



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1. Datos de consumo de latas de bebida en España	6
2.2. Proceso de fabricación de latas de bebida	9
2.3. Proceso de llenado e higiene del proceso	11
2.4 Puntos de contaminación microbiana.....	15
2.4.1. Contaminación durante el transporte	15
2.4.2 Contaminación durante la comercialización y distribución.....	16
2.4.3. Contaminación durante el consumo	17
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	19
3.1. Objetivo general.....	19
3.2. Objetivos específicos.....	19
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
4.1. Entorno y selección de las unidades muestrales	20
4.2. Grupos microbianos investigados	22
4.3. Metodología analítica	24
4.3.1. Análisis microbiológico del contenido de las muestras	24
4.3.2. Análisis microbiológico de la superficie de las muestras	25
4.4. Obtención de los resultados	27

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
5.1. Resultados del análisis microbiológico del contenido	28
5.2. Recuentos del análisis microbiológico de las muestras	28
5.3.1. Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos totales	31
5.3.2. Recuentos de micobiota	32
5.3.3. Recuentos de S. aureus	34
5.3.4. Recuentos de Coliformes/ E. coli	34
6. CONCLUSIONES	35
7. VALORACION PERSONAL	37
8. BIBLIOGRAFÍA	38
9. ANEXOS	41
ANEXO I. Etapas del proceso DWI para la fabricación de latas de bebida y secuencia de fabricación de un envase para bebidas por la técnica de embutido- estirado-planchado.	41
ANEXO II. Hoja de registro de muestras	42
ANEXO III. Ficha de resultados de muestra.	43

1. RESUMEN

Las bebidas en lata permiten transportar el alimento, conservarlo en condiciones óptimas durante su vida útil y consumirlo fácilmente. El formato de lata como envase para bebidas puede encontrarse en casi todos los canales de distribución: grandes superficies, comercios minoristas, máquinas expendedoras, etc.

Durante su distribución y venta, las latas están expuestas largos periodos de tiempo al ambiente y además sufren una manipulación en el transporte, la exposición y el consumo. Por tanto, el riesgo de contaminación microbiana en la superficie de las latas no puede obviarse.

El objetivo de este Trabajo de Fin de Grado ha sido conocer el perfil microbiológico de las latas de bebida durante su distribución comercial, tanto en packs con la habitual protección plástica, como individualmente.

Para conocer la carga microbiana de la superficie externa de latas se obtuvieron tres lotes de muestras procedentes de tres canales de comercialización diferentes: latas con empaque secundario procedentes de grandes superficies, latas obtenidas en pequeños establecimientos y latas expuestas en máquinas expendedoras para su venta.

Se realizó un análisis microbiológico de las muestras, tomando como unidad analítica la zona de la lata que potencialmente podría entrar en contacto con los labios en el momento de su consumo. Los parámetros microbiológicos a cuantificar fueron el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales, recuento de micobiota, recuento e identificación de *Staphylococcus aureus* y recuento de organismos coliformes y de *E. coli*.

Los resultados revelan que durante la distribución comercial la carga microbiana del exterior de las latas aumenta; aunque los niveles de contaminación son normales. Sin embargo, sería recomendable incorporar un sistema de protección a la tapa de la lata como medida preventiva frente a la contaminación microbiana.

1. ABSTRACT

Cans are used to transport, conserve and consume food. The can format, as a beverage container, can be found in all distribution channels: supermarkets, small shops, vending machines, etc.

Cans are exposed to the environment during its distribution and sale. They can also be manipulated during their transport, exposure and consumption. Therefore, the contamination risk on their surface should not be ignored.

The aim of this undergraduate dissertation is to know the cans microbiological profile during their commercial distribution. Three different samples were obtained: cans from large surfaces protected with plastic film, from small supermarkets and from vending machines.

A microbiological analysis of these samples has been carried out, specifically of the area which is in contact with the consumer lips. A total recount of the mesophilic aerobic microorganisms, mycobiota recount, count and identification of *S. aureus* and count of coliform organisms and *E. coli* has been made.

The results are, in essence, that external contamination increases when there is not plastic film covering the different cans, although the these levels are normal. As a sugerence, different protection systems should be included in all cans no matter the distribution channel used.

2. INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de consumo de alimentos ha generado que la industria agroalimentaria desarrolle conjuntamente tanto tecnologías de procesado como de conservación para garantizar el estado higiénico y aumentar la vida útil de los alimentos. El envasado en la industria alimentaria ha sido decisivo para mantener la calidad higiénica de los productos alimenticios desde su fabricación hasta su consumo. Además, permiten transportar los alimentos cómodamente, evitando el derramamiento del contenido y protegiéndolos de agentes externos.

El enlatado quizá sea el primer método moderno para conservar y al mismo tiempo proteger los alimentos del exterior. Su inventor, el francés Nicolas Appert (1749-1841) desarrolló el método de conservación hermética de los alimentos tras 14 años de experimentación. En aquella época, Francia estaba en guerra por lo que su gobierno decidió recompensar con un premio en metálico para quien encontrara un procedimiento de conservación de alimentos. En 1810, Appert gana el concurso y funda la primera fábrica de conservas del mundo (Lance y McNeil, 1998). Ese mismo año, Peter Durand patenta el primer envase de hojalata sellado para alimentos (Valderas, 2012). En los años 50 marcas como Coca-Cola popularizan las latas como forma de comercializar su universal refresco.

Por tanto, el sector de enlatado de bebidas tiene cierta longevidad y se ha consolidado en la sociedad de consumo. La evolución de este envase ha generado uno de los mayores ejemplos de colaboración entre distintos sectores industriales, logrando mejorar la lata de bebida, uno de los desarrollos tecnológicos más populares en todo el planeta (Diaz, 2018).

En 2016 se bebieron 1,8 billones de latas en el mundo, lo que supone un consumo de 259 latas por habitante y año solo de refrescos en lata (Lago, 2016). En 2015, los consumidores españoles y portugueses consumieron 130 latas al año de acuerdo con las declaraciones de Santi Milet, presidente de la Asociación de Latas de Bebida, a la agencia de noticias EFEAGRO (2016).

2.1. Datos de consumo de latas de bebida en España

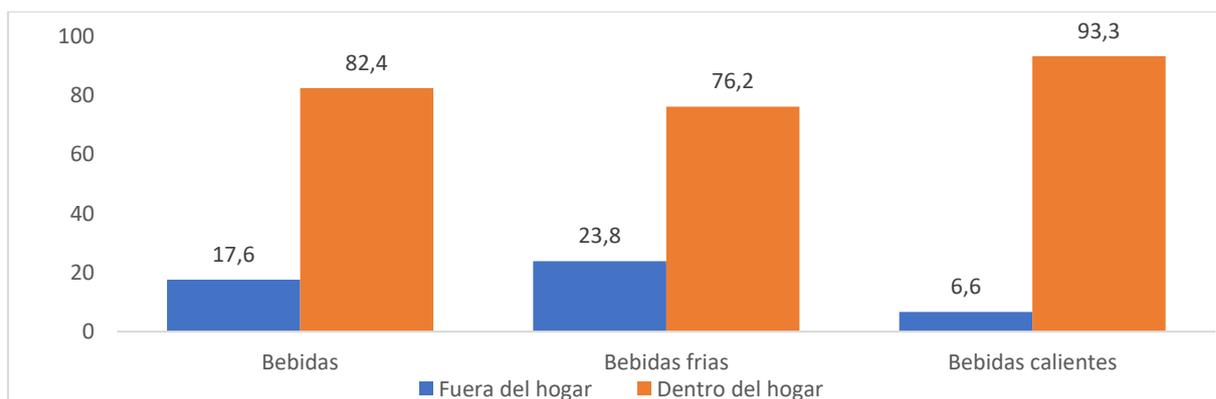
El informe anual de consumo alimentario 2017 en España, del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA, 2018), permite conocer el gasto y el volumen de diferentes grupos de productos alimenticios que se consumen en España tanto fuera como dentro del hogar. Todos los datos aportados a continuación han sido seleccionados de dicho informe con el fin de sacar algunas conclusiones.

Dentro del gasto total de alimentos y bebidas, el 19,6% se destina a la compra de bebidas. El 13,3% se corresponden con bebidas frías y el 6,3% restante con bebidas calientes como el café. Las bebidas frías más consumidas son el agua embotellada (81,9 l/per cápita), las bebidas refrescantes (49,4 l/per cápita) y la cerveza (42 l/per cápita).

El gasto en bebidas fuera del hogar fue del 31,8% del gasto total de alimentos y bebidas, de los cuales el 24,5% les corresponde a las bebidas frías. La cerveza, por si sola, supuso una facturación del 38%. Como se muestra en la gráfica 1 el consumo de bebidas frías es el que adquiere mayor importancia fuera del hogar (casi 1 de cada 4 litros).

El porcentaje de distribución del volumen de bebidas consumidas tanto dentro como fuera del hogar y su desglose en bebidas frías y bebidas caliente aparece en la gráfica 1.

Gráfica 1: Distribución por porcentaje de las bebidas consumidas dentro y fuera del hogar.

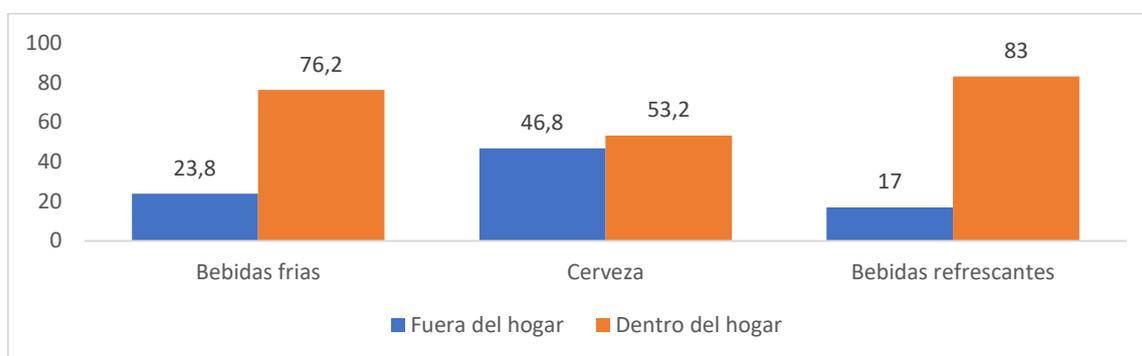


Fuente: MAPAMA (2018).

