



## Instrucciones para el Manejo de los Materiales de Ensayo Microbiológico y Registro de Resultados

### Recepción y Almacenamiento.

- En la recepción de los materiales de ensayo, anote la fecha y guárdelo refrigerado a una temperatura de entre 2 y 8°C hasta que sea utilizado, con la excepción de la muestra 606 que se debe guardar a temperatura ambiente.
- Los materiales de ensayo deberían ser analizados de acuerdo con las fechas límite mostradas en la página web: <https://portal.proficiencytestingschemes.com>.

### Muestras de Microbiología.

#### Detalles de las muestras.

- Los materiales de ensayo representan una muestra 'real' de gelatina, la cual puede contener o no los organismos objetivo, en un rango de niveles de inoculación. Puede estar presente flora residual.

#### Reconstitución.

1. Analice la muestra entera, no divida la muestra antes de la dilución.
2. Diluya su material de ensayo de acuerdo el tipo como se indica a continuación, después proceda según el paso 3:

Para los **ensayos de recuento**, diluya la muestra inicialmente por 1:10 utilizando el disolvente de su elección, es decir añadiendo 90 mL de disolvente a los 10 g de muestra.

Para los **ensayos de presencia/ausencia**, diluya la muestra con el disolvente de su elección o el caldo enriquecido de acuerdo con el procedimiento habitual de su laboratorio.

3. Mezclar totalmente el material de ensayo bajo condiciones asépticas.
4. Dejar el material de ensayo para reconstituir a temperatura ambiente durante un mínimo de 60 minutos, pero no más de 90 minutos.

#### Ensayo.

- Inmediatamente antes del análisis, mezcle completamente la muestra reconstituida y después analice el material para los organismos objetivo utilizando el método habitual de su laboratorio.



## Instrucciones para el Manejo de los Materiales de Ensayo Microbiológico y Registro de Resultados

### Muestras de Química

#### Determinación de ceniza.

1. Pese aproximadamente 5 g de gelatina (con un error de 0.001 g) en un crisol adecuado que previamente haya sido calentado, enfriado y pesado.
2. Añada entre 1.5 y 2.0 g de parafina para evitar pérdidas debido a la expansión.
3. Caliente, suavemente al principio en una placa eléctrica caliente o en un horno de mufla, hasta que la sustancia está totalmente compartida.
4. Finalice la incineración en un horno de mufla a 550°C durante 15 o 20 horas.
5. Enfríe la muestra en un desecador.
6. Pese la muestra y calcule el porcentaje de residuo.

El contenido en ceniza, expresado como % de ceniza es igual a:

% ceniza = [peso de ceniza] / [peso de la muestra] X 100%

#### Determinación de la fuerza del gel (Bloom value).

1. Aparato: Analizador de textura con un pistón cilíndrico de  $12.7 \pm 0.1$  mm de diámetro con una superficie plana de presión con un fondo afilado, o una botella de  $59 \pm 1$  mm de diámetro interno y 85 mm de alto.
2. Ajuste el aparato de acuerdo con el manual del fabricante. Los ajustes son: distancia 4 mm, velocidad de ensayo 0.5 mm/s.
3. Método. Realice el ensayo por duplicado. Ponga 7.5 g de la sustancia para analizar en cada botella. Añada 105 mL de agua R, ponga un vidrio de reloj sobre cada botella y déjelo estar entre 1 y 4 horas. Caliente en un baño de agua a  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. Mientras caliente, agite suavemente con una varilla de cristal. Asegúrese de que la disolución es uniforme y que no queda agua condensada en las paredes interiores de la botella. Deje enfriar a temperatura ambiente durante 15 minutos y transfiera las botellas a un baño controlado por termostato a  $10.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , y equipado con un dispositivo para asegurar que la plataforma en la que están las botellas está perfectamente horizontal. Cierre las botellas con un tapón de goma déjelas durante  $17(\pm 1)$  horas. Quite las botellas del baño y limpie rápidamente el agua del exterior de las botellas. Centre las 2 botellas en la plataforma del aparato de manera que el vástago contacte con la muestra tan cerca del punto medio como sea posible y comience la medición.
4. Envíe el resultado como la media de las 2 mediciones.

#### Determinación del punto isoeléctrico.

1. Prepare una disolución de gelatina al 5% y trátela con resinas de intercambio iónico para desionizarla.
2. Mida el pH de la disolución obtenida a 30°C, la lectura corresponde al punto isoeléctrico de la gelatina.



