: 1) el color púrpura azul del gel, y 2) muchas burbujas de gas.



10. Recuento E. coli. = 2

En la figura 10 muestra una placa de Petrifilm para el recuento de E. coli con pocas colonias E. coli y con una gran cantidad de colonias gram-negativas no coliformes; cuando está presente un alto número de organismos tales como Pseudomonas, la espuma y el gel cambian a un color amarillo. Ver figura 10.



11. Recuento E. coli. = 1

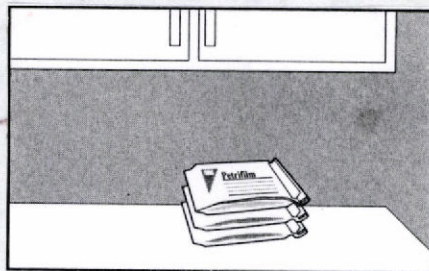
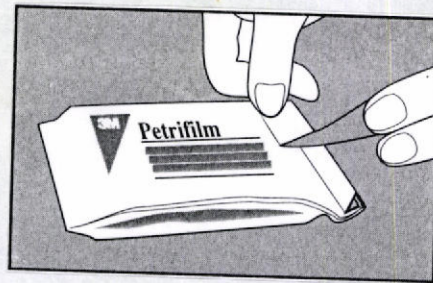
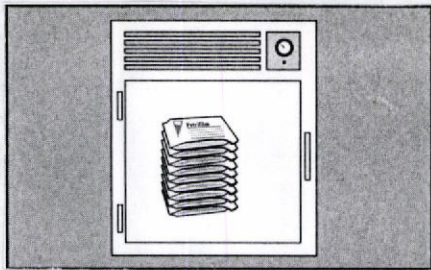
Las partículas de alimentos son frecuentemente de forma irregular y no están asociadas con burbujas.

Las colonias azules sin gas pueden ser o no E. coli; so es necesario confirme estas colonias.

Ver figura 11, círculo 2.

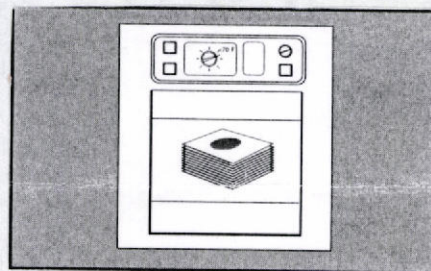
ALMACENAMIENTO

1. Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
2. Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.
3. Mantener las bolsas cerradas de nuevo a $\leq 21^{\circ}\text{C}$, a $\leq 50\%$ HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm durante un mes después de su apertura



INCUBACIÓN

Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas, según las normas locales de incubación para tiempo y temperatura así: 30 o 35°C \pm 1°C por 24 \pm 2 horas (normas AFNOR, normas IDF), 32 o 35°C \pm 1°C por 24 horas \pm 2 horas (métodos estándar para pruebas de productos lácteos, normalizados por la AOAC).



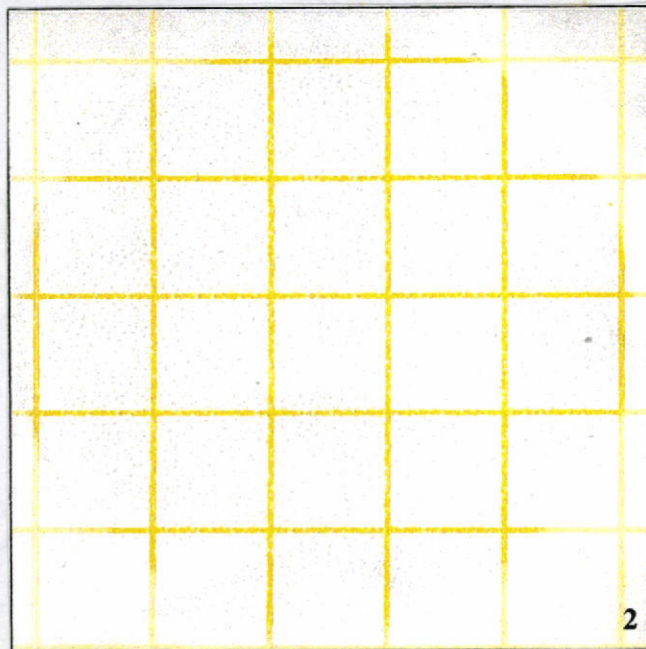
ANEXO # 6

PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS

DESCRIPCIÓN	FRECUENCIA DE MUESTREO	APC(cfu/cm ²)	C.T(cfu/cm ²)	E. COLI(cfu/cm ²)
LOMOS -limpio	1° Y 2° TURNO TODOS LOS DÍAS	<1x10 ⁵	<1x10 ²	Ausencia
AGUAS -potable -cisterna -pozo	CADA 15 DÍAS	3 X 10 ¹	0	Ausencia
MANOS	1 VEZ AL MES	3x10 ³	<10	Ausencia
AMBIENTE LÍNEAS	1 VEZ AL MES	1 x 10 ²	0	Ausencia
SUPERFICIES DE CONTACTO	CADA MES	1 x 10 ²	0	Ausencia
PRODUCTO TERMINADO	1 VEZ A LA SEMANA	0	0	Ausencia

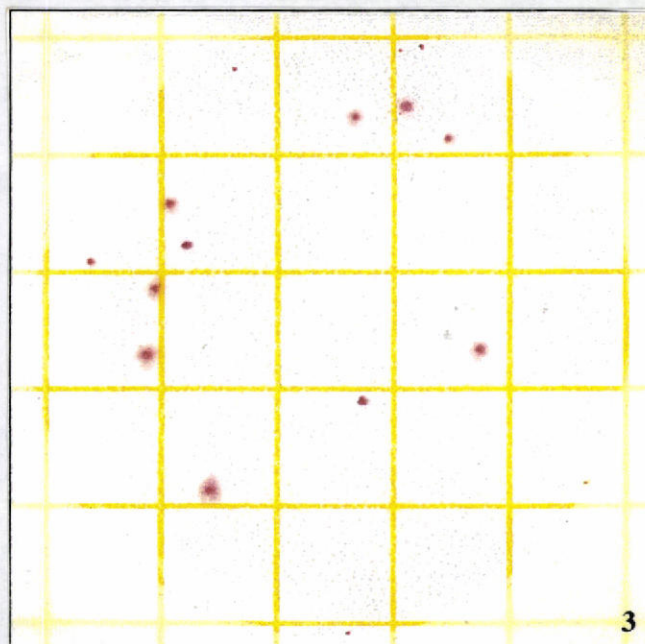
ANEXO # 7

PETRIFILM PLACA DE RECUENTO AERÓBICO GUÍA DE INTERPRETACIÓN



2. Recuento de Aeróbicos = 2

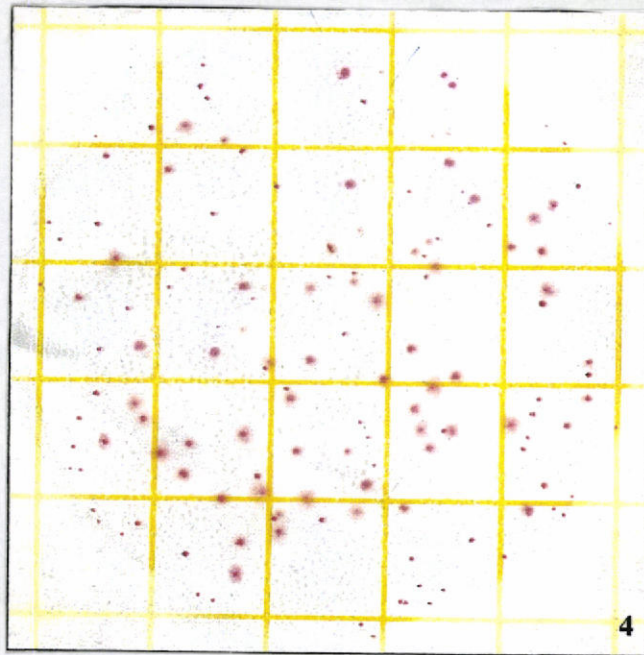
En la figura 2 aparece una placa Petrifilm para recuento aeróbico sin colonias.



3. Recuento = 16

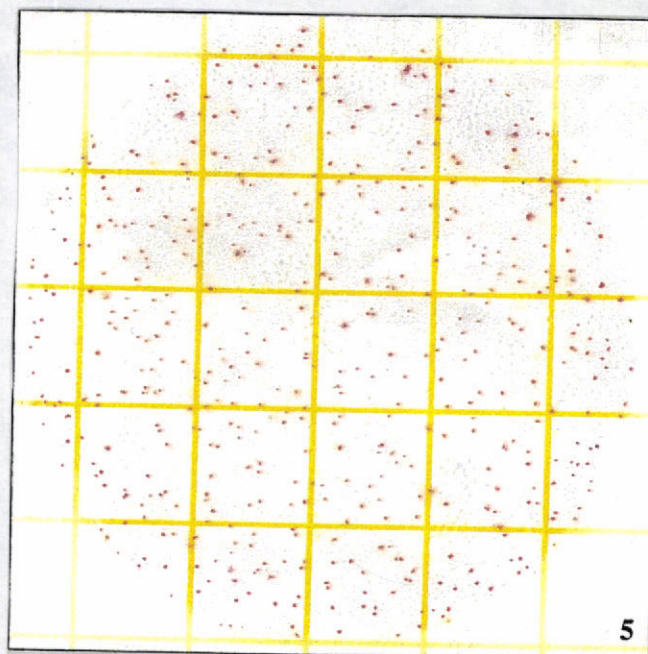
La figura 3 muestra con unas pocas colonias.

Un indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias. Cuento todas las colonias sin importar la intensidad de color o el tamaño utilice un contador de tipo Quebec para leer la placa Petrifilm.



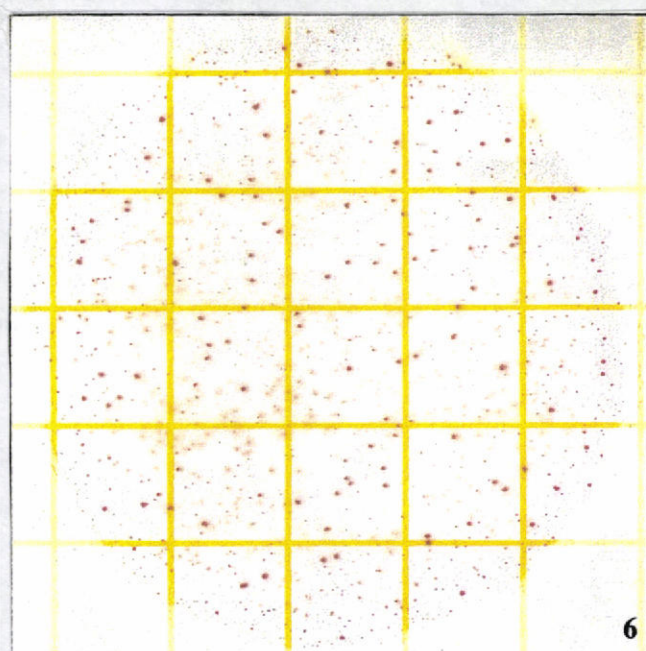
4. Recuento = 143

Como con la placa de agar, el rango de recuento en la Placa de recuento aeróbicos Petrifilm es de 25 a 250 colonias. Ver figura 4.



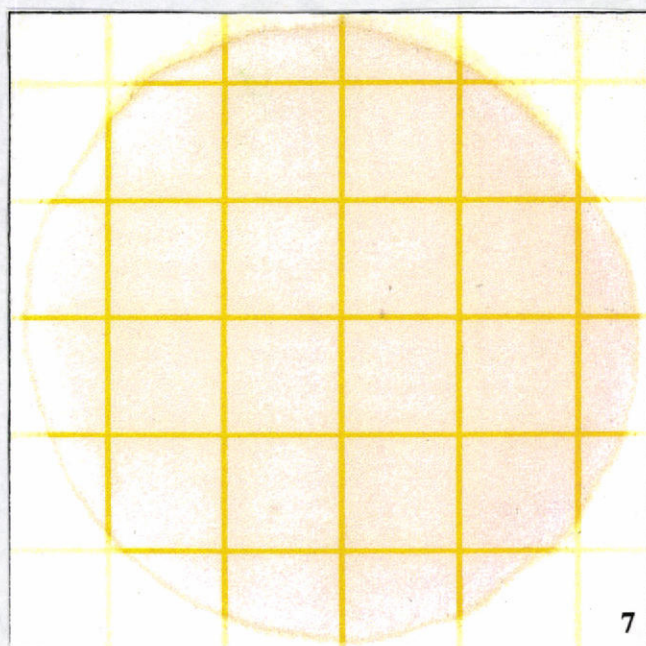
5. Recuento estimado = 420

Cuando el número de colonias suman más de 250, ver figura 5, estime el recuento. Determine el promedio de colonias por centímetro cuadrado y multiplique por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de crecimiento en una placa para recuento de Coliformes es de 20 centímetros cuadrados aproximadamente. (Ver figura 6).



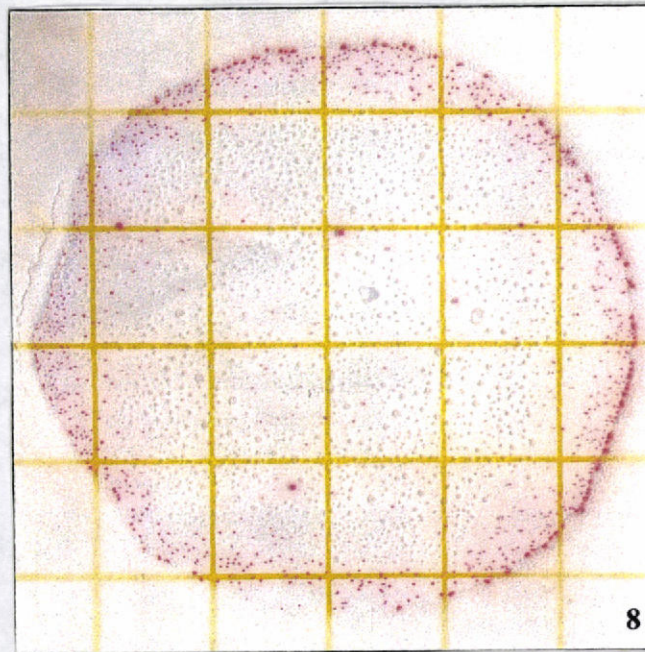
6. Recuento = MNPC

La figura 6 muestra un recuento Muy numeroso Para contar (MNPC).