En la gráfica 2 aparece la distribución por porcentaje del total de cervezas y bebidas refrescantes consumidas dentro y fuera del hogar. En esta gráfica se puede observar que, por una parte, el volumen de cerveza consumido se reparte de forma similar dentro y fuera del hogar con un 53,2% y un 46,8%, respectivamente y por otra parte que la mayoría de las bebidas refrescantes son consumidas dentro del hogar (83%).

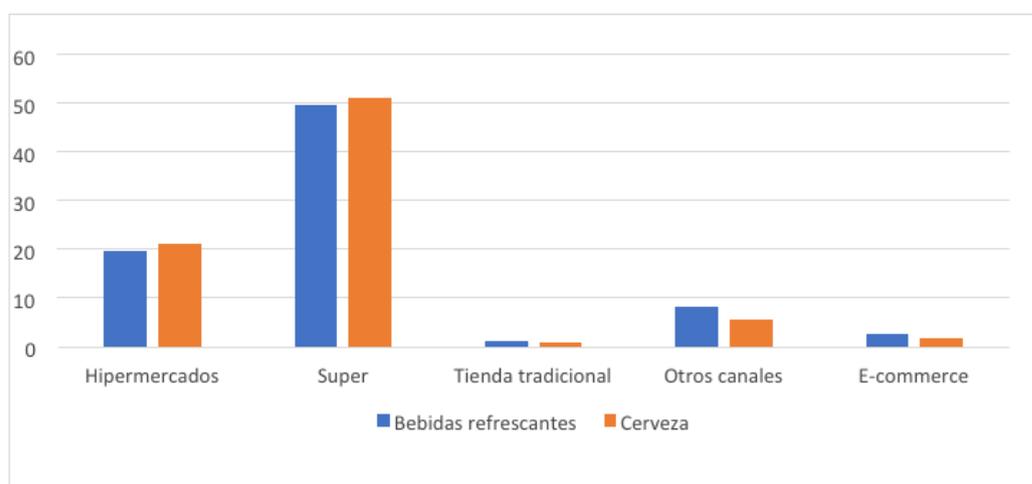
Sin embargo hay que tener en cuenta que los formatos para consumir dentro del hogar son de un volumen superior (botellas de 1,5l o 2l), en comparación con los formatos que se consumen fuera del hogar (vasos, latas de 33 cl, etc.).

Gráfica 2: Distribución por porcentaje de las bebidas frías y calientes consumidas fuera y dentro del hogar.



Fuente: MAPAMA (2018).

Gráfica 3: Distribución por porcentaje de venta de bebidas refrescantes y cervezas según canal de comercialización.



Fuente: MAPAMA (2018).

Por último, se encuentra reflejado en la gráfica 3 la distribución por porcentaje de venta de bebidas refrescantes y cervezas por canales de distribución. Los hiper y supermercados cuentan con más del 70% de las ventas y solo el 9,4% de los refrescos o cervezas se han vendido en tiendas tradicionales o en otros canales.

De los datos expuestos se puede concluir que:

- Las bebidas más consumidas son el agua embotellada, la cerveza, las bebidas refrescantes y el café.
- En el caso de la cerveza se incrementa su consumo tanto dentro como fuera del hogar. Sin embargo, el consumo de bebidas refrescantes en 2017 fue menor que el año anterior.
- El volumen de bebidas frías consumidas fuera del hogar es de aproximadamente 1 de cada 4 litros.
- Se estima que el 93% de la población española consume al menos una vez al año bebidas fuera del hogar.
- Casi la mitad del volumen de cerveza total se consume fuera de los hogares, mientras que el de las bebidas refrescantes no llega a ser del 20%. Esto se relaciona con el tipo y volumen de formato que es consumido dentro y fuera del hogar.
- Tanto para bebidas refrescantes como para cervezas, el canal de distribución mayoritario son hiper y supermercados. El 10% de las ventas se realizan en tiendas tradicionales u otros canales, como pequeños establecimientos.

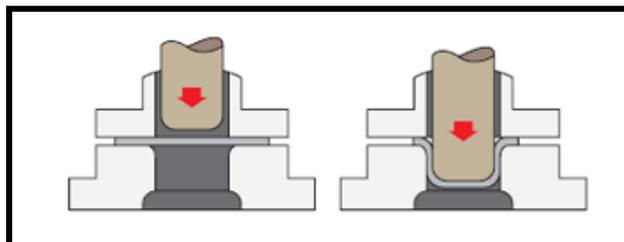
2.2. Proceso de fabricación de latas de bebida

Las latas tradicionales utilizadas para el enlatado de alimentos sólidos (conservas de pescado, pates, legumbres, etc.) son de tres piezas: cuerpo, fondo y tapa. Sin embargo, las latas de bebida únicamente constan de dos piezas: cuerpo y tapa. La fabricación de este tipo de latas requiere de una tecnología muy avanzada que permite obtener, a partir de una chapa de acero o aluminio de entre 0,30 mm y 0,33 mm de espesor, un envase sólido con un grueso de pared en torno a unos 0,10 mm.

El material que se utiliza para la fabricación de las latas puede ser acero estañado (hojalata) o aluminio. Actualmente se fabrican cada vez menos latas de hojalata, aumentando la producción de las de aluminio. Según la Asociación Ecológica para el Reciclado de Hojalata (ECOACERO) las latas de aluminio están fabricadas con un 50% de material reciclado, mientras que en las de acero este porcentaje disminuye al 25%. Esta tendencia del mercado hacia la fabricación de latas de aluminio no se debe a una medida de protección del medio ambiente, sino a intereses económicos y ventajas competitivas entre las empresas del sector (Perluga, 2015).

La fabricación de latas de bebida se lleva a cabo en plantas metalográficas. La hojalata o aluminio llega en bobinas y se cortan en láminas. Posteriormente pasan por una máquina de corte para producir miles de pequeñas chapas. El cuerpo de la lata se fabrica mediante un proceso denominado DWI (DWI: Drawn & wall-ironed, en español embutido-estirado-planchado) en el que cada chapa pasa por una serie de anillos de tungsteno que van reduciendo el diámetro original y adelgazando las paredes, dando lugar al incremento de la altura de la pieza (Figura 1).

Figura 1: Secuencias de la fabricación de latas de bebida por el proceso DWI.



Fuente: Valderas, 2012.

Una vez finalizada esta etapa, se corta el extremo irregular superior y la pieza se ajusta a la altura deseada. El material sobrante es reciclado. Las piezas con forma de lata pasan por un adecuado lavado y secado para eliminar cualquier traza de metal o lubricante.

Cuando la pieza está limpia se le aplica una laca blanca o coloreada a la cara externa, que permite obtener una superficie idónea para imprimir. También es necesario proteger el interior de la lata de la corrosión y de cualquier posible interacción entre el alimento y el metal, por lo que la cara interna se impregna con una capa de revestimiento. Por último, se reduce el borde superior de las latas (necked-in) y se moldea hacia fuera para poder encajar la tapa mediante un sellado hermético.

Figura 2: Aspecto de una lata de bebida durante su fabricación por el proceso DWI.



La fabricación de la tapa también comienza con una lámina de acero o aluminio que se corta en una prensa para obtener piezas con los bordes curvados. Después se les aplica un fino hilo de compuesto sellador. En esta etapa es fundamental realizar un control de calidad para comprobar la idoneidad de los cierres (Valderas, 2012). Las anillas son fabricadas a partir de una lámina estrecha de aluminio o acero que se troquea y se corta en dos o tres etapas.

Finalmente, las tapas y las anillas pasan a una máquina troqueladora que inserta y remacha las anillas a las tapas. Las tapas de abertura fácil se colocan en tubos de papel-cartón y se paletizan para su distribución a la industria.

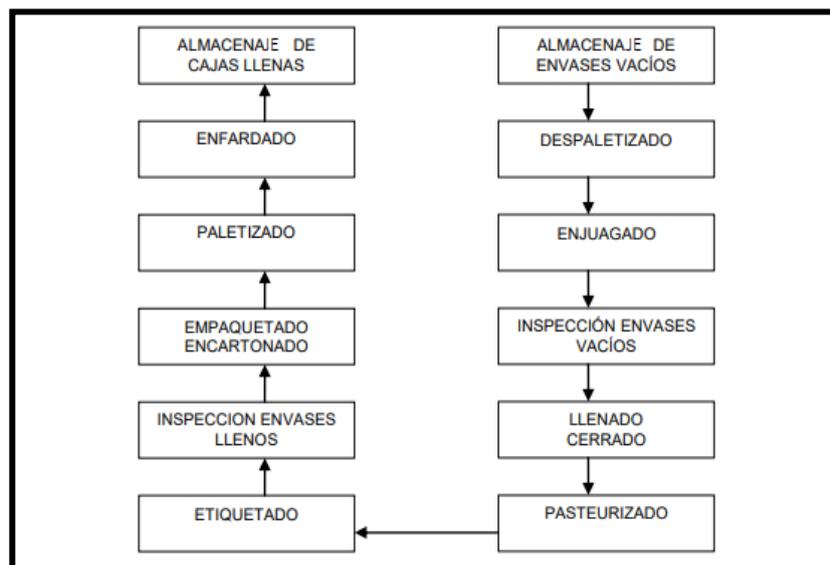
En el ANEXO I se puede consultar con más detalle el diagrama de flujo que sigue el proceso DWI para la fabricación de latas de bebidas.

