ARTICULOS SOBRE TECNICAS/ PAPERS ON TECHNIQUES

TECNICA BIMO. EFECTO F DE ESTERILIZACION BASADO EN EL MICROORGANISMO IMAGINARIO SEGUN EL METODO DE LA CONCEPCION B.

Luis F.de la Cruz[1], Justo Pérez[2].

[1]*Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana; Ave.Universidad e/G y Ronda, Plaza de la Revolución; Ciudad de La Habana. C.P. 10400, Cuba* [2]*Facultad de Biología, Departamento de Microbiología, Universidad de La Habana, Cuba.*

Recibido en diciembre de 1993. Aprobado en octubre de 1994.

Key words: Sterilization, F-effect, B-conception, microorganism, disinfection, Arrhenius.

SUMMARY

Biotechnological industries, food and medico-biological ones in specific, urge for effective-enough sterilization processes. They rapidly put into use the F-effect physical method in production control. In this way, process control is simplified, compound thermolability is considered and product quality is increased.

The important Imaginary MicroOrganism (IMO) concept (Van Asten and Dorpema, 1982) is based on Z-values and Ball's general method. Nevertheless, Z-values are temperature dependent. This is the reason why inexact results are to be obtained in calculations and extrapolation is limited. Thereby, process improvement and/or intensification is also affected.

In the present work, specific temperature intervals of high risk and poor IMO-concept effectiveness on using Z-values are derived; a new B-Imaginary MicroOrganism (BIMO) concept according to thermosensivity B-coefficient based on Arrhenius equation is therefore developed (B= 9 500 K; $D_{121,1°C}$= 2,00 min.). Process control confidentiability, up to high temperature extrapolation and improvement possibility are achieved.

This BIMO technique guarantees simplicity in process control, whatever the scale is, without need of microbiological pre-sterilization count if required.

RESUMEN

Las industrias biotecnológicas, esencialmente las alimentarias y las médico-biológicas, exigen procesos de esterilización suficientemente eficaces. Las mismas asimilan aceleradamente el método físico del efecto F para el control de las producciones. De esta forma se simplifica el control, se considera la termolabilidad de componentes y se facilita la elevación de la calidad.

El importante concepto del MicroOrganismo Imaginario (IMO) (Van Asten y Dorpema, 1982) se sustenta en valores Z y el método general de Ball. No obstante, los valores Z son dependientes de la temperatura, por lo que se introducen inexactitudes en los cálculos, y se limitan la extrapolación, el perfeccionamiento y/o intensificación de los procesos.

El presente trabajo define los intervalos específicos de temperatura con alto riesgo, la poca eficacia del IMO al usar los valores Z y desarrolla el concepto del MicroOrganismo Imaginario BIMO según el coeficiente B de termosensibilidad basado en la ecuación de Arrhenius (B= 9 500 K; $D_{121,1°C}$= 2,00 min). Se mejora la confiabilidad del control, la extrapolación hasta altas temperaturas y la posibilidad del perfeccionamiento de procesos. De esta forma se presenta una técnica perfeccionada (BIMO) que garantiza sencillez y seguridad en el control a cualquier escala, sin necesidad de predeterminaciones microbiológicas iniciales en los casos que así lo requieran.

INTRODUCCION

Los procesos de esterilización térmica se aplicaron inicialmente a sistemas biológicos alimentarios. Los sistemas biológicos se han dividido últimamente en muy ácidos (pH< = 4,2) y poco ácidos (4,2< pH< = 7). Se destaca el campo de los sistemas húmedos poco ácidos (SHPA) en la esterilización biológica.

Para su cálculo o control se desarrollaron desde las primeras décadas de este siglo los métodos generales de Ball. La industria alimentaria evalúa los microorganismos mediante el valor Z de termorresistencia, asumió al *Bac. Stearothermophilus* como el más adecuado entre los termorresistentes y se desarrolló la teoría del efecto F (Deindoerfer, 1957; Stumbo, 1973; Tánchev, 1981).