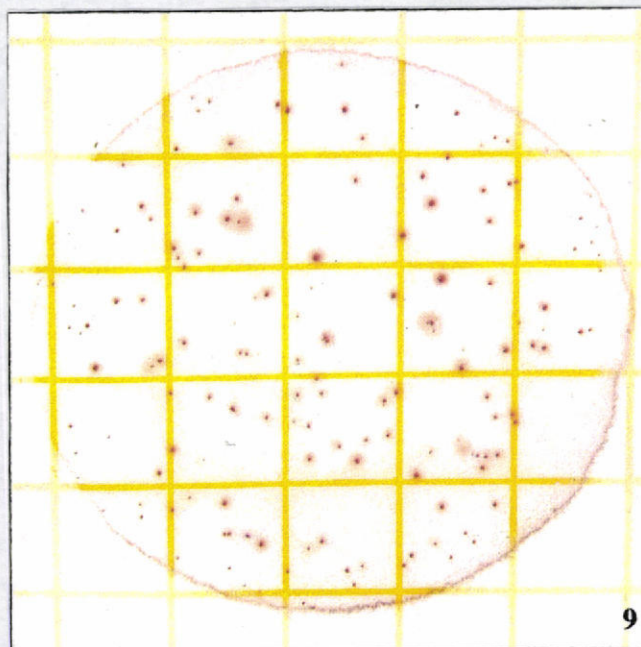
7. Recuento = MNPC

Con población MNPC el área de crecimiento se puede tornar rosada como se muestra en la figura 7. Se podrá observar algunas colonias individuales en el borde del área de crecimiento. Este resultado se debe reportar como MNPC



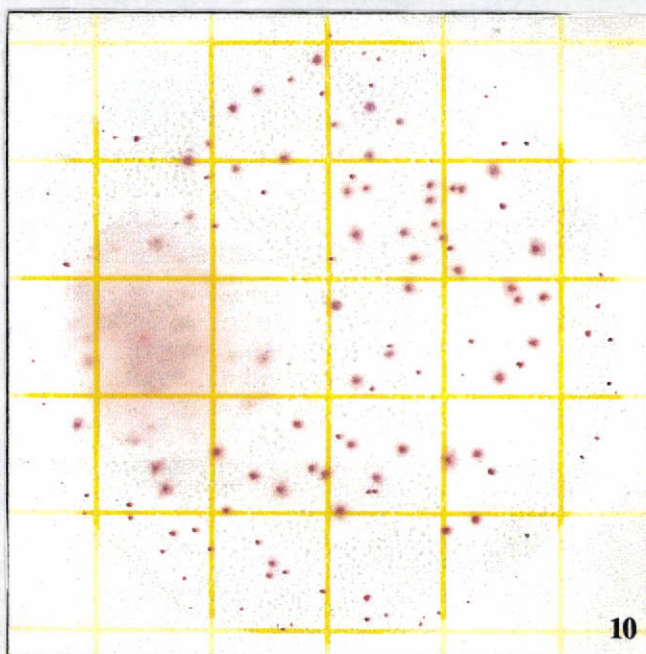
8. Recuento = MNPC

Ocasionalmente la distribución de las colonias es desigual, como aparece en la figura 8. Esto es una indicación de MNPC



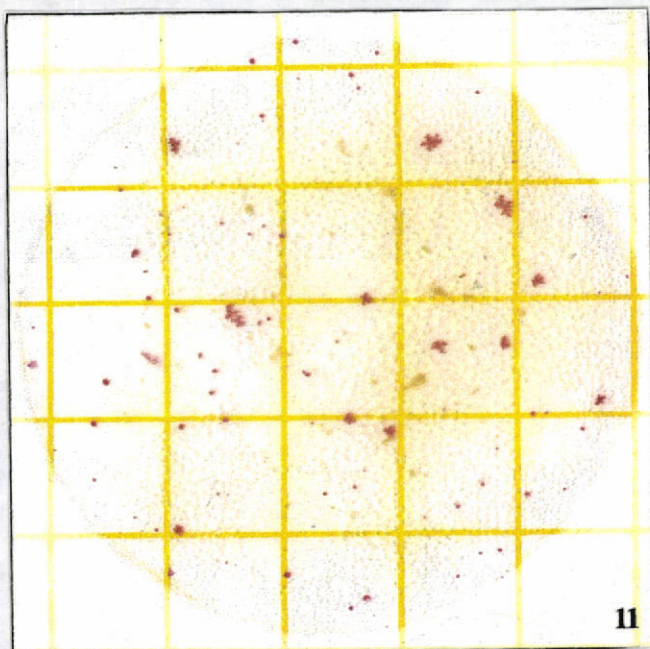
9. Recuento = MNPC

Las colonias la figura 9 parecen contables a primera vista. Sin embargo, cuando se observan los bordes de crecimiento detenidamente, se puede ver una alta concentración de colonias. Este resultado se debe reportar como MNPC. Ver figura 9.



10. Recuento estimado = 160

Algunas especies de bacterias licúan la Placa para recuento aeróbicos, como se muestra en la figura 10. Cuando esto sucede determine el número promedio del recuento de los cuadrados no afectados y calcule el recuento total de bacteria. No cuente las manchas rojas en las áreas licuadas.

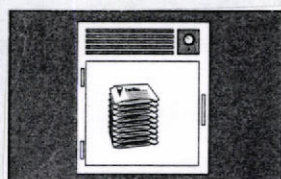


11. Recuento = 83

En las Placas Petrifilm para el recuento aeróbicos se puede diferenciar fácilmente las colonias y las partículas de alimentos, las cuales son opacas. Observe la figura 11.

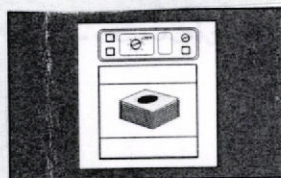
ALMACENAMIENTO

1. Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
2. Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.
3. Mantener las bolsas cerradas de nuevo a $\leq 21^{\circ}\text{C}$, a $\leq 50\%$ HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm durante un mes después de su apertura.



INCUBACIÓN

Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas, según las normas locales de incubación para tiempo y temperatura así: 30 o $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas (normas AFNOR, normas IDF), 32 o $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas ± 2 horas (métodos estándar para pruebas de productos lácteos, normalizados por la AOAC).



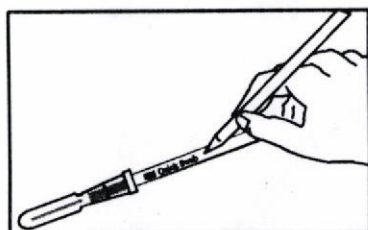
ANEXO # 8

Métodos con Swabs - Hisopado Húmedo

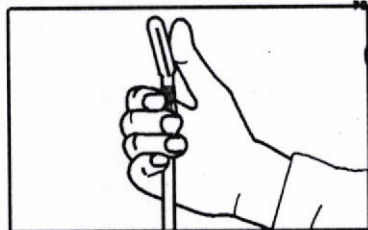
3M Swab Rápido



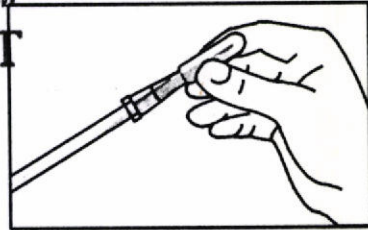
CIBT



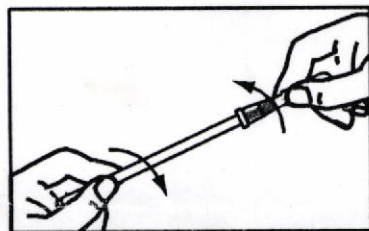
1 Tomar la cantidad deseada de 3M Quick Swabs de la bolsa plástica resellable. Etiquetar cada swab.



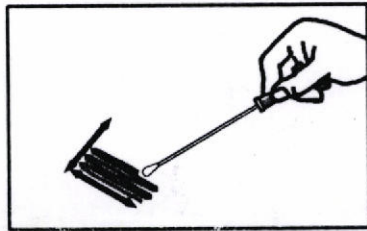
2 En el lugar del muestreo, preparar el swab sosteniéndolo con el bulbo cerca de su dedo pulgar. Presionar los lados del bulbo y doblar a un ángulo de 45° hasta que se escuche que se rompe la válvula. Esto permite que el caldo letheen fluya al interior del tubo y moje el swab.



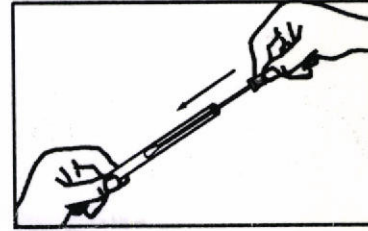
3 Apretar el bulbo para forzar que todo el caldo letheen pase al interior del tubo del swab.



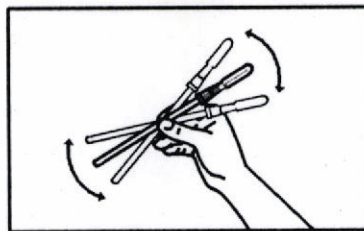
4 Girar y tirar del bulbo a que salga del tubo.



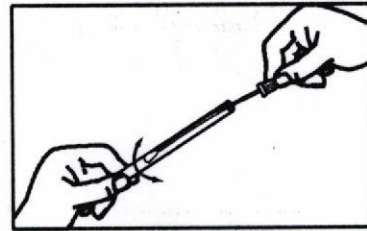
5 Sostener el swab en un ángulo de 30° con respecto a la superficie a muestrear. Frotar el swab lenta y completamente por toda la superficie del área deseada. Repetir esta operación tres veces sobre esta superficie, en tres direcciones distintas.



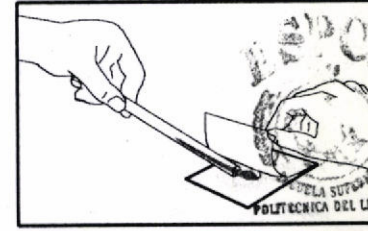
6 Después de completar el muestreo, insertar el swab nuevamente en el tubo y transportar al laboratorio para ser inoculado.



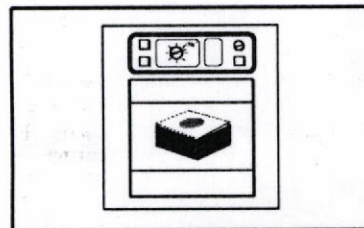
7 En el laboratorio, agitar vigorosamente el swab (puede hacerse con un vortex) para liberar las bacterias de la punta del swab.



8 Exprimir el contenido del swab presionando y girando el contenido del swab contra la pared interna del tubo. Seguir sus protocolos actuales para el desecho del material.



9 Vaciar cuidadosamente el contenido del tubo sobre una Placa Petrifilm™ o 3M Redigel™.



10 Incubar y enumerar tal como se indica en los instructivos del paquete. Referirse a las Guías de Interpretación cuando se lean los resultados.

Resultados del Método de Contacto Directo

$$\begin{aligned} &\text{Recuento en la Placa Petrifilm}^{\text{TM}} \\ &\quad \times \\ &\quad \text{Volúmen de diluyente (1 ml)} \\ &\quad = \\ &\text{Recuento Total / Área Muestreada} \end{aligned}$$

EMPESEC
QUALITY CONTROL

MICROBIOLOGY ANALYSIS

Analyst by: Angela Santos
Date: Mayo 23/02
Sowing Date: Mayo 21/02

Loins
Cans
Pouch

Date	Time	Code	Lot	Boat	Specie	A.P.C.	C. Total	E. Coli
Linea 1	9:00	fomo limpio	76	Michele	B/E	$1,1 \times 10^4$	2×10^1	Ausencia
		broth preparado				$1,4 \times 10^5$	5×10^3	Ausencia
		Mezclado				$2,4 \times 10^5$	$2,7 \times 10^2$	1×10^1
Linea 3	12:45	fomo limpio	77	Elizabeth	Y/F	$4,2 \times 10^5$	6×10^2	1×10^2
		broth preparado				$1,8 \times 10^5$	$3,2 \times 10^3$	Ausencia
		Mezclado				$5,8 \times 10^5$	$5,3 \times 10^3$	Ausencia



Comments: Muestreo realizado en Pouch Pack. Con la falta de dotificacións
Verificación de falta de jabón y control al personal se
hace imperativo la adopción de medidas tendientes a
orientar a todo el personal en un correcto Sistema de Métodos
de higiene y desinfección.

PARAMETER

A.P.C.	E. Coli	Totals Coliformes
< 100.000/g	< 2/g	< 100/g

EMPESEC QUALITY CONTROL

MICROBIOLOGY ANALYSIS



CIBT

Analyst by: _____

Date: Marzo 9 / 02

Sample Date: Marzo 7 / 02

Water

Juice

Ambient

Surface of Contac manos.

Others _____

Time	Sample	A.P.C.	C. Total	E. Coli
12:30am	línea # 4	1×10^5	$< 10^*$	Ausencia
	línea # 2	$4,8 \times 10^5$	3×10^1	Ausencia
	línea # 4	$6,9 \times 10^4$	45×10^2	Ausencia
	Inspectora Q.c.	6×10^3	3×10^1	Ausencia
	Inspectora Q.c	8×10^2	< 10	Ausencia
	línea # 4	$8,7 \times 10^3$	< 10	Ausencia
	línea # 2	MNPC	$< 10^*$	Ausencia
	línea # 4.	$2,4 \times 10^3$	< 10	Ausencia
				0



CIBT

Comments: MNPC: Muy numeroso para contar
* Presencia de Colonias gran negativas. No Coliformes.
Muestras realizadas en la echada principal a líneas de limpieza después del lavado y desinfección de manos.

PARAMETER			
INEN Norm	A.P.C.	C. Total NMP/100 ml	E. Coli
Drinking water	Max. cfu/ml		Absence
Manos.	Max. 3×10^3 cfu/ml	< 10 UFC/cm ²	Absence

Asesor

EMPESEC QUALITY CONTROL

MICROBIOLOGY ANALYSIS

Analyst by: _____

Date: Marzo 9/02

Sample Date: Marzo 7/02

Water

Juice

Ambient

Surface of Contac

Others _____

Time	Sample	A.P.C.	C. Total	E. Coli
11:30a.m.	bebedero # 1	1,6 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 3	2	0	Ausencia
	bebedero # 4	1,4 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 5*	8,6 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 6*	MNPC	0	Ausencia
	bebedero # 7	1,6 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 8*	9 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 9*	8,4 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 10	7 x 10 ¹	0	Ausencia
	bebedero # 12 ✓	3 x 10 ¹	0	Ausencia

Comments: bebedero # 2 no existe
bebedero # 11 sin funcionamiento.
* Cambio de filtros.
✓ chequeo



PARAMETER			
INEN Norm	A.P.C.	C. Total NMP/100 ml	E. Coli
Drinking water	Max 3 x 10 ¹ cfu/ml	0	Absence
	Max. cfu/ml		Absence

Handwritten signature or initials.

EMPESEC
QUALITY CONTROL

MICROBIOLOGY ANALYSIS

Analyst by: _____

Date: Mayo 31/02

Sample Date: Mayo 29/02

Water

Juice

Ambient

Surface of Contact

Others _____

Time	Sample	A.P.C.	C. Total	E. Coli
7:10am	Linea 1	MNPC	6	Ausencia
7:08am	Linea 2	$1,1 \times 10^1$	0	Ausencia
6:59am	Linea 3	$2,4 \times 10^2$	0	Ausencia
6:55am	Linea 4	MNPC	8	1 ufc.

Comments: _____

PARAMETER			
INEN Norm	A.P.C.	C. Total NMP/100 ml	E. Coli
Drinking water	Max. cfu/ml		Absence
Super Inertes	Max. 1×10^2 cfu/ml	0 ufc/cm ²	Absence

Handwritten mark

**EMPESEC
CONTROL DE CALIDAD**

INSPECCION SANITARIA PRE-INICIO DIARIO

Monitor: _____

Fecha: _____

Hora: _____

Turno: _____

Area: buche

DESCRIPCION E INSPECCION LIMPIEZA Y SANITACION	S	NS	C	NC	DESCRIPCION E INSPECCION LIMPIEZA Y SANITACION	S	NS	NC
Area de Descongelamiento					Area de Cocina			
Cistena de recirculación					Parte interna de Cocina			
Paredes					Parte externa de Cocina			
Piso					Cocinadores de Panza			
Canales de Drenaje					Piso			
Cortinas					Canales de drenaje			
					Area de Enfriadores:			
					Sistema de tuberías			
					Paredes			
					Piso			
Area de Raqueo								
Volteador de Pescado					Bandeja para sanitación de manos			
Sierra Cinta					Lavadero			
Sierra Circular					Dosificador de jabón			
Mesa					Recipiente de Basura			
Carros					OBSERVACIONES:			
Paredes								
Canales de drenaje								
Piso								

C: Corregido NC: No corregido

S: Satisfactorio

NS: No satisfactorio

Q.C.

DESBUCHÉ

**EMPESEC
CONTROL DE CALIDAD**

S-05

INSPECCION SANITARIA PRE-INICIO DIARIO

Monitor: _____

Fecha: _____

Hora: _____

Turno: _____

Area: Enlatado

DESCRIPCION E INSPECCION LIMPIEZA Y SANITACION	S	NS	C	NC
Area despaletizadora				
Despaletizadora				
Despaletizadora				
Rieles de transportación de latas				
Escalera				
Pisos y paredes				
Recipiente de basura				
Area de marmitas				
Marmita y tuberías para agua				
Marmita y tuberías para				
Línea				
Banda transportadora de pescado				
Máquina llenadora				
Dosificador de agua				
Dosificador de				
Banda y base recolectora en la línea de dosificación				
Máquina selladora				
Lavadora de latas				
Banda transportadora de latas				
Base de hidráulico				
Piso y canal de drenaje				
Recipiente de basura				

C: Corregido

NC: No corregido

S: Satisfactorio

NS: No satisfactorio

Q.C.