2.3. Proceso de llenado e higiene del proceso

La higiene durante el proceso de fabricación de la lata es muy cuidadosa. La mayoría de las guías de buenas prácticas higiénicas y otros documentos técnicos similares (IICA-AECI, 1999; AINIA y AIMPLAS, 2016) indican que las latas deben ser lavadas antes de llenarse. La operación de limpieza de latas debe realizarse con un volumen relativamente grande de agua limpia de buena calidad a presión. Si no se lleva a cabo dicho lavado, las latas deben al menos invertirse y el interior ser soplado con aire limpio a alta presión para eliminar cualquier tipo de impureza.

El proceso de llenado de latas se realiza en una serie de etapas, como refleja el diagrama de la figura 3. En todo caso, estas etapas pueden sufrir modificaciones y variaciones dependiendo de las instalaciones de la industria envasadora y del producto a envasar. Para evitar o minimizar los riesgos de contaminación en la sala de envasado se debe seguir un protocolo de higiene adecuado y riguroso.

Figura 3: Diagrama de flujo del proceso de llenado de envases no retornables.



Fuente: Barrera, 2011.

Las latas llegan al equipo de llenado mediante un sistema de cintas transportadoras. Los envases se colocan en las válvulas de llenado para a continuación centrar y presionar dichos envases a las válvulas.

Después, se llena la lata a través de la válvula. Cuando se ha añadido el volumen establecido de producto se cierra la válvula y las latas pasan al equipo de sellado (Figura 4).

Figura 4: Llenadora mecánica de latas de bebida.



Generalmente las latas llegan destapadas al equipo de llenado. El tiempo de exposición en esta etapa debe ser el mínimo para evitar una exposición prolongada al ambiente que genere una contaminación inaceptable del envase.

La limpieza y desinfección del equipo de llenado es esencial, puesto que una contaminación del producto durante la etapa de llenado solo puede deberse al contacto con las superficies del equipo de llenado (contenedores del producto, conductos, válvulas, etc.). Las piezas mecánicamente móviles de las válvulas en contacto con el producto son difíciles de limpiar, creando nichos para el crecimiento de microorganismos. El sistema de tuberías que bombean el producto debe evitar cualquier tipo de contaminación cruzada o mezcla de corrientes.

De acuerdo con Hoffman (2015), cualquier residuo de bebida en los equipos de la envasadora representa un riesgo potencial para el crecimiento de contaminantes por lo que los sistemas modernos de bombeo incorporan un sistema de limpieza CIP.

A continuación, las latas pasan al equipo de cierre por lo que el contenido vuelve a estar expuesto a una contaminación microbiana ambiental (Figura 5).

Al igual que ocurre con el equipo de llenado, los elementos de los equipos de cerrado son también accionados mecánicamente con partes móviles y, por tanto, estas partes representan un riesgo potencial de contaminación microbiológica. Actualmente, los elementos de cierre se diseñan para automatizar la limpieza de los elementos móviles y las partes internas de la máquina.

Figura 5: Las latas de refresco llegan destapadas al equipo de cerrado mediante un sistema de cintas transportadoras.



Todos los cierres de los envases deben ser higiénicos y estar exentos de posibles microorganismos alterantes. Comúnmente, los cierres se transportan sellados en bolsas de plástico y en cajas grandes, aunque también pueden empaquetarse en tubos de papel-cartón. En este ambiente seco y estéril no es posible el crecimiento microbiano. Sin embargo, unas condiciones inadecuadas de almacenamiento o transporte pueden dañar el embalaje o humedecer las cajas de cartón que los contienen. Los cierres también pueden desinfectarse antes de su entrada a la máquina de cierre.

Tras el cerrado de la lata se realiza una ducha de la misma para eliminar el exceso de bebida y evitar el crecimiento de microorganismos en el exterior de la lata o en los bordes de la tapa. Aunque el crecimiento microbiano en el exterior de la lata no va en un detrimento de la calidad del producto, se debe evitar la presencia de mohos, levaduras y otros microorganismos que pudieran crecer en los residuos del producto en la superficie de la lata (Hoffman, 2015).

Cualquier posibilidad de contaminación dentro de la sala de envasado debe ser mínima. Los envases sucios deberían estar estrictamente separados de los envases limpios. Se debe garantizar la supresión de cruce de circuitos principalmente en el área de llenado para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada durante el proceso.

Además, el estado higiénico de los sistemas de cintas transportadoras debe controlarse regularmente, puesto que estos sistemas permiten la entrada y salida de latas a los equipos de envasado, vehiculando bacterias de una zona a otra en la sala de envasado.

Un proyecto de investigación (Hoffman, 2015) estableció que los principales microorganismos generadores de biofilms en la industria cervecera eran levaduras salvajes, bacterias ácido-lácticas, pseudomonas y enterobacterias.

La formación de biofilms microbianos es uno de los peligros de más alto riesgo en los equipos de llenado y cierre, en las cintas transportadoras y en el lavador de envases. Cuando se llena el producto es muy difícil evitar una cierta dispersión de la bebida que proporciona el agua y los nutrientes necesarios para el desarrollo de dichas asociaciones microbianas. Además, las altas velocidades de los equipos actuales generan corrientes de aire y turbulencias que llevan los aerosoles (pequeñas partículas líquidas suspendidas en el aire) por prácticamente todas las superficies de la máquina de llenado, contribuyendo a la formación de biofilms (Hoffman, 2015).

La mejor manera de garantizar un estado higiénico óptimo de las instalaciones y equipos es mediante controles escalonados de las superficies, equipos y productos.

Tras el proceso de llenado y sellado de las latas, estas pasan por un proceso de pasteurización que permite garantizar la seguridad alimentaria durante la vida útil de la bebida. Puesto que la pasteurización se realiza una vez el producto está enlatado, el tratamiento térmico tiene un objetivo doble: por una parte, garantizar un riesgo mínimo de supervivencia microbiana (la pasteurización elimina los microorganismos vegetativos, pero no los esporulados) y, a su vez, permite higienizar la lata externamente, eliminando cualquier microorganismo que haya podido contaminar la superficie de la lata durante su elaboración, llenado y cierre. De esta forma, la empresa está en condiciones de asegurar su calidad higiénica tanto en el exterior como en el interior de la lata de bebida.

2.4. Puntos de contaminación microbiana

2.4.1. Contaminación durante el transporte

Durante el transporte de las latas de bebida hacia los canales de distribución existe riesgo de contaminación microbiana externa que puede deberse a unas malas condiciones higiénicas, una manipulación inadecuada o una contaminación cruzada de la superficie de las latas de bebida.

Para evitarlo las empresas elaboradoras de latas de bebida recurren habitualmente a protegerlas y agruparlas bajo una película plástica o film (Figura 6). Esta película las aísla de una posible contaminación externa actuando de barrera protectora y facilitan su manejo conjunto. Sin embargo, hay que tener en cuenta que este film puede romperse durante el transporte por lo que la protección puede dejar de ser eficaz.

Figura 6: Latas de bebida protegidas con film plástico en la estantería de una gran superficie. Observe la protección rota por la presión del pack que se encontraba encima



2.4.2 Contaminación durante la comercialización y distribución

Generalmente, las latas son agrupadas en diferentes formatos de comercialización mediante un film plástico de protección (packs de latas de 4, 8, 9, 24, etc.) una vez llenas, limpias e higienizadas. Las latas de bebida con envase secundario van a tener un mínimo riesgo de contaminación microbiológica puesto que esta protección preserva a las latas de la contaminación ambiental y evita su manipulación directa.

Sin embargo, existe el riesgo de contaminación cuando las latas son extraídas o desprotegidas del film plástico. La manipulación de las latas para extraerlas de la protección plástica y situarlas en estanterías, frigoríficos, expositores, máquinas vending, etc., seguida de la manipulación en el momento de su consumo, pueden ocasionar una contaminación de la lata.

Además, las latas se exponen al ambiente de forma que los microorganismos pueden llegar hasta su superficie y permanecer en ellas durante largos periodos de tiempo (Tabla 1). Las bebidas en lata son alimentos con una larga vida útil, por lo que las posibilidades de contaminación microbiana aumentan.

Tabla 1: Tiempo de supervivencia de distintos microorganismos procariotas y eucariotas sobre superficies inanimadas.

TIPO DE MICROORGANISMO	TIEMPO VIABLE EN EL MEDIO AMBIENTE
<i>Escherichia coli</i>	1.5 horas a 16 meses
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 días a 7 meses
<i>Campylobacter jejuni</i>	Más de 6 días
<i>Listeria spp.</i>	1 día a meses
<i>Salmonella typhi</i>	6 horas a 4 semanas
<i>Shigella spp</i>	2 días a 5 meses
<i>Clostridium difficile (esporas)</i>	5 meses
<i>Candida</i>	1 a 120 días

Fuente: Castañeda y Ordoñez, 2014.

2.4.3. Contaminación durante el consumo

Aunque el principal contacto entre el manipulador y la lata se va a producir en el cuerpo de esta más que en la zona donde el consumidor posa los labios para beber, la lata se abre manualmente, lo que implica un contacto directo entre la mano del consumidor y la anilla que permite abrir la lata.

El riesgo de multiplicación microbiana es muy bajo en el exterior de la lata, puesto que la hojalata o el acero no son matrices alimentarias ni favorecen el crecimiento microbiano. Sin embargo, la posible presencia de microorganismos y residuos de producto en este tipo de envases no se puede obviar por las razones expuestas.