La industria médico-farmacéutica ha adoptado igual microorganismo, añadiendo un extenso sobretratamiento en sus procesos e incorporó la teoría del F_0 para resolver el problema del control de la esterilización, perfeccionarlo y garantizar adecuado nivel de seguridad en los SHPA no alimentarios. Su

Copyright © 1994, Sociedad Iberolatinoamericana de Biotecnología Aplicada a la Salud La Habana, Cuba

asimilación acelerada ha sido inducida poderosamente por la obligada necesidad de disminuir la destrucción térmica de preparados parenterales termolábiles, así como disminuir los productos de su degradación, que en múltiples casos provocan reacciones adversas al organismo humano.

La esterilización farmacéutica es definida desde 1980 como el tratamiento de un material contaminado, de tal modo que: de un millón de artículos sólo quede contaminado un artículo después de la esterilización (Van Asten y Dorpema, 1982). Esto coincide con las definiciones desarrolladas desde hace tiempo para la industria alimentaria (Stumbo, 1973; Tánchev, 1981).

Independientemente, la práctica ha confirmado como válidos los tratamientos: 20 min a t= 120°C y 3 min a t= 134°C, los que originalmente en parte basados en el *Bac. Stearothermophilus*, no corresponden a ningún microorganismo real. Los tratamientos prácticos mencionados determinan un valor Z y se establece la teoría del microorganismo imaginario para la esterilización (IMO). El concepto del IMO (Van Asten y Dorpema, 1982) aplica los métodos de Ball del efecto F en los SHPA aceptando un microorganismo inexistente (D_{120}= 3,33 min; Z= 17 K) como referencia.

La teoría del efecto F exige conocer la carga inicial N_0 de microorganismos presentes. Los tratamientos prácticos ampliamente aceptados no requieren de dicha determinación previa y posibilitan determinado nivel de seguridad y el paso del monitoreo microbiológico al control termofísico de los procesos. Por ello, el concepto IMO en principio, resultaría versátil, práctico y perspectivo.

No obstante, los valores Z constituyen un riesgo importante para el cálculo del efecto F, por cuanto son dependientes de la temperatura (Aiba *et al.*,1973, Thijssen *et al*, 1976; Lenz y Lund, 1977; Wang *et al*, 1979; Matvéjev, 1981; Tánchev, 1981) y no garantizan seguridad en la extrapolación, ni en el perfeccionamiento de procesos SHPA biotecnológicos.

Para el perfeccionamiento del cálculo del efecto F de esterilizazción se propuso el método de la Concepción B (De la Cruz *et al*, 1987a; De la Cruz, 1994). Al introducir la teoría del microorganismo imaginario BIMO basada en la concepción B para la esterilización se eliminan las dificultades manifestadas.

La variabilidad de Z puede determinar un déficit letal, equivalente a una gran parte del sobrediseño de hasta 50-100% adicional eventualmente empleado. Por ello, la teoría del concepto BIMO incluye además, la posibilidad de disminuir el sobrediseño, de lo cual puede resultar una mejora adicional de la calidad, determinado ahorro energético y un aumento de la productividad del trabajo.

El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar y generalizar a todos los SHPA el concepto IMO sobre la base del método de la Concepción B. La nueva técnica BIMO resultante aumenta la estabilidad, la confiabilidad y seguridad tecnológicas y simplifica su aplicación, manteniendo todas las ventajas restantes.

MATERIALES Y METODOS

Fundamentos del método

La teoría de la Concepción B (De la Cruz *et al*, 1987a; De la Cruz, 1994) se basa en la ecuación de Arrhenius.

$k = A.\exp[-E_a/(RT)]$, (1)

donde: k-constante de velocidad de inactivación, min^{-1};A-factor de frecuencia, min^{-1}; E_a-energía de activación, J/mole; R-constante universal de los gases, J/(mole.K) y T-temperatura absoluta, K.