SANITACIÓN

c.c. Sanitación

INSPECCION SANITARIA PRE-INICIO DIARIO

Monitor: _____ Fecha: _____ Hora: _____ Turno: _____ Area: Enlatado

DESCRIPCION E INSPECCION LIMPIEZA Y SANITACION	S	NS	C	NC
Area despaletizadora				
Despaletizadora				
Despaletizadora				
Rieles de transportación de latas				
Escalera				
Pisos y paredes				
Recipiente de basura				
Area de marmitas				
Marmita y tuberías para agua				
Marmita y tuberías para				
Línea				
Banda transportadora de pescado				
Máquina llenadora				
Dosificador de agua				
Dosificador de				
Banda y base recolectora en la línea de dosificación				
Máquina selladora				
Lavadora de latas				
Banda transportadora de latas				
Base de hidráulico				
Piso y canal de drenaje				
Recipiente de basura				
DESCRIPCION E INSPECCION LIMPIEZA Y SANITACION	S	NS	C	NC
Línea				
Banda transportadora de pescado				
Máquina llenadora				
Dosificador de agua				
Dosificador de				
Banda y base recolectora en la línea de dosificación				
Máquina selladora				
Lavadora de latas				
Banda transportadora de latas				
Base de hidráulico				
Piso y canal de drenaje				
Recipiente de basura				
Area de Autoclaves				
Autoclaves				
Carros y separadores				
Piso y paredes				
Canal de drenaje				
Area de enfriamiento del producto				
Observaciones:				

C: Corregido NC: No corregido

S: Satisfactorio NS: No satisfactorio

_____ Q.C.

_____ SANITACIÓN

DOUBLE SEAM EXAMINATION

Date:----- Line:----- Thickness:-----
 Can Size:----- Reviewed by:----- Height:-----
 Countersink:----- Body Hook:----- Droop:-----
 Overlap:----- Tightness:----- Vacuum:-----

Time:----- Recheck Time:----- Q.C.----- Can Code:----- Supplier:-----

Measurements	Head # 1	Recheck	Head # 2	Recheck	Head # 3	Recheck	Head # 4	Recheck	Head # 5	Recheck	Head # 6	Recheck	ACTION TAKEN
Height													By Inspector:
Vacuum													By Mechanic:
Thickness													
Body Hook													
Overlap													
Cover Hook													
Tightness / Droop													
Countersink													

Time:----- Recheck Time:----- Q.C.----- Can Code:----- Supplier:-----

Measurements	Head # 1	Recheck	Head # 2	Recheck	Head # 3	Recheck	Head # 4	Recheck	Head # 5	Recheck	Head # 6	Recheck	ACTION TAKEN
Height													By Inspector:
Vacuum													By Mechanic:
Thickness													
Body Hook													
Overlap													
Cover Hook													
Tightness / Droop													
Countersink													

Time:----- Recheck Time:----- Q.C.----- Can Code:----- Supplier:-----

Measurements	Head # 1	Recheck	Head # 2	Recheck	Head # 3	Recheck	Head # 4	Recheck	Head # 5	Recheck	Head # 6	Recheck	ACTION TAKEN
Height													By Inspector:
Vacuum													By Mechanic:
Thickness													
Body Hook													
Overlap													
Cover Hook													
Tightness / Droop													
Countersink													



MAQUINAS CERRADORAS

1. Tipos

Se diferencian, según la forma del envase, dos clases: de envase parado y de envase giratorio.

Para envases redondos, se suelen emplear cerradoras de envase giratorio que permiten altas velocidades de cerrado (1.000 envases/minuto). En ellos, el conjunto formado por el mandril, plato-base y envase gira mientras las rullinas se aproximan para efectuar el cierre. El envase y la tapa son alimentadas separadamente, colocándose entre el mandril y el plato, siendo el expulsor quien mantiene la tapa en su lugar mientras el plato sube hasta oprimir el envase contra el mandril.

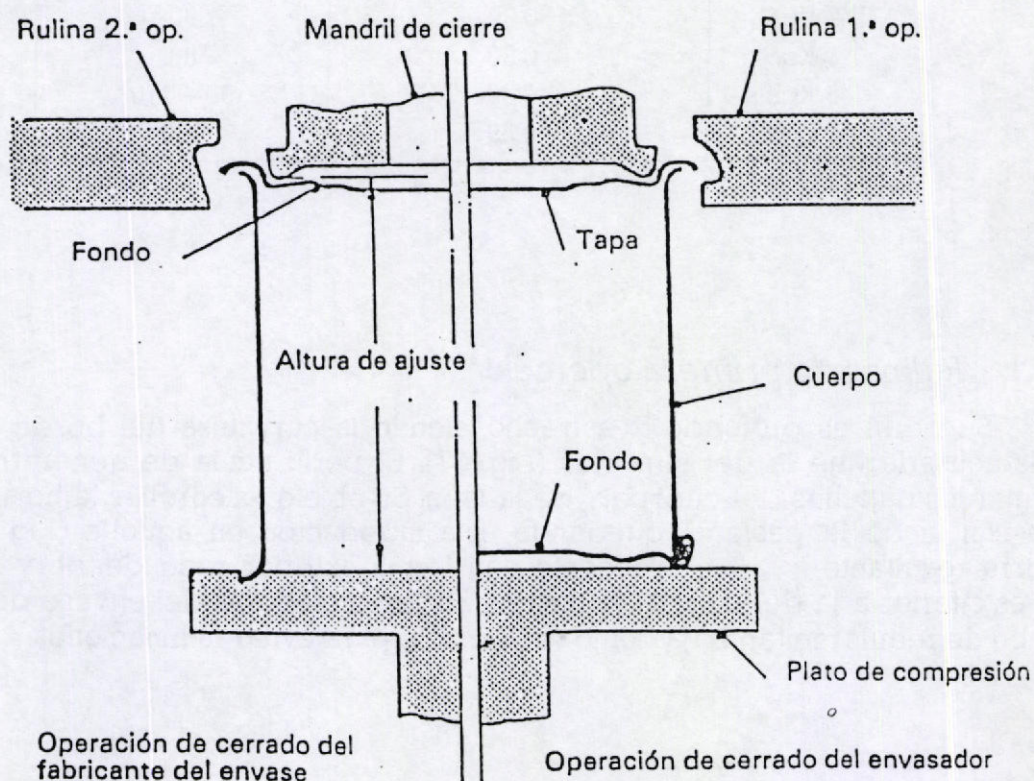


Figura 36. Esquema de la operación de cerrado.

Para envases rectangulares, ovales, etc. se suelen emplear cerradora de envase parado, cuya velocidad de cierre disminuye respecto a si se usara con bote redondo en las que el envase permanece estático entre el plato y el mandril mientras las rulinas giran y ejercen una presión, regulada por leva, para efectuar el cierre. Acabado éste el expulsor separa el envase del mandril, acompañado al plato inferior en su movimiento de descenso.

Existen dentro de cada tipo, máquinas manuales, semiautomáticas, automáticas, a vacío, con aplicación de chorro de vapor en el espacio de cabeza, con chorro de nitrógeno o anhídrido carbónico, etcétera.

2. Elementos

2.1. Rulinas

Son rodillos de acero inoxidable especial, con un grado de dureza muy elevados montados sobre un eje o sobre cojinetes. El brazo donde se insertan efectúa movimiento de aproximación y separación respecto al mandril, de modo manual o automático según la cerradora que se trate.

Tienen una garganta con un perfil especial, de forma variable según sea de primera o de segunda operación, el formato del envase y el calibre de la hojalata

La forma y dimensiones de los perfiles de las rulinas influyen sobre la hermeticidad del cierre.

PRESION DEL PLATO BASE

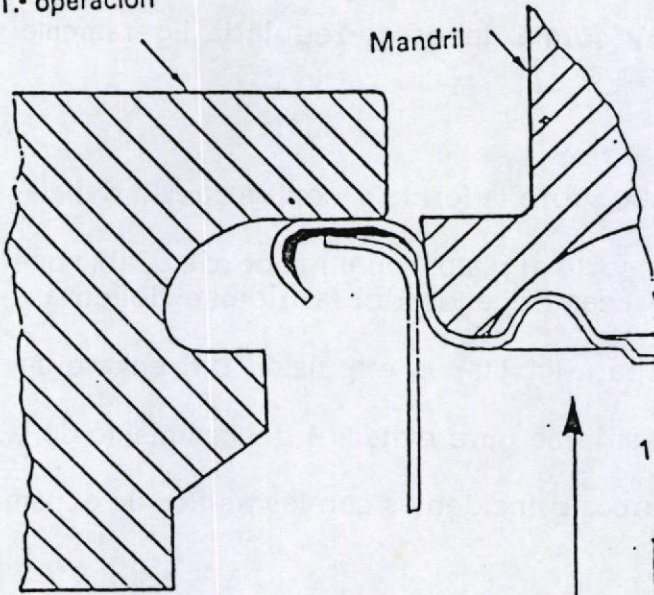
Formato	Calibre Hojalata cuerpo (mm.)	Presión plato base (Kgs.)
1/4 Kg.	0,25	60 - 70
1/2 Kg.	0,30	80
1 Kg.	0,30	80
5 Kgs.	0,39	90 - 110
10 Kgs.	0,39	150

2.1.1. Rulinas de primera operación

Su perfil es profundo y estrecho, siendo la curvatura del borde inferior más acusada que la del superior (Fig. 37). El perfil actúa de generatriz para formar los ganchos del cuerpo y de la tapa. Su objeto es enrollar la hojalata del ala con la de la pestaña, quedando esta introducida en aquélla (Fig. 37). El cierre resultante presenta una forma exterior redondeada y su altura es inferior a la del cierre terminado. En las cerradoras del envase de forma, debe de regularse tan baja como sea posible para evitar laminaciones.

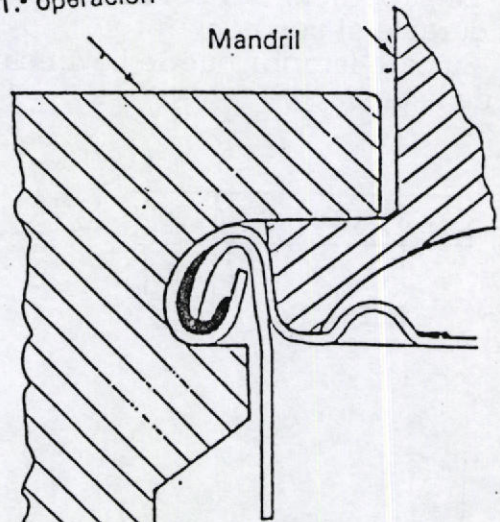
Rulina
1.ª operación

Mandril



Rulina
1.ª operación

Mandril



Rulina
2.ª operación

Mandril

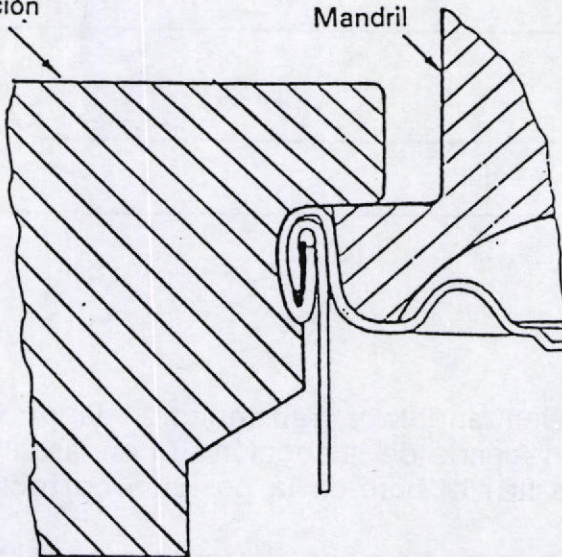


Figura 37. Realización de la primera y segunda operación de cerrado.

2.2.2. Rulinas de segunda operación

Su perfil es menos profundo y más alto, presentando una curvatura más acentuada en su borde superior (Fig. 37)

Realiza la operación de acabado presionando el cierre formado en la primera operación contra el mandril, de modo que los ganchos queden planchados y rectos

En las cerradoras de envases de forma debe ser regulada ligeramente más alta que en las de envases cilíndricos.

2.2. Mandril

Sus dimensiones influyen también, sobre la forma y configuración del cierre (Fig. 36).

Consta de un eje que sirve de soporte al plato, con un reborde o labio que se ajusta a la tapa y cuyas características depende del fabricante del envase (Figura 40).

Este labio es de forma cónica para facilitar la expulsión del envase cerrado.

La superficie del borde suele estriarse para evitar el deslizamiento de la tapa durante el cerrado.

Su cara inferior puede llevar surcos coincidentes con los anillos de expansión de la tapa.

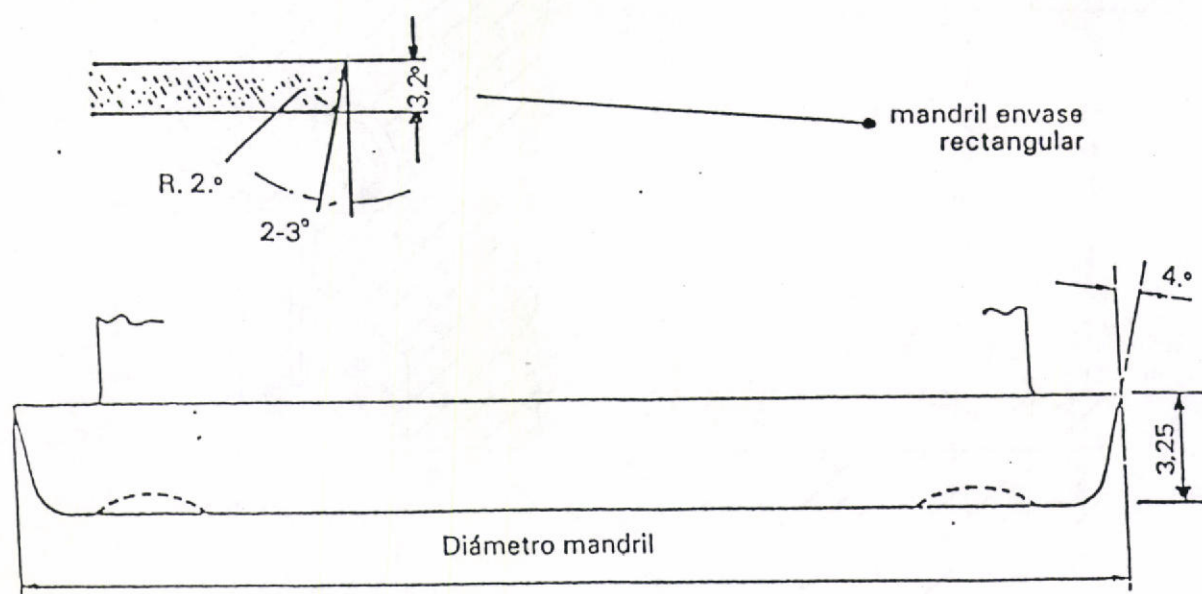


Figura 40. Dimensiones del mandril de cierre.

2.3. Plato base

Sirve de soporte al envase, centrándolo y transmitiendo la presión del muelle sobre el mandril. Su forma depende de la sección del envase, llevando unos canales en su superficie para fijar el bote en la posición correcta (Figura 36).

Va montado sobre un eje. En reposo está a una altura del mandril superior a la del envase con la tapa, en el momento de cerrado. La presión se regula ajustando la distancia entre el plato y el mandril en el cierre. La presión requere-

rida depende según formatos y calibre de la hojalata del cuerpo, variando según tipo de cerradora, estado del muelle, etc.

El centrado del plato tiene, también influencia en el cierre. Su falta origina el defecto denominado "patinaje".

Debe de estar lo más paralelo posible al mandril y perfectamente centrado respecto al eje.

2.4. *Expulsores*

Contribuyen al mantenimiento de la correcta posición de la tapa sobre el envase antes de llegar a la posición de cierre y separan el envase cerrado del mandril.

En las cerradoras con chorro de vapor es necesario una completa sincronización de los movimientos del plato y el expulsor. Su ajuste es tanto más crítico cuanto mayor sea la velocidad de cerrado.

3. Regulación

Cada cerradora requiere una regulación específica según sus especificaciones, formato, calibres de hojalata, tipos de tapa y cuerpos. A pesar de ello, se suele seguir el procedimiento siguiente:

1. Comprobación de que mandriles y rulinas sean las adecuadas al tipo de envase.
2. Verificación de que la máquina está ajustada en cuanto a la altura del envase.
3. Comprobar que las rulinas están en un mismo plano horizontal.
4. Comprobar presiones de cerrado de las rulinas.
5. Comprobar el espesor del cierre y la profundidad de cubeta.

El elemento básico de la regulación es la presión del plato base que debe ser constante y controlada sobre el cuerpo del envase. Im-
portancia tiene el diámetro del mandril y el perfil de las rulinas elegidas.

Esta regulación es mucho más delicada en las cerradoras para envases de forma. Su estado deber ser perfecto en orden a evitar holguras en los brazos porta-rulinas, descentramientos del plato, cierres laminados, y todo el resto de defectos de cierre que se dan en envases redondos, que se producen más fácil y acentuadamente.

CIERRE: CARACTERISTICAS, DEFINICION Y ELEMENTOS

1. Definición

El cierre es la parte del envase formada por la unión de los extremos del cuerpo ("pestaña") y de la tapa ("ala"), enganchados de forma que dé lugar a una estructura fuerte, compacta, estanca y hermética.

En un envase de tres piezas se diferencia tres cierres:

- a) Cierre de la costura lateral;
- b) Cierre del fondo, que suele efectuar el metalgráfico; y
- c) Cierre de la tapa, que suele realizar el envasador.

Por contra, los envases embutidos o de dos piezas sólo contienen un cierre, el de la tapa, a efectuar por el envasador.