La principal ventaja de las latas es la posibilidad de beber directamente de ella, sin necesidad de utilizar otro recipiente donde verter su contenido para consumirlo. Esto implica un contacto directo entre la lata y los labios del consumidor, con el riesgo de introducir los microorganismos presentes en la superficie del envase dentro del organismo.

Es necesario tener en cuenta que esta situación no supondría un riesgo real o se reduciría notablemente si el consumo de este tipo de bebidas fuera siempre en otro recipiente distinto de la lata.

De todos modos, seguiría existiendo cierto riesgo por la apertura manual y por el arrastre de microorganismos asentados en la superficie de la lata durante el vertido de su contenido.

Por tanto, la opción más eficaz es la limpieza y desinfección de la lata previa al consumo del líquido o la protección mediante películas plásticas o de aluminio a modo de tapa de la zona más sensible a la contaminación (Figura 7).

Figura 7: Ejemplos de protecciones para la tapa de la lata.



El presente estudio está enfocado a conocer el perfil microbiológico de la superficie de latas durante su distribución comercial en pequeños comercios locales y máquinas tipo vending, una vez extraídas de su envase plástico y vendidas individualmente. En este tipo de establecimientos las medidas higiénicas pueden resultar escasas y sin un control higiénico sistemático por lo que la contaminación ambiental es un factor de riesgo a tener en cuenta. Por otra parte, la manipulación a la que pueden ser sometidas las latas también puede implicar un riesgo de contaminación que no se tiene en cuenta cuando se consume el contenido de la lata directamente de la misma.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad, el consumo de bebidas en lata tiene una tendencia claramente al alza, siendo preocupante que en muchos casos dicho consumo se efectúe sin someter a la lata a ningún tipo de limpieza higiénica previa.

Al margen de este aspecto es preciso señalar que el problema desde un punto de vista microbiológico puede agravarse cuando las latas permanecen expuestas a la contaminación ambiental o a una manipulación excesiva sin la debida protección y/o en ámbitos comerciales de escasa higiene. Es el caso de su comercialización en formato individual en máquinas tipo vending o mediante su exposición en estantes.

Existen una infinidad de artículos divulgativos, noticias, recomendaciones y otras publicaciones no científicas acerca del riesgo que supone consumir directamente de una lata de bebida; sin embargo, los estudios científicos a este respecto son escasos y en la actualidad no existe una evidencia científica que demuestre, o desmienta, que el consumo directo de las latas de bebida pueda presentar un problema de Salud Pública.

Este trabajo se ha diseñado, por tanto, para conocer el perfil microbiológico de las latas de bebida durante su distribución comercial, tanto en packs con la habitual protección plástica, como individualmente. La analítica permitirá establecer si el consumo de estas bebidas implica un riesgo para el consumidor y si fuera necesario la implantación de medidas higiénicas adicionales con el fin de mantener la calidad higiénica.

3.1. Objetivo general

Conocer el perfil microbiológico de latas de bebida de cerveza y refresco de cola durante su distribución comercial.

3.2. Objetivos específicos

- Diseñar un análisis microbiológico adecuado y eficaz para las muestras seleccionadas.
- Realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos.
- Comprobar si es seguro, desde el punto de vista higiénico, beber directamente de las latas.
- Implementar en su defecto prácticas higiénicas que puedan garantizar un consumo inocuo de este tipo de bebidas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Entorno y selección de las unidades muestrales

El estudio del perfil microbiológico se llevó a cabo sobre dos tipos de bebidas enlatadas de gran presencia comercial (cerveza y refrescos de cola) y pertenecientes a empresas reconocidas de modo que pueden encontrarse en cualquier canal de distribución.

Para cada tipo de bebida enlatada se adquirieron los siguientes lotes:

1^{er} lote. En formato de packs habitualmente entre 9 y 12 unidades y protegidas a su vez con un film plástico externo. Este será considerado como lote control.

2^o lote. Latas individuales obtenidas de comercios minoristas.

3^{er} lote. Latas obtenidas de máquinas vending.

El número de muestras analizadas por cada tipo de bebida y lote se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Número de muestras analizadas en función del lote o establecimiento de procedencia, del tipo de bebida.

Lotes	N.º establecimientos muestreados	N.º refrescos de cola	N.º cervezas	N.º total muestras/lote
Control	1	10	10	n=20
Comercios minoristas	10	20	18	n=38
Máquinas vending	6	10	4	n=14
TOTAL	17	40	32	n=72

Todas las muestras adquiridas procedían de diez establecimientos de alimentación y de seis máquinas vending o expendedoras todas ellos ubicadas en la ciudad de Zaragoza. Las máquinas vending estaban localizadas en tiendas, edificios universitarios, estaciones de tren y centros comerciales.

La recogida de muestras en cada establecimiento de alimentación y máquina vending se realizó de la siguiente manera:

Para la selección y recogida de las unidades muestrales se emplearon guantes estériles y se evitó en todo momento el contacto con la parte superior de la lata a analizar.

Posteriormente, cada lata se introducía en una bolsa estéril y se cerraba para evitar cualquier tipo de contaminación microbiana externa. Después se le asignaba un código tal y como aparece en el ANEXO II y queda ilustrado en la figura 8. Las muestras codificadas se guardaban bajo refrigeración hasta el momento de su análisis.

Figura 8: Muestras del estudio codificadas y guardadas en bolsas estériles.

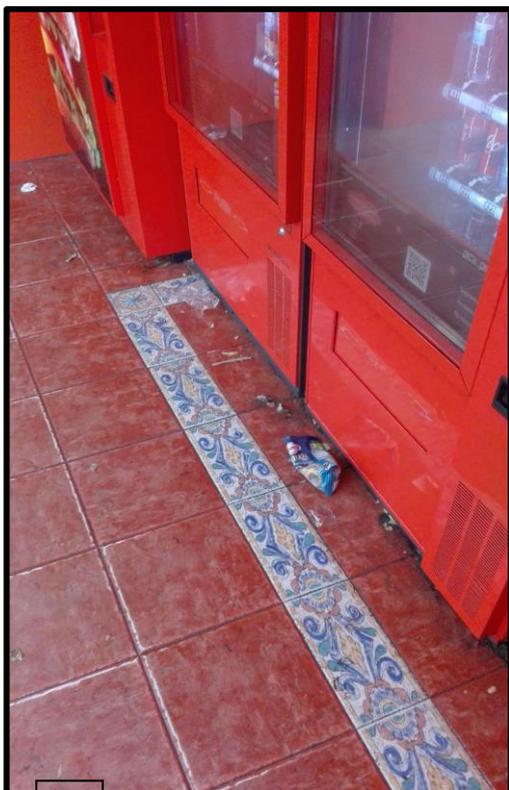


Para las muestras de comercios minoristas y máquinas vending se rellenó la hoja de registro con el fin de tener constancia del origen de las muestras y de algunas observaciones del comercio, como por ejemplo el estado higiénico-sanitario del local.

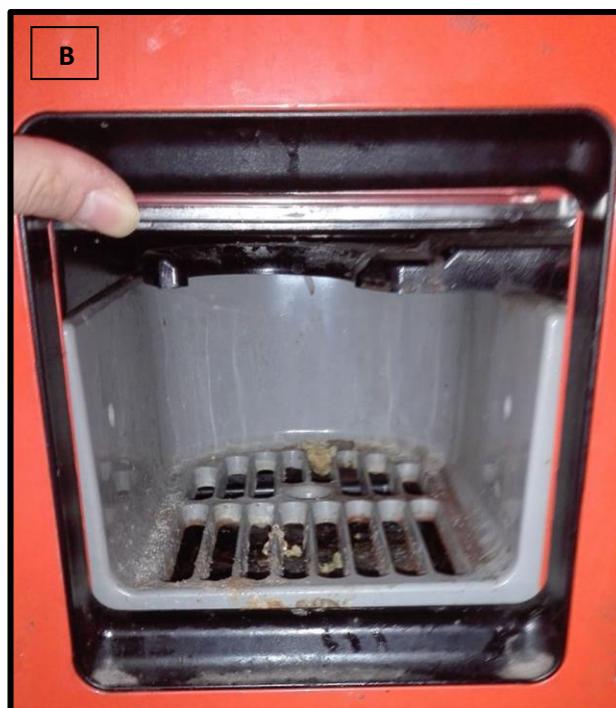
En general todos los comercios presentaban un ambiente aceptable pero mejorable desde un punto de vista higiénico. En muchos de ellos las latas estaban apiladas y apoyadas directamente en el suelo y los equipos refrigerados, en seis de los diez establecimientos, presentaban escarcha en las paredes; además de las estanterías sucias.

Casi todas las expendedoras eran máquinas nuevas que no evidenciaban nichos de suciedad. Sin embargo, como se puede observar en la figura 9, las condiciones higiénicas de algunas de estas expendedoras, especialmente las que no se encontraban en el interior de edificios, eran inaceptables.

Figura 9: Estado de una tienda de máquinas vending. A) Suelo del establecimiento, B) Máquina de café.



A



B

Se consideró como unidad analítica a la tapa junto con la anilla más el borde superior del cuerpo de la lata. Esta unidad es la porción superficial de la lata que potencialmente puede entrar en contacto con los labios en el momento de beber su contenido. También se consideró relevante para el estudio tener en cuenta la anilla puesto que es el mecanismo de apertura de la lata y el contacto manual con ella es inevitable en el momento del consumo.

La superficie total de la unidad analítica (tapa + anilla + borde superior del cuerpo) se estima en torno a 55 cm².

4.2. Grupos microbianos investigados

Los parámetros microbiológicos seleccionados para definir el perfil y la aptitud microbiológica de las latas analizadas fueron: recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales, recuento de micobiota (mohos y levaduras), recuento e identificación de *Staphylococcus aureus* y recuento de coliformes y *Escherichia coli*.