## Instrucciones para el Manejo de los Materiales de Ensayo Microbiológico y Registro de Resultados

### Determinación de humedad.

1. Limpie el plato de evaporación cuidadosamente con agua caliente.
2. Ponga el plato en el horno de secado a 105°C durante al menos una hora.
3. Enfríe el plato en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
4. Pese aproximadamente 5 g de gelatina redondeando al miligramo más cercano y anote el peso de la muestra de ensayo (m0), y el peso de la muestra junto con el plato de evaporación (m1).
5. Ponga el plato de evaporación que contiene la muestra en el horno de secado a 105±2°C durante 16 o 18 horas.
6. Enfríe el plato en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente, y péselo redondeando la miligramo más cercano (m2), pese y calcule el porcentaje de residuo.

El contenido de humedad, expresado como porcentaje por peso, es igual a:

$$\% \text{ de humedad} = [(m1) - m2] / m0 \times 100\%$$

Donde: m0 es el peso en gramo de la muestra de ensayo; m1 es el peso en gramos de la muestra de ensayo junto con el plato de evaporación, antes de secarlo; m2 es el peso en gramos de la muestra de ensayo junto con el plato de evaporación, después de secar.

### Determinación de pH.

1. Disuelva 1.00 g de gelatina en agua R libre de dióxido de carbono a unos 55°C, diluya a 100 mL con el mismo disolvente y mantenga la disolución a esta temperatura para realizar en ensayo.

*Agua R libre de dióxido de carbono:* Agua que ha estado en ebullición vigorosa durante unos minutos y que ha sido protegida de la atmósfera durante el enfriamiento y el almacenamiento.

### Determinación de viscosidad.

1. Pese 7.50±0.01 g de gelatina en una jarra o un vaso de 150 mL.
2. Añada 105±0.2 g de agua desionizada, agite para suspender todas las partículas de gelatina.
3. Cubra y deje a temperatura ambiente de 1 a 3 horas.
4. Disuelva la muestra en un baño de agua a 65°C durante 10 o 15 minutos, agitando lo que sea necesario.
5. Cuando la temperatura de la disolución alcance 61°C, y la muestra esté completamente disuelta y totalmente mezclada, transfiera la disolución a la pipeta de viscosidad y proceda con la determinación de viscosidad.
6. Utilizando un dedo de la mano libre cubra la terminación en capilar de la pipeta y vierta suficiente disolución para llevar el nivel aproximadamente 1 cm por encima de la marca superior.
7. Ponga el termómetro dentro de la pipeta y lentamente súbalo y bájelo hasta que la temperatura se mantenga constante en 60.00±0.05°C.
8. Quite el termómetro de la pipeta.



### Instrucciones para el Manejo de los Materiales de Ensayo Microbiológico y Registro de Resultados

9. Anote el tiempo requerido para que 100 mL de disolución pasen a través del tubo capilar de la pipeta, mediante el drenaje de la disolución de gelatina y active el reloj tan pronto como el menisco del líquido llegue a la línea más alta de la pipeta. Pare el reloj cuando el menisco llegue a la línea más baja de la pipeta.
10. Anote el tiempo obtenido redondeando a la décima de segundo más cercana, este valor es el tiempo de flujo.

Cálculo de la viscosidad.

La viscosidad (redondeada al milipoise más cercano) a 60°C de cualquier muestra con tiempo de flujo t (en segundos) se puede calcular de la siguiente ecuación:

$$V = (At - B/t) \times d$$

A, B = A y B son constantes de la pipeta

t = tiempo de flujo, en segundos

d = densidad de la disolución (para un 6.67% disolución de gelatina a 60°C d = 1.001)

#### Registro de Resultados.

- Todos los resultados deben ser enviados utilizando nuestra página web (PORTAL).
- Por favor diríjase a <https://portal.proficiencytestingschemes.com>.
- Regístrese utilizando su Lab ID, nombre de usuario y contraseña.
- La guía de usuario de PORTAL puede ser descargada en la página web en la sección de ayuda (Help).

Por favor no dude en contactar con nosotros si necesita ayuda.

Juan Galisteo Ochaíta

Tel: +34 608 17 46 77

Email: [juan.galisteo@lgcgroup.com](mailto:juan.galisteo@lgcgroup.com)

#### Precauciones.

- Los materiales de ensayo contienen microorganismos viables y se suministran suponiendo que el comprador dispone de personal competente y cualificado para manejarlo con seguridad. Los materiales de ensayo solo deben ser abiertos en un laboratorio por personal cualificado.
- Revise la Hoja de Seguridad para obtener información del manejo y eliminación segura de los materiales de ensayo.