Un *buen cierre* es condición *necesaria* pero *no suficiente* para evitar la contaminación microbiana, corrosión y/o alteración organoléptica del producto envasado. Además es un elemento esencial para garantizar la calidad del producto envasado en recipiente metálico de dos o tres piezas.

2. Formación del cierre

El doble-cierre se efectúa según se recoge en el esquema de las figuras 36 y 37, pudiéndose descomponer en tres etapas:

- Compresión
- Primera operación
- Segunda operación

En la mayoría de las máquinas cerradoras existentes estas etapas se efectúan mediante la acción de las rulinas sobre el envase/tapa y contra el mandril. Consisten en:

2.1. Compresión

El envase se sitúa sobre un plato regulable que se desplaza verticalmente (plato de compresión), quedando retenido entre éste y el mandril de cierre.

Su objeto es evitar el movimiento relativo del envase sobre el mandril, permitiendo las transformaciones posteriores de la pestaña del cuerpo y del ala de la tapa/fondo.

2.2. Primera operación

En ella, se procede a enrollar el ala de la tapa con la pestaña del cuerpo. Se consigue mediante la rulina de primera operación, cuyo perfil al aproximarse gradualmente al ala de la tapa, la va curvando hacia abajo, trasladándola con la pestaña del cuerpo.

En la figura 37 se observa cómo la altura del labio del mandril va a ser determinante de lo que en la normalización de envases se denomina "profundidad de cubeta", que aumenta aproximadamente en esta operación y en la siguiente.

2.3. Segunda operación

La rulina de segunda operación (fig. 37) va efectuando de modo progresivo el apriete y laminado del cierre obtenido en la etapa anterior, sin laminar los ganchos de la tapa y del cuerpo, dotándole de una resistencia mecánica y estanqueidad suficiente para soportar con garantías y en condiciones normales de uso las diversas etapas del proceso de fabricación y distribución del envasado.

En esta operación, durante la cual la goma de cierre (compuesto) ocupa el espacio libre y los huecos del mismo, contribuyendo a su hermeticidad.

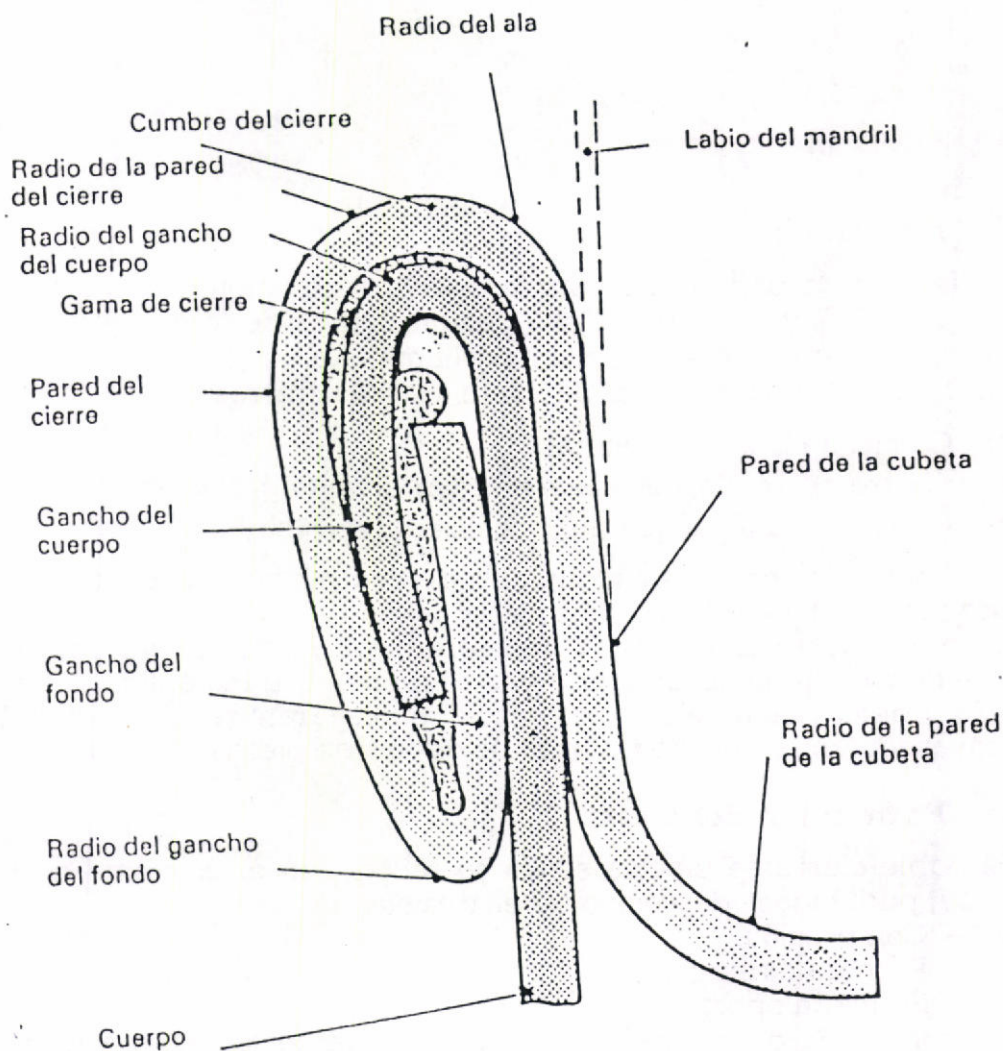


Figura 41. Terminología de un cierre.

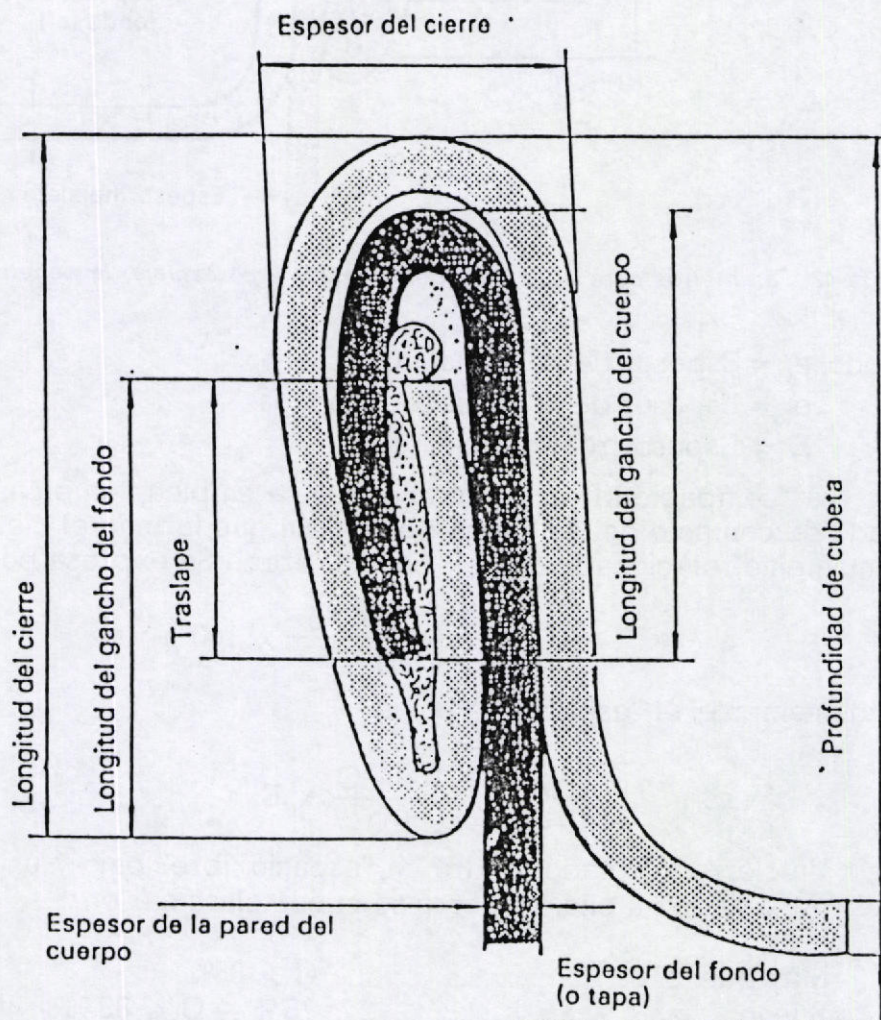


Figura 42. Dimensiones básicas de un cierre

3. Características y factores de integridad de un cierre

3.1. Factores de integridad

La integridad del "doble-cierre" (fig. 41) se consigue por una combinación de la interconexión mecánica entre el cuerpo y la tapa y por el compuesto de cierre, que bloquea cualquier posible fuga.

Los factores que contribuyen a dicha integridad son:

3.1.1. Apretado correcto

1.1. Espacio libre. Compacidad (Fig. 42)

Quiere indicar que el compuesto de cierre está adecuadamente comprimido entre los ganchos del cierre y, por tanto, que el "espacio libre sea muy bajo, pero no nulo.

Este "espacio libre" (Fig. 43) viene determinado por la expresión siguiente:

$$\text{Espacio libre} = E - (2 e_c + 3 e_f)$$

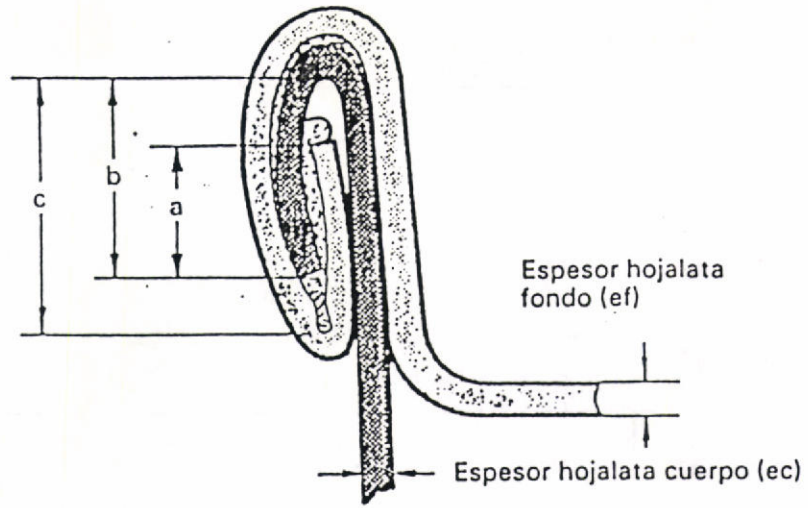


Figura 43. Parámetros para el cálculo del apretado y porcentaje de penetración del gancho.

siendo, e_c = Espesor de la hojalata del cuerpo.

e_t = Espesor de la hojalata de la tapa.

E = Espesor real del cierre.

La "compacidad" es un índice, que se emplea, también, para expresar el grado de contacto de las capas de hojalata que forman el cierre. Por tanto, está íntimamente relacionado con el "espacio libre". Se expresa por:

$$C = \frac{3 e_t + 2 e_c}{E} \times 100$$

Evidentemente, el "espacio libre" es:

$$\frac{100 - C}{100} \times E$$

Un cierre apretado tendrá un "espacio libre" bajo y una compacidad elevada. Atendiendo a ello, el cierre se puede clasificar en:

Muy bueno	$C > 85\%$
Bueno	$75\% \leq C \leq 85\%$
Peligroso	$C < 75\%$

Esta medida de la compacidad es válida sólo para envases redondos y no del tipo usado en bebidas carbonatadas o cerveza, donde la presión interna es elevada. En el caso de los envases de forma, rectangular y oval y puesto que el peso de compuesto es mayor, se puede admitir hasta un valor de compacidad o presión segunda operación mínimo del 60 por 100.

1.2. Arrugas

Por la naturaleza de la operación de cerrado, es inevitable la formación de arrugas (Fig. 44) sobre el gancho de la tapa durante la primera operación, que desaparecen en la segunda. Las que quedan pueden ser observadas a simple vista y dan una indicación sobre el grado de apriete del cierre. Pue-

den originar poros o fugas, aunque, si son poco pronunciadas, no afecten prácticamente.

La longitud de las arrugas, medida desde la parte superior del gancho de la tapa, en relación a la longitud del gancho de la tapa es otra medida del "grado de apretado", que vendrá expresado (Fig. 44) por:

$$\left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

siendo, A = Longitud de las arrugas.

B = Longitud del gancho de la tapa.

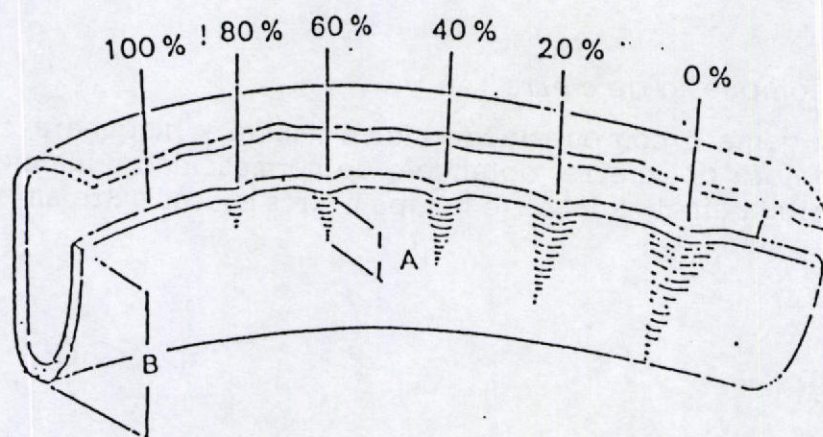


Figura 44 Grado de apretado.

- El "grado de apretado", según las arrugas, debe estar comprendido entre el 75-90 por 100, referido siempre al punto "peor" sobre el gancho de la tapa, debiendo poner especial atención, por lo expuesto, a ambos lados de la "unión" o "montaje". Para los envases de forma, es admisible un valor mínimo del 60 por 100 del grado de apretado.

3.1.2. Penetración gancho cuerpo

La longitud del gancho del cuerpo debe ser en relación con la longitud del cierre suficiente para asegurar que el compuesto de cierre esté correctamente embebido en el rizo de la tapa. Viene indicado en porcentaje por la expresión siguiente:

$$\% \text{ penetración} = \frac{b}{c} \times 100 \text{ (ver Fig. 43)}$$

siendo b = longitud interna del gancho del cuerpo.

c = longitud interna del cierre.

La experiencia ha demostrado que un valor de 70 por 100 se precisa para asegurar un cierre hermético en conservas y de un 80 por 100 para cervezas y bebidas carbonatadas.

3.1.3. *Traslape solapado*

El traslape, solapamiento o superposición de los ganchos del cuerpo y de la tapa (Fig. 42) será el suficiente para garantizar que el compuesto de cierre se encuentre comprimido con un espesor de cierre correcto. Será tan grande como sea posible, aunque varía según las especificaciones del cuerpo, tapa, etcétera, siempre se requiere un mínimo aceptable y que puede ser aproximadamente 1/3 de la longitud del cierre hablando de *traslape* o un 45 por 100 para solapamiento.

El porcentaje de Solapado viene dado por:

$$\% \text{ Solapado} = \frac{a}{c} \times 100 \quad (\text{Fig. 43})$$

siendo, a = distancia que separa los extremos de los ganchos.

c = longitud interna del cierre o distancia máxima teórica (cuando los ganchos de la tapa y del cuerpo llegan hasta los extremos interiores del cierre).

3.1.4. *Compuesto de cierre*

La goma o compuesto de cierre llenará y bloqueará cualquier hueco y espacio libre del cierre, dotándole de hermeticidad. Igualmente, llenará cualquier arruga en el gancho de la tapa u otros huecos entre ambos ganchos.

3.2. *Indicadores de la integridad*

La integridad esta relacionada, por tanto, con las especificaciones y requerimientos que el fabricante indica. Estas varían para cada formato y tipo de envase.

Su evaluación permite garantizar la hermeticidad e integridad del cierre. Dichos parámetros son:

3.2.1. Profundidad de cubeta (Fig. 46)

Como ya se ha indicado, la profundidad de cubeta es modificada por la altura del labio del mandril de cierre y debe de ser 0,13 – 0,25 mm. más profunda que la longitud del cierre para que el mandril permita a la tapa y al cuerpo un buen acoplamiento con el plato de compresión durante la realización del cierre.

Para la mayoría de los envases, la profundidad de cubeta varía de 3,05 a 3,43 mm. En el caso de un envase, no debe variar para cualquier tapa en más de 0,13 mm. Para los envases de cervezas o bebidas carbonatadas, varía de 3,8 a 4,1 mm. En los de forma, la profundidad de cubeta suele oscilar de 3,2 a 3,4 mm., pero siempre inferior a dicho valor máximo.