Las razones para la elección de estos parámetros son los siguientes (Trinks, 2014; Salfinger y Tortorello, 2015; ELIKA, 2016):

1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales. El recuento de este amplio grupo microbiano proporciona información sobre las condiciones que rodean el procesado, manipulación y almacenamiento de los alimentos. Se puede considerar un indicador de la calidad higiénica del envase. La presencia de un número elevado de mesófilos puede indicar unas condiciones favorables para el crecimiento de patógenos.
2. Recuento de micobiota. Estos microorganismos eucariotas son unos indicadores de contaminación ambiental normalmente de productos no perecederos que se someten a un almacenamiento prolongado y/o en malas condiciones higiénicas.
3. La población de microorganismos coliformes y *E. coli* es un claro indicador fecal. Especialmente esta última permiten evaluar la calidad general y las condiciones higiénicas presentes durante el procesado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos.
4. Recuento e identificación de *S. aureus*. Este microorganismo es responsable de la intoxicación estafilocócica. Se encuentra principalmente en mucosas de personas y animales por lo que su presencia denota o es indicativo de una manipulación. Además, las toxinas estafilocócicas son altamente estables al calor y pueden permanecer biológicamente activas bajo una amplia gama de condiciones de temperatura.

Por tanto, se investigaron aquellos microorganismos que pudieran definir la carga microbiana total y los relacionados con el ambiente y la manipulación. La tabla 3 recoge los microorganismos investigados, la normativa ISO aplicada, los medios de cultivo utilizados y las colonias típicas que presenta cada grupo microbiano.

Tabla 3: Grupos microbianos investigados, norma ISO de referencia, medios de cultivo empleados y colonias típicas.

GRUPO MICROBIANO	NORMATIVA ISO	MEDIOS DE CULTIVO	COLONIAS TÍPICAS
Aerobios mesófilos	4833:2014	PCA, OXOID	Todas
Micobiota	1627:2017	DRBC, VWR	Todas
<i>S. aureus</i>	6888:2000	BP+RPF, OXOID	Negras con halo
Coliformes/ <i>E. coli</i>	16649:2013	AS, VWR	Rosas/Azules

4.3. Metodología analítica

4.3.1. Análisis microbiológico del contenido de las latas

Antes de comenzar el análisis microbiológico de las muestras fue necesario comprobar que el contenido de las latas (cerveza y refresco de cola) estaba exento de microorganismos o que se encontraban en un número tan bajo que no pudiesen interferir ni condicionar los resultados.

En un principio, el diseño y las medidas higiénicas implantadas en las instalaciones y equipo del proceso de llenado y cierre de latas es riguroso por lo que es esperable que los recuentos del contenido de la lata sean nulos o muy bajos.

Para comprobar la carga microbiana del contenido se tomaron diez latas de cada tipo de bebida (refresco, n=10; cerveza, n=10) seleccionadas de packs con

film plástico de protección y adquiridas en grandes superficies.

Se impregnó con etanol una pequeña zona del exterior de la lata y se flameó para eliminar los microorganismos. A continuación, la parte esterilizada se perforó con tijeras estériles y la bebida se vertió en frascos estériles-

Para el análisis microbiológico del contenido se utilizó un medio nutritivo general (PCA, OXOID) mediante el procedimiento de homogenización en masa y una incubación aeróbica durante 48-72 horas a 30°C.

Figura 10: Metodología de toma de muestras y siembra del contenido de las latas.

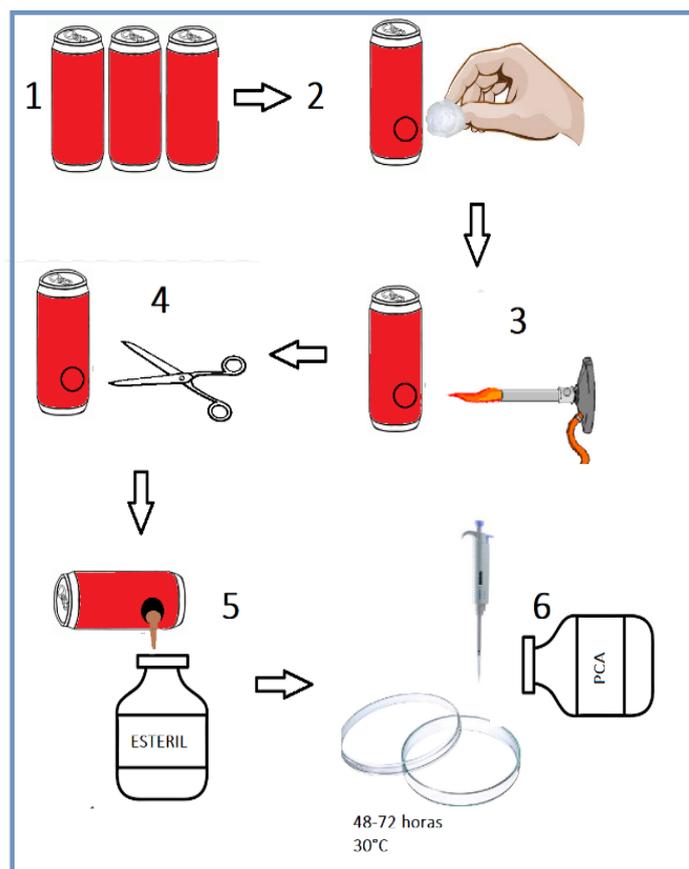


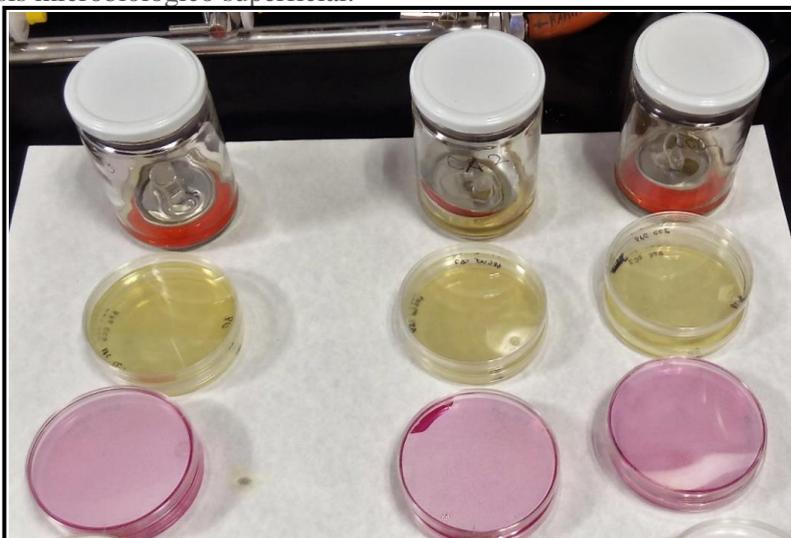
Figura 11: Material empleado para el análisis microbiológico del contenido de las latas de cerveza.



4.3.2. Análisis microbiológico de la superficie de las muestras

La dilución madre se realizó en frascos con 50 ml de agua de peptona tamponada estéril, en los que se introducía la unidad analítica obtenida tras el recorte con tijeras estériles (Figura 12 y 13). A continuación, se agitó bruscamente el frasco entre 1-2 minutos para conseguir arrastrar el mayor número de microorganismos desde la superficie de la unidad analítica hasta el diluyente

Figura 12: Aspecto de la dilución madre (tapa + diluyente) y de los medios de cultivo utilizados en el análisis microbiológico superficial.



La metodología de siembra empleada para cada grupo microbiano y el volumen de inóculo utilizado se seleccionaron teniendo en cuenta las directrices de la normativa ISO (Tabla 4)

Tabla 4: Grupo microbiano, método de siembra utilizado de acuerdo con las normas ISO y volumen de inóculo.

GRUPO MICROBIANO	MÉTODO DE SIEMBRA	VOLUMEN DE INÓCULO
Aerobios mesófilos totales	Homogenización en masa	1 ml
Micobiota (mohos y levaduras)	Homogenización en masa	1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extensión en superficie	0,3 ml
Coliformes/<i>E.coli</i>	Extensión en superficie	0,3 ml

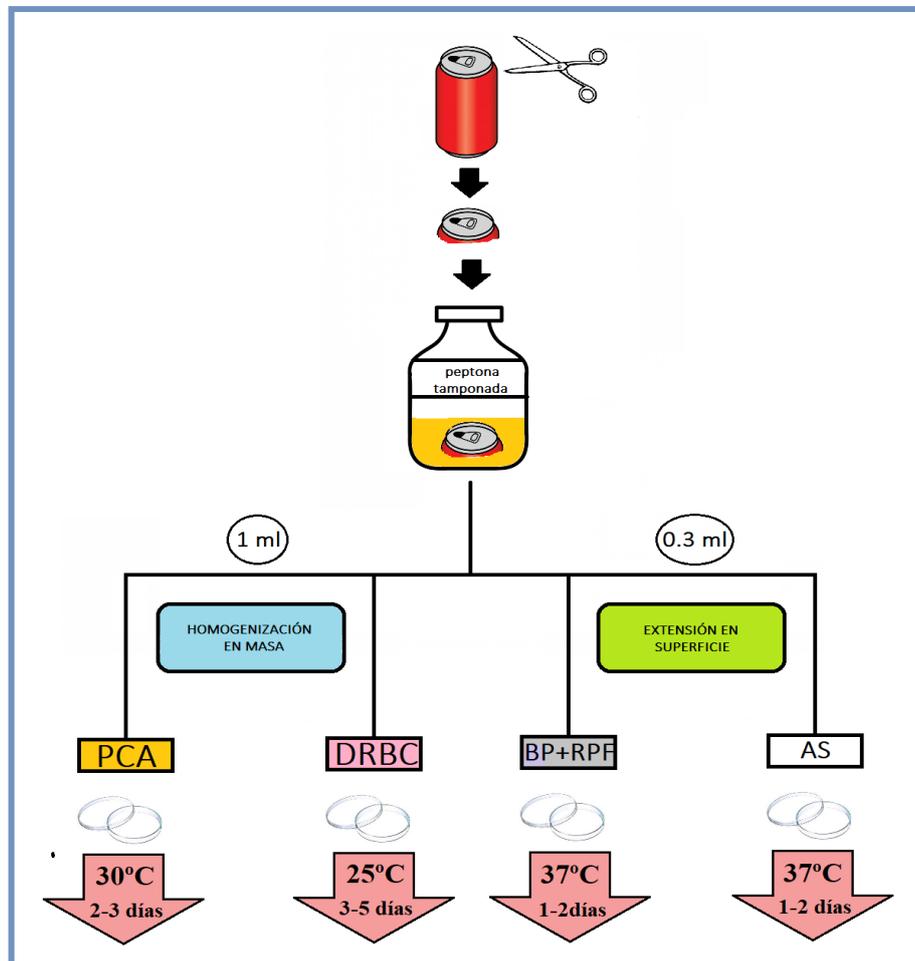
Aunque lo habitual es depositar 0,1 ml de inóculo en la técnica de extensión en superficie, se decidió inocular 0,3 ml con el objetivo de reducir el límite de detección.