3.2.2. Longitud del cierre (Fig. 46 y 49)

Esta medida está relacionada con el grado de apretado. Cuanto más largo sea el cierre, mayor grado de apretado presentará.

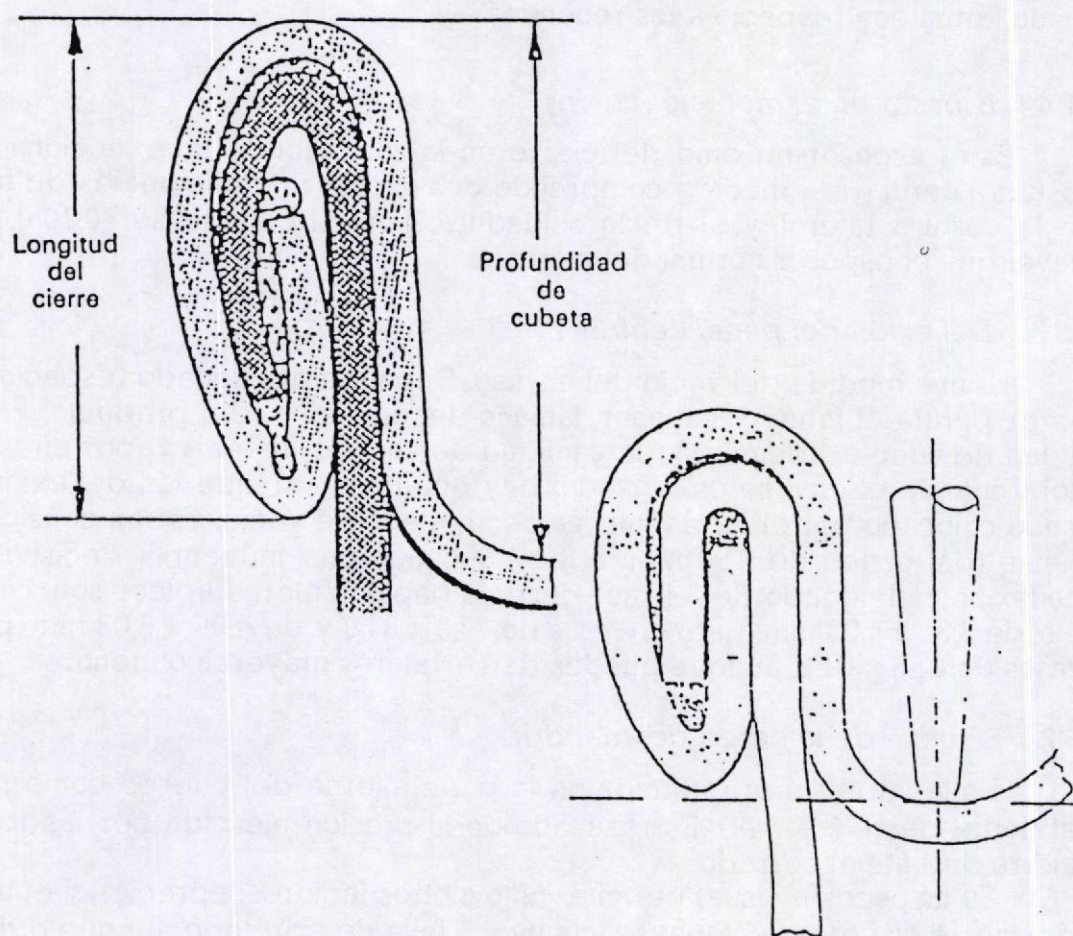


Figura 46 Longitud del cierre y profundidad de cubeta.

El rango normal es de 2,6 a 3,2 mm. según formatos, no debiendo exceder nunca de 3,2 mm. en general ni variar más de 0,15 mm. en un mismo envase. Igual intervalo se puede aplicar para los envases de forma.

La longitud o altura de cierre depende de cómo trabaje la rulina de segunda operación de la máquina cerradora.

3.2.3. *Espesor del cierre (ancho del cierre) (Fig. 41)*

Es otro indicador del grado de apretado del cierre. Así, por ejemplo.

Envase	Espesor del cierre
77,8 x 34,9 mm.	1,17 a 1,32 mm.
87,3 x 51,2 mm.	1,32 a 1,47 mm.
RR - 125	1,40 a 1,55 mm.
1/4 Club (OL-125)	1,40 a 1,50 mm.

No debe variar más de 0,10 mm. alrededor del cierre. En el caso de los envases de dos piezas, el espesor del cierre es algo mayor que para los de tres piezas. No existen diferencias de valor en este parámetro para los envases de forma con respecto a los redondos.

3.2.4. *Espesor en el montaje (unión)*

Es el espesor máximo del cierre en la zona donde intersecciona con la costura lateral. Esta medida comprende dos espesores adicionales de hojalata de la costura lateral y el de la soldadura. Por ello, suele ser 0,20-0,40 mm. mayor que el espesor normal del cierre

3.2.5. *Deflexión del panel central*

Es una medida del vacío del envase. Depende del llenado (espacio de cabeza), perfil del fondo y espesor, tamaño del envase t^a , del producto, y profundidad de cubeta, además de la cantidad de vacío o flujo de vapor en la cerradora cuando el envase es cerrado. Hay que destacar que las deflexiones del fondo colocado por el fabricante, es decir, a envase vacío, varían considerablemente (del orden de 0,50 mm. o más) y tienen una influencia decisiva en las deflexiones del fondo del envase cerrado (tapa). Valores típicos son, por ejemplo, de 3,81 a 4,83 mm. para envases de 77,8 x 34,9 y de 4,06 x 5,08 mm para envases de 87,3 x 51,2, aunque pueden darse valores mayores o menores

3.2.6. *Huella de la pared del mandril*

Es la impresión producida en la parte interna del cuerpo como reacción al doble cierre (Fig. 48). Es resultado de la presión ejercida por las rulas de cierre durante el cerrado.

Su inspección visual permite, junto a otros factores, apreciar si el apretado del cierre es correcto. Su ausencia indica falta de apretado aunque otras medidas sean correctas.

Deberá tener un aspecto ligero, uniforme, claramente visible, libre de irregularidades y siempre alrededor de la parte interna del cuerpo en el cierre.

Una huella excesiva es una indicación de que las rulinas o mandril usados son erróneos o de que la operación de cerrado se ha efectuado con demasiada presión.

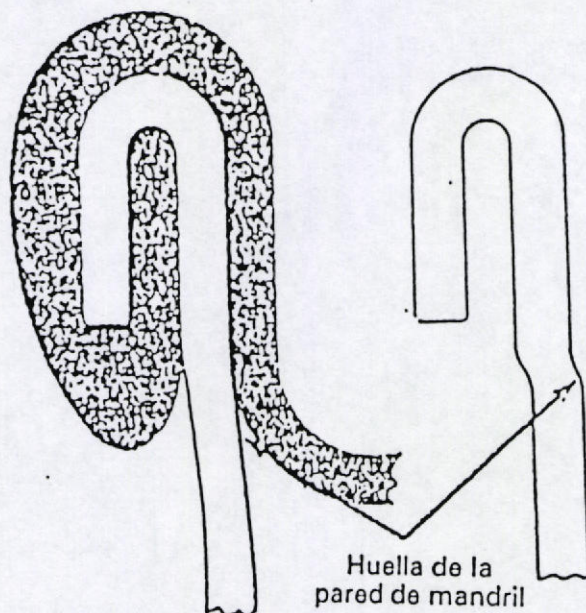


Figura 48 *Huella de la pared del mandril.*

3.3. *Características de un cierre óptimo*

Para que un cierre cumpla con su finalidad de resistencia y hermeticidad debe poseer las siguientes características:

- Para los ganchos del cuerpo y de la tapa deben ser rectos, paralelos y de la misma longitud.
- El borde inferior del cierre debe estar unido al cuerpo y no presentar señales de laminación.
- La cumbre del cierre no debe presentar aristas, ni ángulos agudos ni señales de laminación.
- La cumbre del cierre debe ser ligeramente plana.
- La curvatura exterior del cierre debe ser uniforme y típica del perfil de la rulina de segunda operación.
- La profundidad de cubeta debe ser ligeramente superior (0,13 - 0,25 mm.) a la altura del cierre.
- El compuesto debe cubrir cualquier hueco o espacio libre.
- El cierre debe ser uniforme a lo largo de todo el perímetro.
- La compacidad debe ser superior al 75 por 100; 60 por 100 en los de forma.
- El grado de apretado debe ser, como mínimo, del 75 por 100 y del 60 por 100 para envases de forma.
- El solapado debe ser superior al 45 por 100 el traslape superior a un tercio de la longitud del cierre; es decir, en general, mayor de 1 mm.
- El gancho del cuerpo debe penetrar, como mínimo, el 70 por 100.

Evaluation of a Dry Medium for Detecting Contamination on Surfaces

K.F. McGoldrick, T.L. Fox, and J.S. McAllister



CIBT

□ FOOD CONTACT surfaces and equipment play a major role in the microbiological quality of the finished food product. Consequently, the microbial condition of these food contact surfaces should be of prime interest to all food processors. Surfaces which come in contact with a food product must be periodically sampled to determine the level of microorganisms present. Failure to do so may jeopardize the taste and shelf life of the product, as well as the health of the consumer. Two accepted environmental monitoring procedures are the direct contact plate (RODAC) and swab method (Marth, 1978).

Recently, Petrifilm™ SM (PSM) Plates (3M Medical-Surgical Div., St. Paul, Minn.) have become available to the industrial microbiologist. Ginn et al. (1984) and Smith et al. (1985) demonstrated the medium's effectiveness in enumerating bacteria in raw milk and fresh ground beef, respectively.

The construction of PSM allows it to be used as a direct contact plate or as a "pour plate" to be used in conjunction with the swab method. This study was performed to determine if PSM is effective in detecting microbial contamination on surfaces. Results obtained were compared to the standard RODAC and swab methods.

Test Methods

Prehydrated Petrifilm SM Plates. PSM Plates were prehydrated with 1 mL of buffered dilution water (Marth, 1978). Plates were allowed to gel at least 15 min prior to use. Prehydrated plates were stored under refrigeration for

up to 15 days. To sample a surface, the top film was lifted, and the gel, adhering to the top film, was applied to the surface being tested (Fig. 1 and 2). While holding the film in place, the back of the film was firmly rubbed with one finger to ensure good contact between the gel and the surface. Then the top film was rejoined with the bottom sheet.

Lethen agar RODAC. Pre-poured letheen agar RODAC plates (Di Med, St. Paul, Minn.) were used as recommended (Marth, 1978).

Cotton Swabs. A sterile cotton swab was premoistened in letheen broth. Excess solution was removed by pressing the swab on the inside wall of the test tube. A 22 cm² area was swabbed three times in opposing directions. The swab head was then rotated and the above procedure was repeated on two additional 22 cm² areas. After the third area was swabbed, the swab head was broken off into 6 mL of sterile letheen broth. Tubes were vortexed for 15 sec before plating.

Alginate Swabs. Sterile calcium alginate swabs (Calgiswab®, Spectrum Diagnostic Inc., Glenwood, Ill.) were used as described for cotton swabs. After the third 22 cm² area was swabbed, the swab head was broken off into 5.5 mL of letheen broth, and 0.5 mL of 10% sodium glycerol phosphate was added to solubilize the swab. Tubes

were vortexed for 15 sec before plating.

Preparation of Seeded Surfaces

Bacterial recovery from two dissimilar surfaces was evaluated. A fiberglass tray was used as a rough surface, while a 30 × 50 cm stainless steel sheet (type 304 with #4 finish) provided a smooth surface. The two surfaces were individually seeded with five organisms (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fragi*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*).

Broth cultures were diluted in buffered dilution water. Skim milk broth was added to the diluent (0.7% concentration) to enhance surface wetting. Onto each surface, 5 mL of this preparation were pipetted, spread with a sterile paint brush, and dried at 32°C for 45 min. After sampling, surfaces were wiped with 70% ethyl alcohol and autoclaved (121°C, 15 min) before reseeded.

Sampling Procedure

Each test method was applied within 1 cm of the next so that the total area of surface sampled did not exceed 500 cm² (25 × 20 cm). Prehydrated PSM and RODAC plates were tested in duplicate on each surface. One milliliter of each swab rinse solution was plated, in duplicate, on PSM and on Standard Methods Agar (SMA; Marth, 1978) pour plates. All plates were incubated at 32°C for 24–48 hr. The procedure of seeding and sampling was repeated 12 times with each organism on each surface.

—Text continued on page 79

Authors McGoldrick and McAllister are with Microbiology Products, Medical-Surgical Division/3M, Building 270-3N-4, St. Paul, MN 55144. Author Fox is with Riker Laboratories, Inc./3M, St. Paul, Minn.

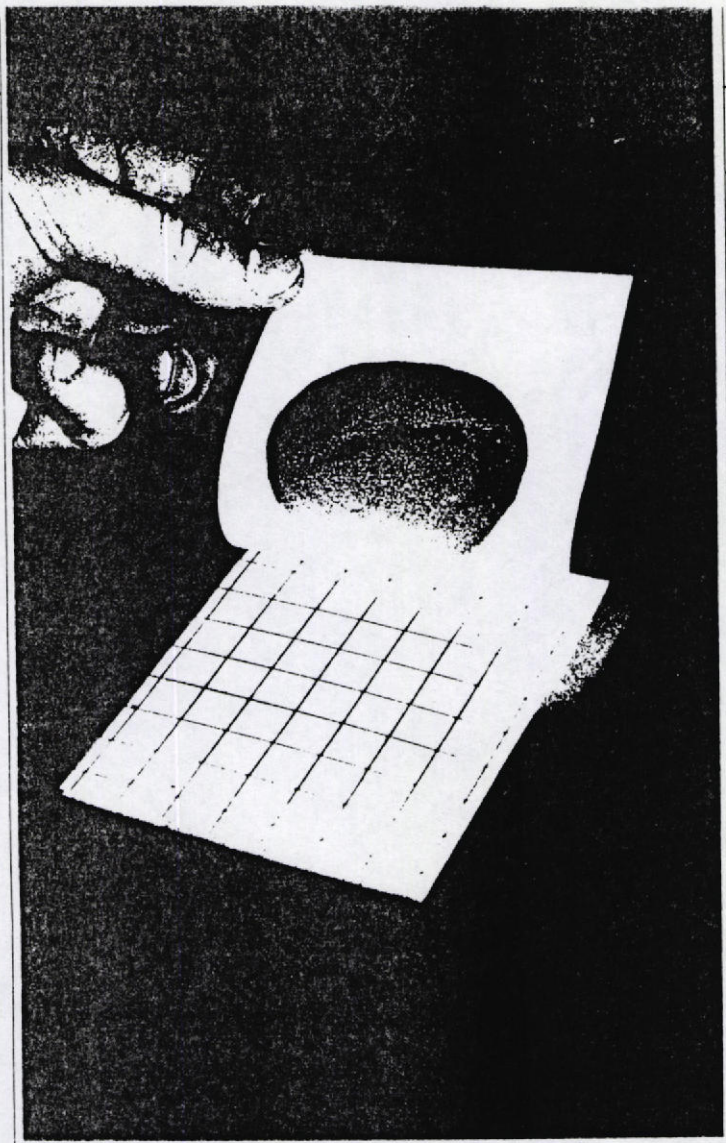
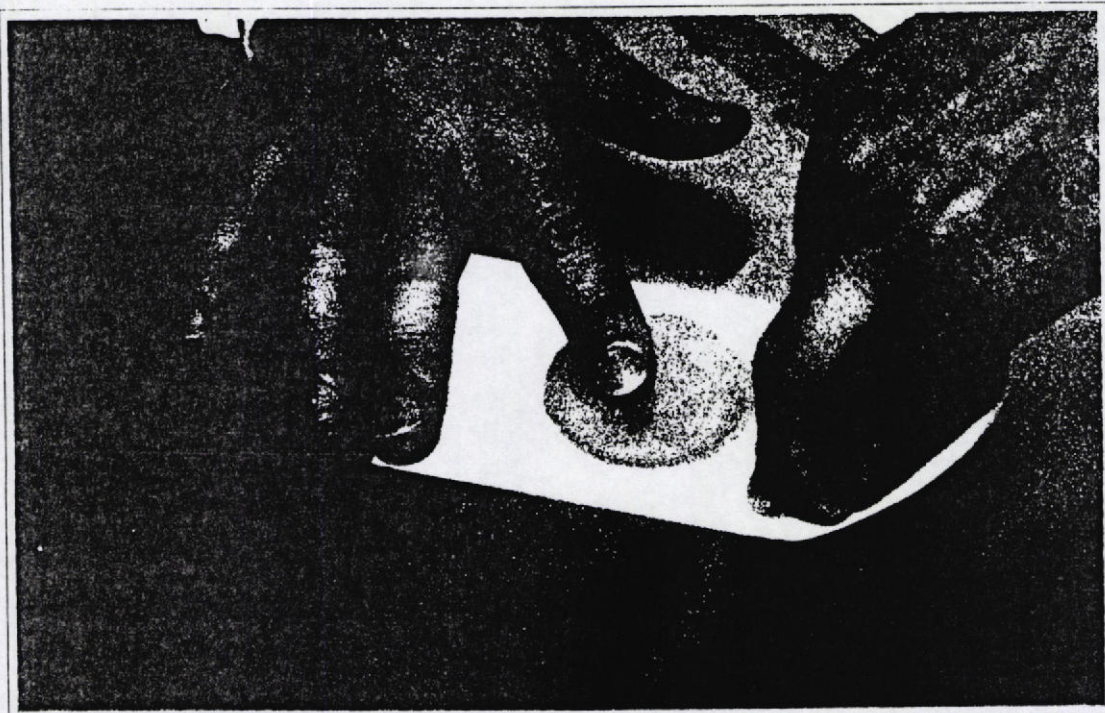


Fig. 1—The Top Film of Petrifilm SM is lifted to expose gel.