Tras la siembra de las muestras, las placas se incubaron en estufas de incubación en las condiciones indicadas en la tabla 5.

Tabla 5: Condiciones de incubación para cada grupo microbiano (T^a/tiempo/Eh).

GRUPO MICROBIANO	MÉTODO DE SIEMBRA
Aerobios mesófilos totales	30 °C/48-72 horas / Aerobiosis / Invertida
Micobiota (mohos y levaduras)	25 °C/3-5 días / Aerobiosis / Invertida
<i>Staphylococcus aureus</i>	37 °C/24-48horas /Aerobiosis / Invertida
Coliformes/<i>E.coli</i>	37 °C/24-48horas /Aerobiosis / Invertida

Figura 13: Metodología de toma de muestra y análisis microbiológico de la superficie de las latas.



Los estudios que han sido tomados como referencia (Dantas et al, 2006; Monllor,2017) utilizan el hisopado como técnica de toma de muestra. Se ha decidido utilizar la suspensión de la unidad analítica en diluyente porque se considera más precisa y eficaz para la recuperación de microorganismo en superficies.

4.4. Obtención de los resultados

Una vez finalizado el tiempo de incubación se procedió al recuento de las colonias típicas de cada medio de cultivo. Los resultados se registraron en una ficha de análisis marcada con el código de cada muestra, en el ANEXO III puede verse un ejemplo de la ficha.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados del análisis microbiológico del contenido

El recuento de las placas incubadas indica que la carga microbiana del contenido de las latas de refresco y cerveza seleccionadas estaba por debajo del límite de detección (<1 microorganismo/ml). Por tanto, se puede concluir que el contenido de la lata no iba a interferir ni condicionar los resultados del análisis microbiológico del continente.

5.2. Recuentos del análisis microbiológico de las muestras

Los recuentos obtenidos tras el periodo de incubación han sido tabulados por tipo de bebida y establecimiento, para su análisis expresados en Unidades Formadoras de Colonias/unidad muestral (UFC/lata).

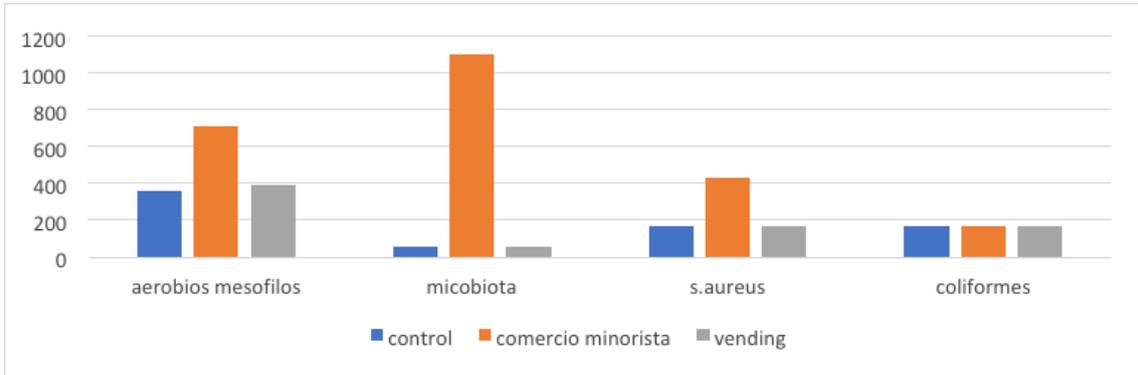
Los límites de detección establecidos para los grupos microbianos que se muestran en la tabla 6, han sido calculados teniendo en cuenta que se asume un recuento mínimo de 1 UFC por placa y que se han empleado 50 ml de diluyente por unidad muestral.

Tabla 6: Límites de detección (UFC/lata) de los distintos grupos microbianos investigados.

GRUPO MICROBIANO	LÍMITE DE DETECCIÓN (UFC/LATA)
Aerobios mesófilos totales	$5.0 \cdot 10^1$
Micobiota (mohos y levaduras)	$5.0 \cdot 10^1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,7 \cdot 10^2$
Coliformes/<i>E.coli</i>	$1,7 \cdot 10^2$

A continuación, se calculó la media de los recuentos obtenidos de cada muestra para cada tipo de bebida y establecimiento teniendo en cuenta el límite de detección de cada uno de los grupos microbianos. La tabla 7 recoge los promedios obtenidos de cada grupo microbiano por tipo de bebida y establecimiento y se muestran reflejados en las gráficas 4 y 5.

Gráfica 4: Recuentos obtenidos en el análisis microbiológico superficial de latas de cerveza (UFC/lata).



Gráfica 5: Recuentos obtenidos en el análisis microbiológico superficial de latas de refresco (UFC/lata).

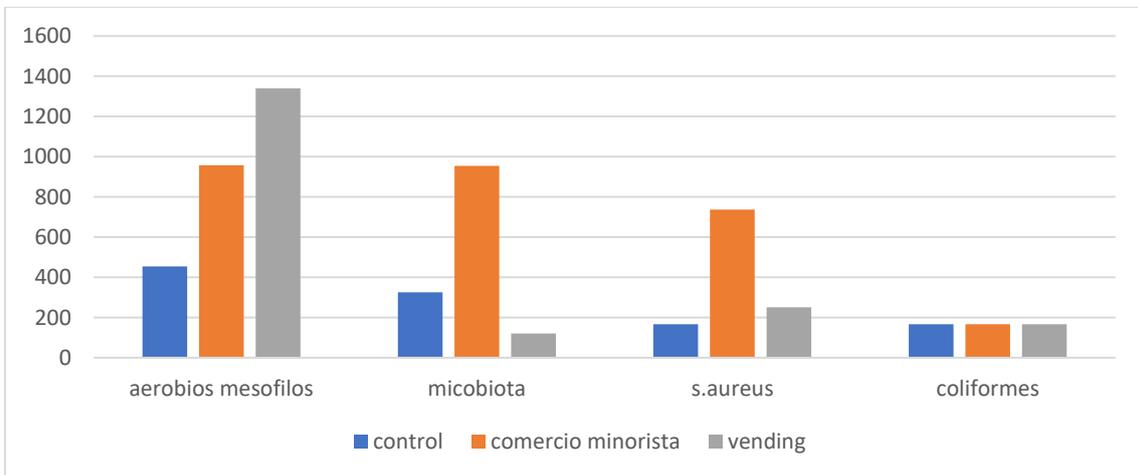


Tabla 7: Promedios de los recuentos microbianos obtenidos (UFC/lata) en el análisis microbiológico de los lotes de latas de bebida

Tipo de bebida	Establecimiento	Aerobios mesófilos	Micobiota	<i>S.aureus</i>	Coliformes/ <i>E.coli</i>
Cerveza	Control	$3,6 \cdot 10^2$ $\pm 1,9 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^1$ $\pm 2,1 \cdot 10^0$	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0
	Comercio minorista	$7,1 \cdot 10^2$ $\pm 3,9 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^3$ $\pm 1,4 \cdot 10^3$	$4,3 \cdot 10^2$ $\pm 5,5 \cdot 10^2$	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0
	Vending	$3,9 \cdot 10^2$ $\pm 9,6 \cdot 10^0$	$5,0 \cdot 10^1$ ± 0	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0
Refresco de cola	Control	$4,5 \cdot 10^2$ $\pm 2,0 \cdot 10^2$	$3,3 \cdot 10^2$ $\pm 1,0 \cdot 10^2$	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0
	Comercio minorista	$9,6 \cdot 10^2$ $\pm 8,2 \cdot 10^2$	$9,5 \cdot 10^2$ $\pm 7,9 \cdot 10^2$	$7,3 \cdot 10^2$ $\pm 3,6 \cdot 10^2$	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0
	Vending	$1,3 \cdot 10^3$ $\pm 1,1 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^2$ $\pm 1,1 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^2$ $\pm 8,3 \cdot 10^0$	$<1,7 \cdot 10^2$ ± 0

5.3.1. Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos totales

En 16 de las 18 latas de cerveza (89%) y en 15 de las 20 (75%) latas de refresco de cola obtenidas en comercio minorista se obtuvo un recuento de aerobios mesófilos totales por encima del límite de detección. El 88,8% de las latas de cerveza se encontraba por debajo de $1 \cdot 10^3$ UFC/lata. En el caso de las latas de cola el 75% se encontraban por debajo de dicha carga microbiana (Tabla 8).