Fig. 2—To Recover Organisms, the gel is applied to the surface and rubbed with finger to ensure good contact.



Statistical Methods

Bacterial counts were first converted to \log_{10} counts to more nearly match the underlying statistical assumptions (Snedecor and Cochran, 1980). Standard regression methods were used to calculate least-squares regression lines and 95% confidence limits. Repeatability was calculated as between-replicates standard deviation and coefficient of variation (standard deviation expressed as a percentage of the mean).

Comparison of PSM to Other Methods

As a direct contact method, prehydrated PSM was comparable to the RODAC method (correlation = 0.923). The slope (0.959) and intercept (0.452) indicated that counts on prehydrated PSM tend to be higher than RODAC counts (Fig. 3). Possibly, the gel consistency of the prehydrated PSM is more tenacious than the agar surface of the RODAC plate, and thus, recovers more bacteria.

Throughout the study, RODAC plates had to be checked at 24 hr of incubation since colony spreading made plates with >200 colony forming units (cfu) uncountable at 48 hr of incubation. The gel and inherent structure of PSM restricted colony spreading. Consequently, estimates of up to 1,000 cfu could be successfully made on the prehydrated PSM incubated for 48 hr.

A correlation of 0.968 was obtained when PSM counts were compared to SMA counts for the cotton swab method (Fig. 4). Similarity between the two methods was affirmed with the slope and intercept regression statistics of 1.044 and -0.161 , respectively. For the alginate swab method, PSM compared to SMA with a correlation of 0.964 and a slope and intercept of 1.074 and -0.233 , respectively (Fig. 5).

An important aspect of any test method is the repeatability of the method, i.e., the ability of that method to produce the same counts on replicate plates for a given sample. Table 1 presents repeatability data for the methods tested. As a direct contact method, prehydrated PSM had significantly greater repeatability ($p < 0.01$) than the

- Text continued on next page

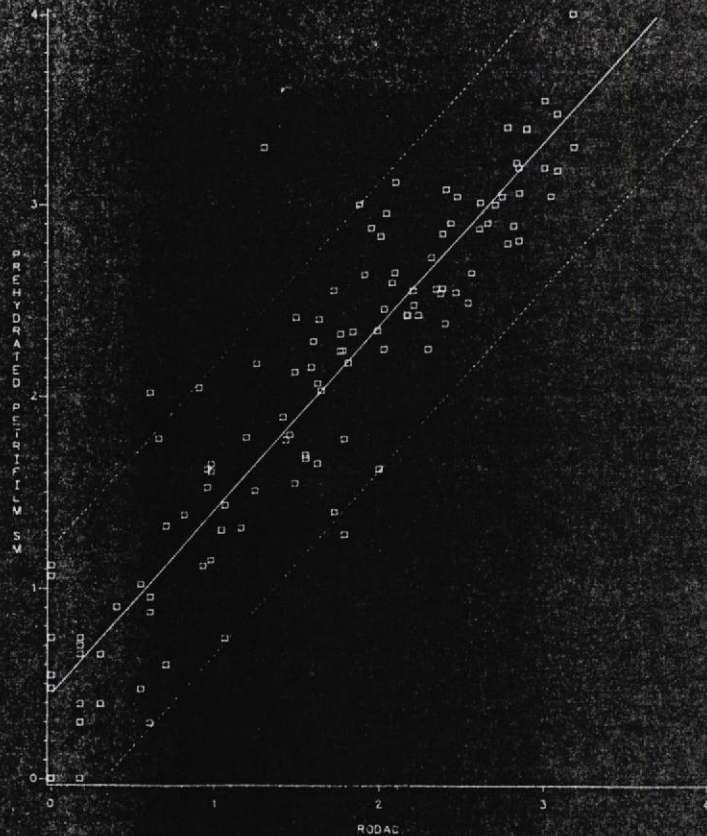
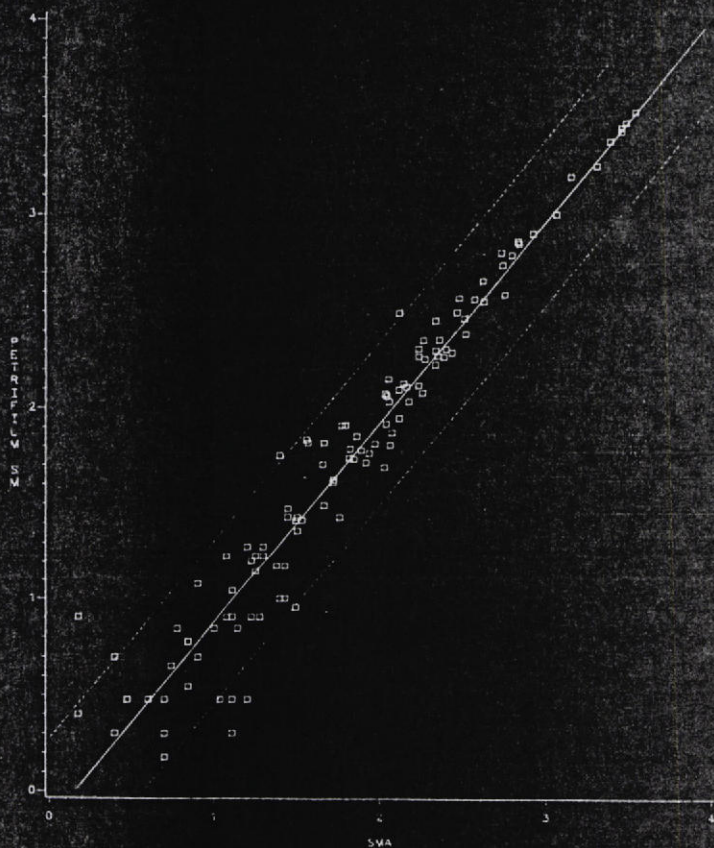


Fig. 3—RODAC Method. Regression line with 95% confidence limits of the prehydrated Petrifilm SM method plotted against the RODAC method (in \log_{10} counts/22 cm²).

Fig. 4—Cotton Swab Method. Regression line with 95% confidence limits of Petrifilm SM Plate Method Plotted Against SMA Pour Plate for the Cotton Swab Method (in \log_{10} counts/22 cm²).



Dry Medium System (continued)

RODAC method. No significant difference in repeatability ($p > 0.05$) was found between PSM and SMA for either the cotton or alginate swab method.

PSM—A Practical Alternative

In conclusion, prehydrated PSM plates detected significantly more organisms and had significantly greater repeatability than the standard RODAC method. The flexibility of the prehydrated PSM plate suggests that it could be used to test curved or irregular surfaces, unlike the RODAC plate which is restricted to the testing of flat or slightly convex surfaces. PSM was also comparable to the SMA when used in conjunction with the cotton and alginate swab methods. No significant difference in repeatability was observed between PSM and SMA for either of the swab methods; however, actual counts were slightly lower on PSM plates. The performance, convenience, and versatility of PSM provide a practical alternative to accepted pour plate (swab) and RODAC methods of detecting bacterial contamination on surfaces.

References

- Ginn, R.E., Packard, V.S., and Fox, T.L. 1984. Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm™ SM) method for determining numbers of bacteria in raw milk. *J. Food Protect.* 47: 753.
- Marth, E.H. (Ed.). 1978. "Standard Methods for the Examination of Dairy Products," 14th ed. Amer. Pub. Health Assoc., New York.
- Smith, L.B., Fox, T.L., and Busta, F.F. 1985. Comparison of a dry medium culture plate

(Petrifilm™ SM Plates) method to the aerobic plate count method for enumeration of mesophilic aerobic colony-forming

units in fresh ground beef. *J. Food Protect.* 48: 1044.

Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1980. "Statistical Methods," 7th ed. Iowa State U. Press, Ames, Iowa.

Table 1—Between-Replicates Standard Deviation and coefficient of variation of Petrifilm SM Plate methods and the standard RODAC and swab methods.

Repeatability measure	Direct contact plate method		Cotton swab method		Alginate swab method	
	Prehydrated Petrifilm SM	RODAC (Letteen agar)	Petrifilm SM	SMA	Petrifilm SM	SMA
Between-replicates standard deviation	0.1658	0.2127	0.1672	0.1655	0.1781	0.1792
Coefficient of variation (%)	8.5%	13.7%	9.9%	9.3%	10.8%	10.3%



Fig. 5—Alginate Swab Method. Regression line with 95% confidence limits of the petrifilm SM plate plotted against the SMA pour plate for the alginate swab method (in \log_{10} counts/22 cm^2)

Based on a paper presented at the 45th Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Atlanta, Ga., June 9-12, 1985.

—Edited by John Hoesman, Associate Editor

OFFICIAL
METHODS OF ANALYSIS
OF
AOAC INTERNATIONAL

EDITED BY PATRICIA CUNNIFF

16th EDITION

PUBLISHED BY
AOAC INTERNATIONAL
SUITE 400
2200 WILSON BOULEVARD
ARLINGTON, VIRGINIA 22201-3301 USA

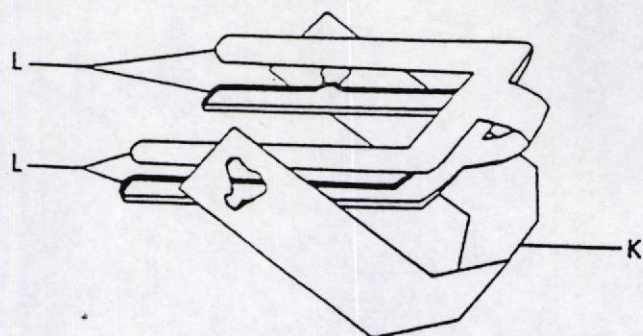


Figure 986.32B—Filtration unit clamp

(c) *All other foods*.—Incubate 48 ± 3 h at 35° . Proceed as in (a).

Reference: JAOAC 69, 671(1986).

17.2.06

AOAC Official Method 988.18
Aerobic Plate Count

Pectin Gel Method

First Action 1988

Final Action 1990

A. Principle

Method uses pretreated Petri plates containing thin "hardener" layer, and liquid medium containing nutrients with pectin as only gelling agent. Liquid medium, 12–15 mL, is poured into pretreated Petri plate and undiluted or diluted sample is added. Plate is rotated and rocked to mix sample and medium. Plates are then allowed to stand on level surface 30–40 min until medium solidifies. Total process is done at ambient temperature. Plates are then incubated and counted.

B. Materials

Note: Before pectin base medium formulated from individual ingredients is used, comparability to commercially available medium must be demonstrated.

Pectin gel tubes and plates.—Pectin gel is available as sterile liquid in individual tubes containing sufficient gel to pour 1 plate. Use tubes of Redigel and pretreated Petri plates (RCR Scientific, Inc., 206 W Lincoln Ave, Goshen, IN 46526), or equivalent that meets specifications.

To prepare plate count pectin from individual ingredients, suspend 5.0 g pancreatic digest of casein, 2.5 g yeast extract, and 1.0 g glucose, in 500 mL H_2O . Suspend 15 g low methoxyl pectin in 500 mL H_2O . Heat individual mixtures until all ingredients are dissolved. Autoclave solutions 15 min at 121° . Combine nutrient and pectin solutions and adjust pH to 7.0 ± 0.1 . To prepare pretreated Petri plates, prepare hardener layer mixture of 1% agar with 2% $CaCl_2$ concentration. Sterilize mixture by autoclaving 15 min at 121° . Aseptically dispense 5 mL portions of mixture into sterile Petri plates.

Preparation of Samples

Prepare all decimal dilutions with 90 mL sterile diluent (Butterfield's phosphate buffer) plus 10 mL of previous dilution unless

otherwise specified. Shake all dilutions 25 times in 30 cm arc. Pipets must accurately deliver required volume. Do not use to deliver <10% of their total volume. For example, to deliver 1 mL, do not use pipet >10 mL; to deliver 0.1 mL, do not use pipet >1 mL.

(a) *Dairy products*.—Measure (or weigh) 11 mL (or g) sample and dilute in 99 mL Butterfield's diluent. For solid samples, blend 2 min at 10,000 to 12,000 rpm. Prepare additional dilutions so that total colonies/plate is in 25–250 range. Incubate plates 48 ± 3 h at $32 \pm 1^\circ$.

(b) *Nondairy products*.—Weigh 50 g sample into 450 mL Butterfield's diluent and blend 2 min at 10,000 to 12,000 rpm. Prepare further dilutions by dispensing 10 mL sample into 90 mL diluent so that total colonies/plate is in 30–300 range. Incubate plates 48 ± 2 h at $35 \pm 1^\circ$.

D. Determination

(1) Lift lid of pretreated Petri plate and pour liquid pectin gel from 1 tube (12–15 mL) into plate. Replace lid and swirl plate to cover bottom with pectin gel. Prepare number of plates needed for samples being run (duplicate plates for each dilution). Plates must be used within 5 min after liquid pectin gel is poured.

(2) Add 1 mL inoculum (sample) to liquid pectin gel in Petri plate. Touch pipet tip once to dry spot on inside wall of plate (above level of liquid pectin gel) after dispensing sample to rest point in pipet tip. *Immediately* rotate and rock plate to mix sample thoroughly with pectin gel. Do not spill pectin gel over sides of plate. (*Note*: This step is primary difference in procedure between pectin gel and agar-based media. *Do not* add inoculum [sample] to pretreated Petri plate and pour pectin gel over it. This would lock sample in one small area of plate without separation of individual colonies.)

(3) Let inoculated plates stand on level surface until pectin gel is solid (ca 30–40 min), and then incubate 48 ± 2 h at $35 \pm 1^\circ$ for nondairy products and 48 ± 3 h at $32 \pm 1^\circ$ for dairy products.

(4) Count duplicate plates in suitable range (30–300 colonies for nondairy products, 25–250 colonies for dairy products). If plates do not contain proper range of colonies, record dilution counted and note number of colonies found. Average counts obtained and report as aerobic plate count/g or mL.

Reference: JAOAC 71, 343(1988).

17.2.07

AOAC Official Method 990.12
Aerobic Plate Count in Foods

Dry Rehydratable Film

(Petrifilm Aerobic Count Plate) Method

First Action 1990

Method Performance:

Flour

$s_r = 0.225$; $s_R = 0.246$; $RSD_r = 5.3\%$; $RSD_R = 5.8\%$

Nuts

$s_r = 0.272$; $s_R = 0.674$; $RSD_r = 7.4\%$; $RSD_R = 18.4\%$

Shrimp

$s_r = 0.540$; $s_R = 0.615$; $RSD_r = 9.8\%$; $RSD_R = 11.1\%$

Spice

$s_r = 0.274$; $s_R = 0.303$; $RSD_r = 6.0\%$; $RSD_R = 6.6\%$

Turkey

$s_r = 0.278$; $s_R = 0.348$; $RSD_r = 5.3\%$; $RSD_R = 6.6\%$

Vegetables

 $s_r = 0.310$; $s_R = 0.454$; $RSD_r = 6.3\%$; $RSD_R = 9.2\%$

A. Principle

See 989.10A (see 17.3.03).

B. Apparatus

See 989.10B(a) and (c)–(e) (see 17.3.03).

C. Reagent

Dilution water.—To prepare stock solution, dissolve 34 g KH_2PO_4 in 500 mL H_2O , adjust to pH 7.2 with 1N NaOH (ca 175 mL), and dilute to 1 L with water. To prepare buffered water for dilutions, dilute 1.25 mL stock solution to 1 L with boiled and cooled water. Autoclave 15 min at 121°.

D. Sample Preparation

See 966.23B (see 17.2.01).