Estos resultados son comparables con otras investigaciones similares. En el estudio de Dantas et al. (2006) se muestra que el 87,5% de las latas analizadas presentan menos de $1 \cdot 10^3$ UFC/cm².

Por otra parte, 8 de las 10 latas (80%) de cola obtenidas de máquinas vending presentan unos recuentos por encima del límite de detección y el 10% presentan unos recuentos por encima de $1 \cdot 10^3$ UFC/lata. Todas las latas de cerveza procedentes de expendedoras (100%) tienen unos recuentos por encima del límite de detección, pero inferiores a $1 \cdot 10^3$ UFC/lata (Tabla 8).

En el caso de las latas de cerveza seleccionadas como control el 40% del total mostraron unos recuentos por encima del límite de detección. El 60% de las latas de cola del control presentaban valores por encima del límite de detección. Ninguna de las latas del control supera las $1 \cdot 10^3$ UFC/lata (Tabla 8).

Puede comprobarse en la tabla 7 como los promedios de aerobios mesófilos totales difieren para cada lote muestral y tipo de bebida. En las latas de cola los promedios de aerobios mesófilos son superiores para los tres tipos de establecimiento que en las latas de cerveza. El promedio del control, tanto en latas de cerveza como de refresco, es menor que en el resto de los establecimientos.

No existen unos estándares microbiológicos para las superficies externas de envases de bebida, pero algunas pautas o estándares recomendados para superficies limpias (mataderos) establecen una carga microbiana de 0-10 UCF/cm² como un nivel de contaminación óptimo. La Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) sugieren unos recuentos máximos de 50 UFC/cm² en utensilios de cocina, después de ser lavados (Moreno,1982).

Tabla 8: Intervalos de frecuencia de los recuentos de Aerobios Mesófilos Totales encontrados en las muestras analizadas

AEROBIOS MESÓFILOS				
TIPO DE BEBIDA	INTERVALO (UFC/LATA)	CONTROL	COMERCIO MINORISTA	VENDING
Cerveza	Menos de $5 \cdot 10^1$	6 (60%)	2 (11,1%)	0
	Entre $5 \cdot 10^1$ y $5 \cdot 10^2$	4 (40%)	6 (33,3%)	4 (100%)
	Entre $5 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	0	8 (44,4%)	0
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	2 (11,1%)	0
Refresco de cola	Menos de $5 \cdot 10^1$	4 (40%)	5 (25%)	3 (30%)
	Entre $5 \cdot 10^1$ y $5 \cdot 10^2$	4 (40%)	6 (30%)	5 (50%)
	Entre $5 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	2 (20%)	4 (20%)	1 (10%)
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	5 (25%)	1 (10%)

5.3.2. Recuentos de micobiota

Todos los recuentos de micobiota (mohos y levaduras) en las latas de cerveza que proceden de comercios minoristas presentaron unos valores por encima del límite de detección. Para las latas de refresco, sin embargo, 12 de las 20 muestras (60%) se encontraban por encima del límite de detección. El 78% de las latas de cerveza y el 95% de las latas de cola tuvieron unos recuentos por debajo de $1 \cdot 10^3$ UFC/lata. Los resultados expuestos por Dantas et al. (2006) presentan unos porcentajes de contaminación muy similares.

Las latas de cerveza analizadas procedentes de máquinas vending están por debajo del límite de detección establecido. El 60% de las latas de cola obtenidas de expendedoras está por encima del límite de detección y tan solo el 10% es superior a $1 \cdot 10^3$ UFC/lata.

En cuanto a los recuentos obtenidos de las latas control, únicamente 3 latas (30%) estaban por encima del límite de detección con una carga microbiana muy por debajo de $1 \cdot 10^3$ UFC/lata (Tabla 9).

Los promedios más altos para microbiota son los correspondientes a las latas analizadas de comercios minoristas (tabla 7), superando los $1 \cdot 10^3$ UFC/lata en las muestras de cerveza obtenidas en estos establecimientos.

Tabla 9. Intervalos de frecuencia de los recuentos de microbiota encontrados en las muestras analizadas.

MICROBIOTA				
TIPO DE BEBIDA	INTERVALO (UFC/lata)	CONTROL	COMERCIO MINORISTA	VENDING
Cerveza	Menos de $5 \cdot 10^1$	9 (90%)	0	4 (100%)
	Entre $5 \cdot 10^1$ y $5 \cdot 10^2$	1 (10%)	10 (55,5%)	0
	Entre $5 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	0	4 (22,2%)	0
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	4 (22,2%)	0
Refresco de cola	Menos de $5 \cdot 10^1$	7 (70%)	8 (40%)	4 (40%)
	Entre $5 \cdot 10^1$ y $5 \cdot 10^2$	3 (30%)	8 (40%)	5 (50%)
	Entre $5 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	0	3 (15%)	0
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	1 (5%)	1 (10%)

5.3.3. Recuentos de *S. aureus*

Los recuentos de *S. aureus* de las muestras de máquinas vending y control están por debajo del límite de detección. El 35% de las latas de cerveza y el 55% de las latas de cola obtenidas de comercios minoristas presentan unos recuentos superiores al límite de detección. El 45% del total de latas analizadas de comercios minoristas tenían unos recuentos superiores a $1 \cdot 10^3$ UFC/lata (Tabla 10).

Tabla 10: Intervalos de frecuencia de los recuentos de *S.aureus* encontrados en las muestras analizadas.

S.AUREUS				
TIPO DE BEBIDA	INTERVALOS (UFC/lata)	CONTROL	COMERCIO MINORISTA	VENDING
Cerveza	Menos de $1,7 \cdot 10^2$	10 (100%)	11 (61%)	4 (100%)
	Entre $1,7 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	0	2 (11%)	0
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	5 (27%)	0
Refresco de cola	Menos de $1,7 \cdot 10^2$	10 (100%)	9 (45%)	9 (90%)
	Entre $1,7 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$	0	7 (35%)	1 (10%)
	Más de $1 \cdot 10^3$	0	4 (20%)	0

5.3.4. Recuentos de Coliformes/ *E. coli*

Para todas las muestras del estudio, los recuentos de Coliformes han sido inferiores al límite de detección. Esto implica que no existía contaminación de origen fecal en las muestras analizadas. En el estudio realizado por Monllor et al. (2017); un 4,2 % de las superficies de las latas presentaban enterobacterias.

6. CONCLUSIONES

Tras el análisis de los resultados expuestos se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- 1^a La contaminación de latas de bebida durante su distribución comercial es una realidad. Los resultados arrojan que aquellos lotes de latas que han sido expuestas al ambiente y han sido manipuladas presentan mayores cargas microbianas que aquellos que están protegidos con film plástico. Los recuentos más elevados se han obtenido en las muestras de los comercios minoristas, lo que implica que el riesgo de contaminación es mayor en los establecimientos pequeños. No obstante, los promedios obtenidos presentan unos valores por debajo de las 3 u.log UFC/ lata.
- 2^a La ausencia de organismos coliformes o *E. coli* indican que no ha existido contaminación fecal en las latas
- 3^a Los resultados de los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras en las muestras analizadas pueden ser comparadas con una contaminación normal (ubicuitaria) de los alimentos y agua potable.

Todo lo expuesto implica que no existe evidencia de que el consumo directo de las bebidas a través de latas represente un riesgo real para la Salud Pública.

Sin embargo, sería recomendable que las superficies de las latas de bebida fueran lavadas y desinfectadas antes de su consumo o bien que se llevaran a cabo una serie de medidas preventivas de forma generalizada por parte de la industria de bebida en lata, como por ejemplo sistemas de protección de la superficie de la lata que va a entrar en contacto con los labios del consumidor.

6. CONCLUSIONS

Conclusions are:

1. Contamination of beverage cans is a reality. The samples which have been exposed to the environment and handled have a higher level of microorganisms than those that are protected with plastic film. The contamination risk is higher in small establishments. However, the recounts have showed low levels.
2. The absence of coliform organisms or *E. coli* indicates that there is not fecal contamination.
3. The results of the recounts of total mesophilic aerobic microorganisms and molds and yeasts are similar to normal contamination of food.

Therefore, there is no evidence that direct consumption of beverages through cans represents a real risk for Public Health.

It is true that protective measures could be placed on the lids of the cans to avoid their contamination. In addition, cleaning and disinfection before consumption should be recommended.

7. VALORACIÓN PERSONAL

Considero que la realización del Trabajo Fin de Grado me ha permitido:

- Afianzar los conocimientos impartidos durante la titulación y saber integrarlos en el trabajo a desarrollar.
- Desenvolverme con facilidad en el laboratorio.
- Planificar y desarrollar un método de análisis microbiológico.
- Buscar información a través de bases de datos como AlcorZe o ScienceDirect, páginas web, libros y revistar y saber discernir la información veraz y con rigor científico de aquella que no lo es.
- Mejorar la redacción y sintaxis de las palabras para que el escrito sea lo más acorde posible con lo que se quiere transmitir.
- Incrementar mis habilidades con herramientas ofimáticas de edición de textos, edición de imágenes, hojas de cálculos, etc.
- Tener autonomía y toma de decisiones propia para poder gestionar y llevar a cabo el Trabajo Fin de Grado con unas pautas y directrices muy concretas.