E. Determination

Place dry-film aerobic count plate on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL sample onto center of film base. Carefully place top film down on inoculum. Distribute sample over prescribed growth area with downward pressure in center of plastic spreader device (recessed side down). Leave plate undisturbed 1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 48 ± 3 h at $35 \pm 1^\circ$.

In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 20 units. Count plates promptly after incubation period. If impossible to count at once after required incubation, store plates at $0-4.4^\circ$ for not >24 h. Avoid this as a routine practice.

Use standard colony counter for counting purposes. Magnifier-illuminator may also be used to facilitate counting. Colonies stain in various shades of red. Count all colonies in countable range (30–300 colonies).

To compute bacterial count, multiply total number of colonies per plate (or average number of colonies per plate if counting duplicate plates of same dilution) by reciprocal of dilution used. When counting colonies on duplicate plates of consecutive dilutions, compute mean number of colonies for each dilution before determining average bacterial count. Estimated counts can be made on plates with >300 colonies and should be reported as estimated counts. In making such counts, circular growth area can be considered to contain ca twenty 1 cm squares. To isolate colonies for further identification, lift top film and pick colony from gel.

Reference: JAOAC 73, 242(1990).

Subchapter 3
COLIFORMS

17.3.01

AOAC Official Method 989.11
Coliforms in Dairy Products

Pectin Gel Method
First Action 1989
Final Action 1991

A. Principle

Method uses pretreated plates containing thin "hardener" layer and liquid medium containing nutrients with pectin as sole gelling agent. Liquid medium (10–12 mL) is poured into pretreated plate and undiluted or diluted sample is added. Plate is rotated and rocked

to mix sample and medium. Plates are then allowed to rest on level surface until medium solidifies. Then, 3–4 mL liquid medium is poured as overlay and allowed to solidify. Total process is done at ambient temperature. Plates are then incubated and counted as for agar-based preparations.

B. Materials

Note: Pectin base medium may be formulated from individual ingredients; suitability for analysis must be demonstrated.

Pectin gel and plates.—Violet red bile (VRB) pectin gel is available as sterile liquid in individual units containing sufficient gel to pour 1 plate or in units to pour 8 plates. VRB Redigel and pretreated plates (RCR Scientific, Inc., 206 W Lincoln Ave, Goshen, IN 46526), or equivalent, meet specifications of method.

To prepare VRB pectin gel from individual ingredients, suspend 7.0 g pancreatic digest of gelatin, 3.0 g yeast extract, 10.0 g lactose, 1.5 g bile salts No. 3, 5.0 g NaCl, 0.03 g neutral red, and 0.002 g crystal violet in 500 mL H_2O . Suspend 15 g low methoxyl pectin in 500 mL H_2O . Heat individual mixtures until all ingredients are dissolved. Autoclave solutions 15 min at 121°. Combine nutrient and pectin solutions and adjust pH to 7.4 ± 0.2 . To prepare pretreated Petri plates, prepare hardener layer mixture of 1% agar with 2% CaCl_2 concentration. Sterilize mixture by autoclaving 15 min at 121°. Aseptically dispense 5 mL portions of mixture into sterile Petri plates.

C. Preparation of Samples

To prepare dilutions, measure (or weigh) 11 mL (or g) sample and dilute in 99 mL Butterfield's or 2% sodium citrate diluent. For solid samples, blend 2 min at 10,000 to 12,000 rpm. Prepare additional dilutions so that total colonies/plate is in 25–250 range. Incubate plates 48 ± 3 h at $32 \pm 1^\circ$. Shake all dilutions 25 times in 30 cm arc. Pipets must accurately deliver required volume. Do not use to deliver <10% of their total volume. For example, to deliver 1 mL, do not use pipet >10 mL; to deliver 0.1 mL, do not use pipet >1 mL.

D. Determination

(1) Lift lid of pretreated Petri plate and pour ca 75% (10–12 mL) of liquid medium from tube into plate. (**Note:** Remove cap from each tube of liquid pectin gel medium as it is needed to pour plate.) Prepare number of plates, in duplicate, needed for samples being run. Replace lid and swirl plate to cover bottom with liquid medium. Plates must be used within 5 min.

(2) Add inoculum (sample) to liquid pectin gel in Petri plate. Touch pipet tip once to dry spot on inside wall of plate (above level of liquid medium) after dispensing sample to rest point in pipet tip. **Immediately** rotate and rock plate to mix sample thoroughly with pectin gel. Do not spill mixture over sides of plate. (**Note:** This step is primary difference in procedure between pectin gel and agar-based media. **Do not** add inoculum [sample] to pretreated Petri plate and pour pectin gel over it. This would lock sample in one small area of plate without separation of individual colonies.)

(3) Let inoculated plates stand on level surface until pectin gel is solid, and then pour remaining medium (3–4 mL) from tube as overlay and let gel solidify. Incubate in same manner as for agar-based plates (24 ± 2 h at $32 \pm 1^\circ$).

(4) After 24 h incubation, count all red or pink colonies. Report as coliforms/mL or g.

(5) Pick 5 colonies of each type present on each plate and transfer to brilliant green lactose bile broth fermentation tubes, 966.23A(c)

(see 17.2.01). Incubate 48 ± 3 h at $32 \pm 1^\circ$ and check for gas production, which is considered positive for coliforms.

(6) If any picks from step 5 are negative for gas production, adjust counts (step 4) accordingly.

Reference: JAOAC 72, 298(1989).

17.3.02

AOAC Official Method 986.33 Bacterial and Coliform Counts in Milk Dry Rehydratable Film Methods (Petrifilm Aerobic Count Plate and Petrifilm Coliform Count Plate) Methods First Action 1986 Final Action 1988

A. Principle

Method uses bacterial culture plates of dry medium and cold H₂O-soluble gel. Undiluted or diluted samples are added directly to plates at rate of 1.0 mL per plate. Pressure, when applied to plastic spreader placed on overlay film, spreads sample over ca 20 sq cm growth area. Gelling agent is allowed to solidify and plates are incubated and then counted. Either pipet or plate loop continuous pipetting syringe can be used for sample addition for bacterial count analyses.

B. Apparatus

(a) *Petrifilm Aerobic Count Plates*[®].—Plates contain standard methods media nutrients, 940.36A(g) (see 17.1.02), cold H₂O-soluble gelling agent coated onto film base, overlay film coated with gelling agent, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride indicator. Circular growth area of single plate contains ca twenty 1 cm squares outlined on film base. *Petrifilm Aerobic Count Plates*[®] (available from Medical-Surgical Division/3M, 225-55 (replaced by 275-5W) 3M Center, St. Paul, MN 55144) or equivalent meets these specifications.

(b) *Petrifilm Coliform Count Plates*[®].—Plates contain violet red bile nutrients conforming to APHA standards as given in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd ed., 1990, American Public Health Association, Washington, DC, cold H₂O soluble gelling agent, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. *Petrifilm Coliform Count Plates*[®] (available from Medical-Surgical Division/3M), or equivalent meets these specifications.

(c) *Plastic spreader*.—Provided with *Petrifilm* plates, consists of concave side and smooth flat side, designed to spread milk sample evenly over plate growth area.

(d) *Pipets*.—Calibrated for bacteriological use of plate loop continuous pipetting syringe to deliver 1.0 mL.

(e) *Colony counter*.—Standard apparatus, Quebec model preferred, or one providing equivalent magnification and visibility.

C. Analysis

(a) *Bacterial colony count*.—Use *Petrifilm Aerobic Count Plates*[®] or equivalent plates. Place plate on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL sample onto center of film base. Carefully roll top film down onto inoculum. Distribute sample over prescribed growth area with downward pressure on center of plastic spreader (vice (recessed side down)). Leave plate undisturbed 1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 48 ± 3 h at $32 \pm 1^\circ$.

In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 10 units. Count plates promptly after incubation

period. If impossible to count at once, store plates after required incubation at $0-4.4^\circ$ for not >24 h. This should be avoided as a routine practice.

Use standard colony counter for counting purposes. Magnifier-illuminator may also be used to facilitate counting. Colonies stain in various shades of red. Count all colonies in countable range (30-300 colonies).

To compute bacterial count, multiply total number of colonies per plate (or average number of colonies per plate if counting duplicate plates of same dilution) by reciprocal of dilution used. When counting colonies on duplicate plates of consecutive dilutions, compute mean number of colonies for each dilution before determining average bacterial count. Estimated counts can be made on plates with >300 colonies and should be reported as estimated counts. In making such counts, circular growth area can be considered to contain ca twenty 1 cm squares. To isolate colonies for further identification, lift top film and pick colony from gel.

(b) *Coliform count*.—Use *Petrifilm Coliform Count Plates*[®] or equivalent plates. Proceed as in (a), but distribute sample over plate by using plastic spreader, flat side down. Incubate plates 24 ± 2 h at $32 \pm 1^\circ$. Count as in (a), but count only red colonies that have one or more gas bubbles associated (within 1 colony diameter) with them. Count all colonies in countable range (15-150 colonies). Red colonies without gas bubbles are not counted as coliform organisms.

Reference: JAOAC 69, 527(1986).

17.3.03

AOAC Official Method 989.10 Bacterial and Coliform Counts in Dairy Products Dry Rehydratable Film Methods

(Petrifilm Aerobic Count Plate and Petrifilm Coliform Count
Plate) Methods
First Action 1989
Final Action 1991

Method Performance:

AEROBIC COUNT

Chocolate milk:

$s_r = 0.102$; $s_R = 0.177$; RSD_i = 4.3%; RSD_R = 7.5%

Cheese:

$s_r = 0.113$; $s_R = 0.117$; RSD_i = 3.6%; RSD_R = 3.7%

Nonfat dry milk:

$s_r = 0.151$; $s_R = 0.230$; RSD_i = 4.5%; RSD_R = 6.9%

Evaporated milk:

$s_r = 0.193$; $s_R = 0.198$; RSD_i = 8.3%; RSD_R = 8.5%

Ice cream:

$s_r = 0.180$; $s_R = 0.222$; RSD_i = 6.9%; RSD_R = 8.5%

COLIFORM COUNT

Chocolate milk:

$s_r = 0.164$; $s_R = 0.257$; RSD_i = 9.2%; RSD_R = 14.4%

Cheese:

$s_r = 0.221$; $s_R = 0.225$; RSD_i = 10.4%; RSD_R = 10.6%

Nonfat dry milk:

$s_r = 0.197$; $s_R = 0.151$; RSD_i = 8.5%; RSD_R = 4.5%

Evaporated milk:

$s_r = 0.200$; $s_R = 0.225$; RSD_i = 13.0%; RSD_R = 13.0%



Ice cream:

 $s. = 0.081$; $s_R = 0.131$; $RSD. = 4.1\%$; $RSD_R = 6.6\%$ **A. Principle**

Method uses bacterial culture plates of dry medium and cold H₂O-soluble gel. Undiluted or diluted samples are added to plates at rate of 1.0 mL per plate. Pressure, when applied to plastic spreader placed on overlay film, spreads sample over ca 20 sq cm growth area. Gelling agent is allowed to solidify and plates are incubated and then counted. Pipet, plate loop continuous pipetting syringe, or automatic pipet can be used for sample addition for bacterial count analyses.

B. Apparatus and Reagent

(a) *Petrifilm aerobic count plates*[®].—Plates contain standard methods media nutrients, 940.36A(g) (see 17.1.02), cold H₂O-soluble gelling agent coated onto film base, overlay film coated with gelling agent, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride indicator. Circular growth area of single plate contains ca twenty 1 cm squares outlined on film base. Petrifilm Aerobic Count Plates[®] (available from Medical-Surgical Division/3M, 225-5S 3M Center, St. Paul, MN 55144) meet these specifications.

(b) *Petrifilm coliform count plates*[®].—Plates contain violet red bile nutrients conforming to APHA standards as given in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd ed., 1990, American Public Health Association, Washington, DC, cold H₂O-soluble gelling agent, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride indicator. Petrifilm Coliform Count Plates[®] (available from Medical-Surgical Division/3M) meet these specifications.

(c) *Plastic spreader*.—Provided with Petrifilm plates, consists of recessed side and smooth flat side, designed to spread sample evenly over plate growth area.

(d) *Pipets*.—Calibrated for bacteriological use, or plate loop continuous pipetting syringe to deliver 1.0 mL. Automatic pipet to deliver 1.0 mL may be used.

(e) *Colony counter*.—Standard apparatus, Quebec model preferred, or one providing equivalent magnification and visibility.

(f) *Dilution water*.—See 940.36A(a) (see 17.1.02).

C. Sample Preparation

(a) For total plate counts: Aseptically prepare 1:10 dilution (11 g/99 mL dilution H₂O). Mix well and plate. Prepare additional dilutions as required. Ordinarily, 1:10 and 1:100 dilutions are sufficient.

(b) For coliform counts:

(1) *Cream, half-and-half, condensed milk, egg nog, cottage cheese, butter, margarine, and related products*.—Make 1:5 dilution (24.75 g/99 mL dilution H₂O). Mix well and plate 1 mL on each of 2 plates. Multiply total of counts on 2 plates by 2.5 to obtain count/g.

(2) *Sour cream, dips, and yogurt*.—Proceed as in (1) except after dilution, adjust pH to 6.6–7.2 with 1.0N NaOH (ca 0.1 mL/g sample).

(3) *Buzermilk*.—Make 1:10 dilution (11 g/99 mL dilution H₂O). Adjust pH to 6.6–7.2 with 1.0N NaOH (ca 0.1 mL/g sample). Mix well and plate 1 mL on each of 2 plates. Multiply total of counts on 2 plates by 5 to obtain count/g.

(4) *Ice cream, sherbet, and mixes*.—Hydrate dry-film plates with 1 mL sterile dilution H₂O and allow at least 1 h for gel to solidify. Then, lift top film of prehydrated dry-film coliform count plate (gel will adhere to top film) and dispense 0.5 mL of 2:3 homogenate (10 g/5 mL dilution H₂O) onto bottom film of each of 3 plates. Replace top film gently over sample. Add counts on the 3 plates to obtain

count/g. Alternatively, plate 1 plate and multiply result by 3 to obtain count/g.

(5) *Cheese*.—Proceed as in (1). Do not use citrate buffer to homogenize sample.

(6) *Chocolate milk*.—Proceed as in (1).

D. Analysis

(a) *Bacterial colony count*.—Use dry-film aerobic count plates. Place plate on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL sample onto center of film base. Carefully roll top film down onto inoculum. Distribute sample over prescribed growth area with downward pressure on center of plastic spreader device (recessed side down). Leave plate undisturbed 1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 48 ± 3 h at 32 ± 1°.

In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 20 units. Count plates promptly after incubation period. If impossible to count at once after required incubation, store plates at 0–4.4° for not >24 h. This should be avoided as a routine practice.

Use standard colony counter for counting purposes. Magnifier-illuminator may also be used to facilitate counting. Colonies stain in various shades of red. Count all colonies in countable range (25–250 colonies).

To compute bacterial count, multiply total number of colonies per plate (or average number of colonies per plate if counting duplicate plates of same dilution) by reciprocal of dilution used. When counting colonies on duplicate plates of consecutive dilutions, compute mean number of colonies for each dilution before determining average bacterial count. Estimated counts can be made on plates with >250 colonies and should be reported as estimated counts. In making such counts, circular growth area can be considered to contain ca twenty 1 cm squares. To isolate colonies for further identification, lift top film and pick colony from gel.

(b) *Coliform count*.—Use dry-film coliform count plates. Proceed as in (a), but distribute prepared sample over plate by using plastic spreader, flat side down. Incubate plates 24 ± 2 h at 32 ± 1°. Count as in (a), but count only red colonies that have one or more gas bubbles associated (within 1 colony diameter) with them. Count all colonies in countable range (15–150 colonies). Red colonies without gas bubbles are not counted as coliform organisms.

Reference: JAOAC 72, 312(1989).

17.3.04

AOAC Official Method 991.14
Coliform and *Escherichia coli*
Counts in Foods

Dry Rehydratable Film
(Petrifilm *E. coli* Count Plate and Petrifilm Coliform
Count Plate) Methods
First Action 1991

Method Performance:

See Table 991.14 for method performance data.

A. Principle

See 989.10A (see 17.3.03).

B. Apparatus and Reagent

See 989.10B(b)–(f) (see 17.3.03).