8. BIBLIOGRAFÍA

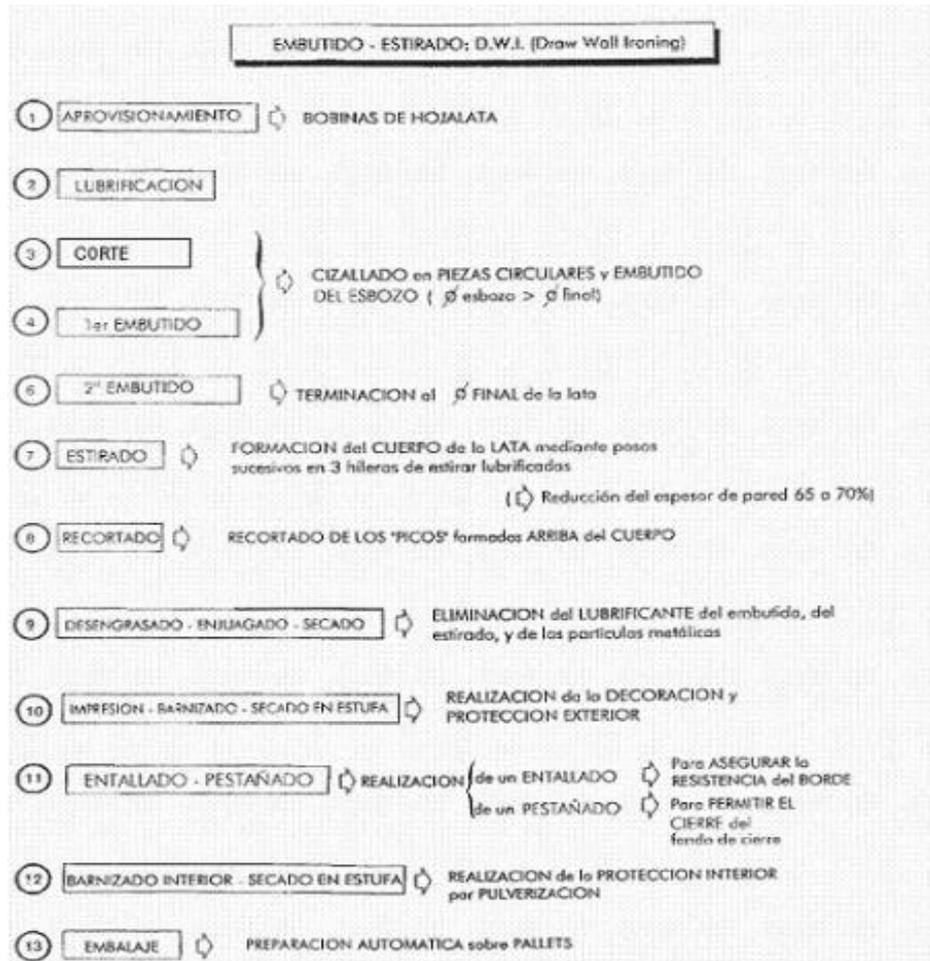
- Barrera, P. (2011). *Estudio de una línea de envasado y aplicación de la Metodología TPM para el aumento de su eficiencia, mediante la reducción de pequeñas paradas en un equipo agrupador de envases de latas*. Trabajo de Fin de Carrera. Escuela Superior de Ingenieros, Universidad de Sevilla.
- Castañeda, J.L., Ordoñez J. (2014). “La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas”. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, XXVII (107), pp 395. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2014/eip141a.pdf> [Consultado en 15-02-18].
- Centro Tecnológico Agroalimentario e Instituto Tecnológico del Plástico (AINIA y AIMPLAS) (2016). *La correcta especificación de los envases*. Madrid: ECOEMBES. Disponible en: https://www.ecoembes.com/sites/default/files/archivos_publicaciones_empresas/la-correcta-especificacion-de-los-envases.pdf [Consultado 25-11-18].
- Dantas, S. T. et al. (2006). “External Microbiological Contamination of Beverage Packaging”. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9 (3), pp. 193-199.
- Day, L. and McNeil, I. (1998). *Biographical dictionary of the history of technology*. Londres: Routledge.
- Diaz, R. (2018). *83 años de historia enlatada*. Periodico El mundo. Disponible en: <https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/ciencia/2018/05/17/5afc46aae5fdead1678b45e3.html>. [Consultado en 06-09-18].
- ECOACERO (2017). ECOACERO. Asociación ecológica para el reciclado de la hojalata. Disponible en: <http://www.ecoacero.com/> [Consultado en: 11-02-18].
- ELIKA (Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria) (2016). Disponible en: <https://www.elika.eus/> [Consultado 1-09-18].

- El mercado ibérico consumió 7.534 millones de latas de bebidas, 130 por persona (2016). EFEAGRO. Disponible en: <https://www.efeagro.com/noticia/55568/> [Consultado en 09-07-18].
- Hoffman, R. (2015). “Beer packaging: microbiological hazards and considerations”. En: A. Hill. *Brewing Microbiology*. Alemania: VLB Berlin, pp. 320-332.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Agencia Española de Cooperación Internacional (IICA-AECI) (1999). *Guía para la Aplicación de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (ARPC) en el sector cervecero*. Madrid: IICA-AECI. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/B0406e/B0406e.pdf> [Consultado 25-11-18].
- Lago, J.A. (Director) (2016). Boletín de Investigación de Constanza Business & Protocol School: *El gasto en refrescos*. Madrid: Boletín Constanza & Bussines.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2017). *Informe de consumo alimentario en España*. Madrid: MAPAMA. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/informe_del_consumo_de_alimentos_en_espana_2017_webvf_tcm30-386079.pdf [Consultado 13-07-2018].
- Monllor et al. (2017). “Contaminación microbológica de la superficie de latas de bebida”. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 17 (4), pp. 1547-1552.
- Moreno, L. S. (1982). *Higiene de la alimentación*. Barcelona: Editora Aedos, 1982. pp.143-203. Disponible en: [http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc5a30e74919b26_Hig.Sanid.Ambient.17.\(4\).1547-1552.\(2017\).pdf](http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc5a30e74919b26_Hig.Sanid.Ambient.17.(4).1547-1552.(2017).pdf) [Consultado 16-12-17].
- Perluga, G. (2015). Las latas de bebidas dicen adiós al acero. *Cinco Dias: economía y mercados*, 5 de enero. Disponible en: https://cincodias.elpais.com/cincodias/2014/12/30/empresas/1419966948_648809.html [Consultado 18-10-18].

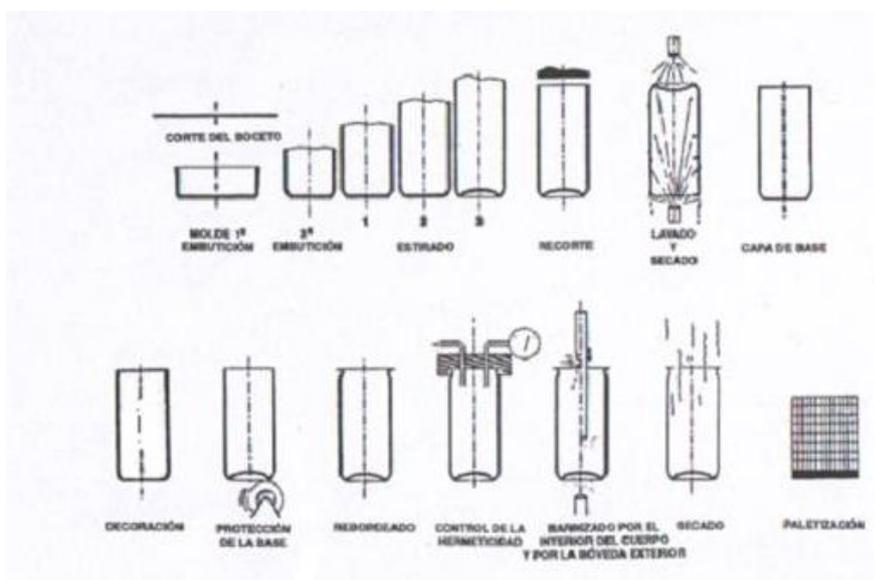
- Salfinger, Y., Tortorello, M.L. (2015). *Compendium of Methods: for the microbiological examination of foods*. U.S: Editorial: American Public Health Association, pp. 456-478.
- Trinks, F. (Ed.) (2014). *Microorganismos indicadores*. Ciudad Autonoma de Buenos Aires: RENALOA. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/renaloa/principal.asp> [Consultado 5-11-18].
- Valderas, A. (2012). El mundo de la lata. Disponible en: <http://www.mundolatas.com/> [Consultado 8-06-18].

9. ANEXOS

ANEXO I. Etapas del proceso DWI para la fabricación de latas de bebida y secuencia de fabricación de un envase para bebidas por la técnica de embutido-estirado-planchado.



Fuente: Valderas, 2012.



Fuente: Valderas, 2012.

ANEXO II. Hoja de registro de muestras

HOJA DE REGISTRO DE MUESTRAS						
COMERCIOS MINORISTAS	CERVEZA	nºmuestra	Dirección	Fecha	Nev/Amb	Observaciones
		CMA1				
		CMA2				
		CMA3				
		CMA4				
		CMA5				
		CMA6				
		CMA7				
		CMA8				
	CMA9					
	COLA	nºmuestra	Dirección	Fecha	Nev/Amb	Observaciones
		CMC1				
		CMC2				
		CMC3				
		CMC4				
		CMC5				
		CMC6				
		CMC7				
		CMC8				
CMC9						
CMC10						
VENDING	CERVEZA	nºmuestra	Dirección	Fecha	Nev/Amb	Observaciones
		VA1				
		VA2				
		VA3				
	COLA		Dirección	Fecha	Nev/Amb	Observaciones
		VC1				
		VC2				
		VC3				
		VC4				
		VC5				
		VC6				
		VC7				
		VC8				
		VC9				
VC10						

ANEXO III. Ficha de resultados de muestra.

FICHA DE RESULTADOS	Establecimiento:					
	Tipo bebida: cola / cerveza			Fecha de toma:		
RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS						
CÓDIGO	PCA		DRBC		BP+RPF	AS
	0	-1	0	-1		