Table 991.14 Method Performance Data for Total coliforms and *E. coli* on Dry-Film Count Plates

Total coliforms on coliform count plates

Product	Level	Mean Log cfu/g	s_r	s_R	RSD _r , %	RSD _R , %
Ground turkey	low	1.845	0.193	0.296	10.5	16.1
	medium	2.235	0.361	0.361	16.2	16.2
	high	2.744	0.105	0.270	3.8	9.9
Fresh mushrooms	low	4.241	0.278	0.808	6.6	19.0
	medium	4.999	0.662	1.141	13.2	22.8
	high	5.197	0.120	0.872	2.3	16.8
Beef with gravy	low	1.069	0.243	0.288	22.7	27.0
	medium	2.062	0.257	0.391	12.5	18.9
	high	2.732	0.233	0.320	8.5	11.7
Cheese	low	0.783	0.172	0.172	21.9	21.9
	medium	2.411	0.092	0.206	3.8	8.5
	high	3.434	0.212	0.364	6.2	10.6
Wheat flour	low	2.635	0.291	0.874	11.1	33.2
	medium	3.460	0.746	1.291	21.6	37.3
	high	4.049	0.873	1.550	21.6	38.3
Nut meal	low	0.896	0.336	0.443	37.5	49.5
	medium	1.345	0.486	0.699	36.2	52.0
	high	2.370	0.267	0.831	11.3	35.1

Total coliforms on *E. coli* count plates

Product	Level	Mean Log cfu/g	s_r	s_R	RSD _r , %	RSD _R , %
Ground turkey	low	1.934	0.177	0.261	9.2	13.5
	medium	2.216	0.285	0.315	12.9	14.2
	high	2.835	0.113	0.242	4.0	8.5
Fresh mushrooms	low	4.550	0.079	0.722	1.7	15.9
	medium	5.278	0.600	1.001	11.4	19.0
	high	5.227	0.346	0.817	6.6	15.6
Beef with gravy	low	1.016	0.215	0.284	21.2	27.9
	medium	2.060	0.256	0.295	12.4	14.3
	high	2.679	0.191	0.331	7.1	12.4
Cheese	low	0.813	0.172	0.192	21.1	23.6
	medium	2.507	0.109	0.238	4.3	9.5
	high	3.620	0.074	0.106	2.1	2.9
Wheat flour	low	2.639	0.243	0.883	9.2	33.4
	medium	3.432	0.826	1.318	24.1	38.4
	high	4.064	0.929	1.557	22.9	38.8
Nut meal	low	0.759	0.028	0.295	3.7	38.8
	medium	1.403	0.378	0.728	26.9	51.8
	high	2.355	0.425	0.915	18.0	38.9

Total *E. coli* on *E. coli* count plates

Product	Level	Mean Log cfu/g	s_r	s_R	RSD _r , %	RSD _R , %
Ground turkey	low	1.419	0.316	0.316	22.3	22.3
	medium	1.923	0.364	0.364	18.9	18.9
	high	2.607	0.098	0.233	3.8	8.9
Fresh mushrooms	low	2.500	0.261	0.343	10.4	13.7
	medium	3.058	0.296	0.422	9.7	13.8
	high	3.436	0.715	0.760	20.8	22.1
Beef with gravy	low	0.753	0.028	0.172	3.7	22.8
	medium	0.991	0.154	0.601	15.6	60.7
	high	1.312	0.161	0.828	12.3	63.1
Cheese	low	0.819	0.190	0.190	23.2	23.2
	medium	2.454	0.098	0.166	4.0	6.8
	high	3.440	0.112	0.123	3.2	3.6
Wheat flour	low	1.175	0.524	0.737	44.6	62.7
	medium	3.095	0.967	1.362	31.3	44.0
	high	3.549	0.821	1.442	23.1	40.6
Nut meal	low	0.716	0.067	0.236	9.4	33.0
	medium	1.268	0.268	0.605	21.1	47.7
	high	2.314	0.265	0.857	11.4	37.0

E. coli count plates.—Plates are similar to coliform count plates, 989.10B(b) (see 17.3.03), with addition of 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-8-D-glucuronide, an indicator of glucuronidase activity. This allows coliforms and *Escherichia coli* to be read on the same plate. Petrifilm *E. coli* Count Plates® (available from Medical-Surgical Division/3M, 275-5W 3M Center, St. Paul, MN 55144) meet these specifications.

C. Sample Preparation

See 966.23B (see 17.2.01) and 986.33C (see 17.3.02).

D. Analysis

(a) *Coliform count*.—Place dry-film *E. coli* count plate, B, or coliform count plate, 989.10B(b) (see 17.3.03), on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL sample onto center of film base. Carefully place top film down onto inoculum. Distribute sample over prescribed growth area with downward pressure on center of plastic spreader device (flat side down). Leave plate undisturbed 1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 24 ± 2 h at 35°.

In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 20 units. Count plates promptly after incubation period. If impossible to count at once after required incubation, store plates frozen not >24 h. This should be avoided as routine practice.

Use standard colony counter for counting purposes. Magnifier-illuminator may also be used to facilitate counting. Coliforms appear as red colonies that have 1 or more gas bubbles associated (within 1 colony diameter) with them. Count all colonies in countable range (15–150 colonies). Red colonies without gas bubbles are not counted as coliform organisms.

(b) *E. coli* count.—Use *E. coli* count plate and proceed as in (a). Incubate an additional 24 ± 2 h (48 ± 4 h total). *E. coli* colonies appear as blue colonies associated with gas bubbles; other coliforms appear as red colonies with gas.

Reference: JAOAC 74, 635(1991).

17.3.05

AOAC Official Method 978.23
Fecal Coliforms in Shellfish Growing Waters

Medium A-1 Method
First Action 1978
Final Action 1979

(Applicable to enumeration of fecal coliforms and also as presumptive test for *Escherichia coli* in shellfish growing waters.)

A. Apparatus

(a) *Pipets*.—1.0 mL serological with 0.1 mL graduations and 10.0 mL with 0.1 mL graduations. Pipets conforming to APHA standards as given in *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16th ed., 1993, American Public Health Association, Washington, DC, may also be used.

(b) *Incubator*.—Air, $35 \pm 0.5^\circ$.

(c) *Water bath*.—Covered, circulating, $44.5 \pm 0.2^\circ$.

(d) *Dilution bottles or tubes*.—Borosilicate glass, with glass or rubber stoppers or polyethylene screw caps equipped with Teflon liners.

B. Media

Note: Because geographical differences may affect performance of Medium A-1 method, determine comparability with LST-EC tube method prior to using Medium A-1. Moreover, this medium must be made from individual ingredients. Preformulated Medium A-1 is unacceptable.

(a) *Butterfield's buffered phosphate diluent*.—See 966.23A(m) (see 17.2.01).

(b) *Medium A-1 broth*.—Dissolve 5 g lactose, 20 g tryptone, 5 g NaCl, and 0.5 g salicin in 1 L H₂O. Heat to dissolve ingredients, pipet in 1 mL Triton X-100 (Union Carbide), and adjust pH to 6.9 ± 0.1 . For 10 mL sample aliquots, prepare and use double strength medium. To achieve approximately same level of medium and inoculum in all tubes, dispense 10 mL portions of single strength broth into 150 × 18 mm tubes containing inverted fermentation vials; use 175 × 22 mm tubes containing inverted fermentation vials for double strength broth. Autoclave 10 min at 121° . Formation of flocculent precipitate, particularly in double strength medium, is common and does not impair performance. Store in dark at room temperature and use

within 7 days. Store dehydrated ingredients and/or medium under conditions that will prevent absorption of moisture.

C. Determination

Shake sample and each successive dilution bottle vigorously using 25 complete up and down movements of ca 30 cm in 7 s. Inoculate H₂O sample directly into tubes containing Medium A-1 in suitable decimal dilutions using 3 or 5 tubes/dilution with Butterfield's buffered phosphate diluent. Place inoculated tubes into air incubator and incubate 3 h at $35 \pm 0.5^\circ$. Transfer tubes to H₂O bath and incubate 21 ± 2 h at $44.5 \pm 0.2^\circ$. Maintain H₂O level in bath above level of liquid in inoculated tubes. Presence of gas in inverted vial or of dissolved gas which can be removed by slight agitation of tube constitutes positive test. Use standard Most Probable Number (MPN) tables, Table 966.24A (see 17.2.02) or Table 978.23, to determine MPN values. Report results as fecal coliform MPN/100 mL sample.

Reference: JAOAC 61, 1317(1978).

17.3.06

AOAC Official Method 991.15
Total Coliforms and *Escherichia coli*
in Water

Defined Substrate Technology (Colilert) Method
First Action 1991



Method Performance:

6.4 bacteria/100 mL (geom. mean 21.88; log geom. mean 1.34)

$s_r = 0.27$; $s_R = 0.35$; $RSD_r = 20.15\%$; $RSD_R = 26.12\%$

39 bacteria/100 mL (geom. mean 93.33; log geom. mean 1.97)

$s_r = 0.32$; $s_R = 0.37$; $RSD_r = 16.24\%$; $RSD_R = 18.78\%$

81 bacteria/100 mL (geom. mean 154.88; log geom. mean 2.19)

$s_r = 0.20$; $s_R = 0.39$; $RSD_r = 9.13\%$; $RSD_R = 17.81\%$

A. Principle

Defined substrate technology (DST) reagent system simultaneously enumerates total coliforms and *E. coli* directly and separately from a water sample. Reagent contains *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG) and 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG). After inoculation of DST test, a clear solution results. Only total coliforms can hydrolyze ONPG to produce yellow chromogen. Same test tube or vessel contains MUG, which is hydrolyzed and fluoresces when *E. coli* grow. β -Glucuronidase has been found specific to the genus *Escherichia* (*Escherichia* and *Shigella*) and *Salmonella*. Practically, from water samples, only *E. coli* yield a positive result. Metabolism of ONPG by β -D-galactosidase system of enteric bacteria is specific for total coliform group. Composition of inorganic salts in DST reagent does not support growth of nonenteric bacteria. Assay may be performed in most probable number (MPN) format or as presence-absence (P-A) test.

B. Apparatus

(a) *Tubes*.—Glass, 12 mL. Sterile, free of microbial inhibitors (e.g., residual detergent), and nonfluorescent at 366 nm.

(b) *Vessels*.—Glass, 120 mL. Sterile, free of microbial inhibitors (e.g., residual detergent), and nonfluorescent at 366 nm.



The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence

Instructions for Inserting March 1995 Supplement

into

Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 16th Edition

1994 Changes in Official Methods

Old Pages to be Removed	New Pages to be Inserted	Official Method	Locator Number	Official Method Actions
Title Page, Vol. I and II xxi-xxii	Title Page, Vol. I and II xxi-xxii	Contents/ Validation Program		Title page updated to include March 1995 Supplement. Editorial corrections were made.
<i>Chapter 2</i>				
p. 35-36	p. 35-36	994.16	2.6.35	The method pH Measurement of Mineral Soils was adopted first action.
		994.17	2.6.36	The method pH Measurement of Saline-Sodic Soils was adopted action.
		994.18	2.6.37	The method pH Measurement of Organic Soils was adopted first action.
<i>Chapter 4</i>				
pp. 3-4	pp. 3-4H	994.12	4.1.11	The method Amino Acids in Feeds was adopted first action.
pp. 9-12	pp. 9-12	990.02	4.2.07	The first action method Protein (Crude) in Animal Feed, Semiautomated Method-Alternative System, was adopted final action.
		990.03	4.2.08	The first action method Protein (Crude) in Animal Feed, Combustion Method, was adopted final action.
		984.13	4.2.09	The first action method Protein (Crude) in Animal Feed, Copper Catalyst Kjeldahl Method, was adopted final action.
<i>Chapter 5</i>				
pp. 47-48	pp. 47-48	968.50	5.3.19	The final action method Oxytetracycline in Feeds was modified.

Old Pages to be Removed	New Pages to be Inserted	Official Method	Locator Number	Official Method Actions
pp. 55-56	pp. 55-56	990.10	16.16.10	The first action method Mammalian Feces in Grain Products, Alkaline Phosphatase Detection Method was adopted final action.
pp. 61-62	pp. 61-62	970.75	16.18.03	The method Mold in Citrus and Pineapple Juices (Canned), Howard Mold Count, was editorially revised. Delete last sentence of method, "Separate record of those fields..."
pp. 67-68	pp. 67-68	952.23	16.19.15	The method Rot in Tomato Products (Comminuted), Rot Fragment Count, was declared surplus.

Chapter 17

★ pp. 9-10	pp. 9-10	990.12	17.2.07	The first action method Aerobic Plate Count in Foods, Dry Rehydratable Film (PetriFilm Aerobic Count Plate) Method, was adopted final action.
★ pp. 13-16	pp. 13-16	991.14	17.3.04	The first action method Coliform and <i>Escherichia coli</i> Counts in Foods, Dry Rehydratable Film (PetriFilm <i>E. coli</i> Count Plate and PetriFilm Coliform Count Plate) Methods, was adopted final action.
		991.15	17.3.06	The first action method Total Coliforms and <i>Escherichia coli</i> in Water, Defined Substrate Technology (Colilert) Method, was adopted final action.
pp. 59-60	pp. 59-60	967.27	17.9.03	The final action method <i>Salmonella</i> in Foods, Identification Method, was editorially revised. <i>C. Testing Urease-Negative Cultures.</i> In (a) <i>Lysine iron agar</i> , 967.27A(m)(1). First paragraph, First and second sentences, substitute the phrase "...24 ± 2 h at 35°." Second paragraph, second sentence, substitute the phrase "...and incubate 35°C for 24 ± 2 h."
pp. 63-64	pp. 63-64	991.13	17.9.06	The first action method <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> , and Other <i>Enterobacteriaceae</i> in Foods, Biochemical System Identification (Vitek GNI) Screening Method, was adopted final action.
pp. 69-78	pp. 69-78	991.12	17.9.09	The first action method <i>Salmonella</i> in Foods, Hydrophobic Grid Membrane Filter (ISO-GRID) Method, was adopted final action.
		986.35	17.9.10	The revised first action method <i>Salmonella</i> in Foods, Colorimetric Monoclonal EIA (Salmonella-Tek) Screening Method, was further revised and was adopted final action.
		987.11	17.9.11	The first action method <i>Salmonella</i> in Low-Moisture Foods, Colorimetric Monoclonal EIA (Salmonella-Tek) Screening Method, was adopted final action.
		993.08	17.9.12	The first action method <i>Salmonella</i> in Foods, Colorimetric Monoclonal Enzyme Immunoassay (Salmonella-Tek) Method, was modified.
pp. 81-84	pp. 81-84	989.15	17.9.15	The method <i>Salmonella</i> in Foods, Fluorogenic and Colorimetric Monoclonal Enzyme Immunoassay (Q-Trol) Screening Method, was declared surplus.
		987.10	17.9.16	The method <i>Salmonella</i> in Foods, DNA Hybridization Screening Method, was declared surplus.
pp. 87-94	pp. 87-94A	990.13	17.9.17	The method <i>Salmonella</i> in Foods, Colorimetric Deoxyribonucleic Acid Hybridization Method (GENE-TRAK), was substantially revised.
		989.13	17.9.18	The first action method Motile <i>Salmonella</i> in All Foods, Immunodiffusion (1-2 Test) Method, was substantially revised.



INSTITUTO DE TECNOLOGÍAS

PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ALIMENTOS

EVALUACION DEL PRACTICANTE

Práct.
 [Stamp]

NOMBRE DEL PRACTICANTE: Johanna Elizabeth Panchana Bello

DENOMINACION DEL CARGO: Auxiliar del Laboratorio de Microbiología

FECHA: Julio 03/2002

A.- Asigne una calificación entre 1 al 10 en cada uno de los siguientes aspectos. Si alguno no es aplicable, por favor no lo califique.

1.- Interés en el trabajo	-----	10	-----
2.- Conocimientos	-----	8	-----
3.- Organización	-----	9	-----
4.- Habilidad para aprender	-----	9	-----
5.- Creatividad	-----	9	-----
6.- Puntualidad	-----	10	-----
7.- Cumplimiento de las normas de seguridad	-----	9	-----
8.- Cantidad de trabajo (rendimiento)	-----	9	-----
9.- Relaciones con el personal	-----	10	-----
10.- Habilidad para comunicarse	-----	10	-----
11.- Responsabilidad	-----	10	-----
12.- Trabaja bajo presión	-----	10	-----

B.- MARQUE CON UNA CRUZ

1.- Durante el desarrollo de la práctica el estudiante acogió favorablemente críticas y sugerencias.

Siempre A menudo Rara Vez ----- Nunca -----

2.- De los 30 días hábiles inasistió al trabajo?

0 - 10% ----- Más del 10% -----

3.- La jornada de trabajo semanal fue de:

5 días ----- 6 días -----

4.- El promedio de horas trabajadas por día fue:

Menos de 6 horas ----- 6 - 8 horas -----

C.- COMENTARIOS ADICIONALES:

La Srta. Johanna Panchana durante su estadía se desarrolló con mucha dedicación y responsabilidad en las tareas a ella encomendada.

D.- LLENADA POR: O.F. Angela Santos

CARGO: Jefa de Laboratorio de Microbiología FIRMA Y SELLO:

NOMBRE DE LA EMPRESA: EMPESEC TELF. 2250077