Es conocido que: $\tau = n.D$; $D = 2,303/k$ (2)

donde n-grado de esterilización (número de órdenes logaritmicos disminuidos en la cantidad de microorganismos viables); D= D_T-tiempo para la disminución de la población viable del microorganismo de referencia en un ciclo logarítmico, min; τ- tiempo de muerte térmica, min; (Stumbo, 1973; Tánchev, 1981). Sustituyendo(1) en (2), transformando y agrupando

$\log \tau = \log A_0 + BT^{-1}$, (3)

donde A_0-constante característica, min; B-coeficiente de termosensibilidad, K. Para cualesquiera temperaturas $T_b > T_a$

$\tau_b = \tau_a \operatorname{alog}[B(T_b^{-1}-T_a^{-1})]$, (4)

donde el operador: $\operatorname{alog}[f(x)] = 10^{f(x)}$. (5)

De(4): $B = \log(\tau_b/\tau_a)/(T_b^{-1}-T_a^{-1})$. (6)

Además, para T_r,T -constante, entonces $F_0 = \tau_r$ y $F = \tau$

$F_0 = \tau \operatorname{alog}[B(T_r^{-1}-T^{-1})] = F.K_B$ (7)

$F = F_0 K_B^{-1}$, (8)

donde $K_B = \operatorname{alog}[B(T_r^{-1}-T^{-1})]$-nuevo coeficiente de velocidad letal, T_r-temperatura absoluta de referencia (patrón), K; τ_r-tiempo de muerte térmica a la temperatura T_r de referencia, min. Al determinar los parámetros de BIMO se emplean los siguientes datos aceptados para el microorganismo imaginario: A-coeficiente de termorresistencia, Z= 17 K; B- grado de inactivación, n= 6 (SHPA no alimentario); C- tiempo requerido τ_a= 20 min a temperatura t= 120°C; D-tiempo requerido τ_b= 3 min a temperatura t= 134°C; E-coeficiente $K_F = \operatorname{alog}[(t-t_r)/Z]$ de velocidad letal (teoría Q_{10}) (9) y otros (Aiba *et al*, 1973; Tánchev, 1981; Van Asten y Dorpema, 1982).

Los intervalos o rangos de riesgo cuando se trabaja con el IMO, se determinan por las temperaturas isovalentes según el método de diferencias relativas δK_B y por la temperatura crítica para δK_{Bmin} (De la Cruz *et al*, 1987b) de la siguiente manera. Sean las raíces

$$t_1 = \frac{ZB}{273.15 + t_r} - 273.15; t_2 = t_r \quad (10)$$

donde t_r-temperatura de referencia, °C; t_1,t_2- temperaturas isovalentes, °C; y $t_{Cr.} = \sqrt{ZB} - 273.15$ (11) donde $t_{Cr.}$-temperatura crítica a la cual δK_B es mínima, °C. El rango de sobreesterilización será [t_1, t_2] si t_{Cr} se encuentra dentro del mismo. Los intervalos abiertos externos constituirán rangos de subesterilización o riesgo. Esto lo demostraremos de la siguiente forma.

Desarrollo del método

Propiedad del punto mínimo

Sea t_{Cr} la temperatura crítica de la función diferencia relativa

$\delta K_B = (K_F - K_B).100/K_B$,(12)

para la cual existe el punto mínimo δK_B min. Si existen las temperaturas isovalentes $t_1 \neq t_2$, entonces la temperatura crítica pertenece al intervalo $[t_1, t_2]$.

Demostración

Sea de (11): $T_{Cr} = +(ZB)^{1/2} > 0$, (13)

única y positiva por no existir temperatura termodinámica absoluta negativa. Además, sea de(10): $T_1 = ZB/T_r$; $T_2 = T_r$ (14) sustituyendo (14) en (13), (15) y ordenando

$T_{Cr} = (T_1.T_2)^{1/2}$, (15)

donde la temperatura crítica es media geométrica de las temperaturas isovalentes, por lo que es única y se encuentra en el intervalo $[t_1, t_2]$. Este es por tanto un intervalo de sobreesterilización.

Propiedad del mínimo funcional único (δK_{bmin})

Si existe la función δK_B (ec.(12)), ésta es unimodal y posee su único mínimo a la temperatura crítica, el cuál es su punto mínimo.

Demostración

Derivando la función K_B sucesivamente respecto a la temperatura t, la segunda derivada es

$d^2(\delta K_B)/dt^2 = 100K_0[(Z^{-1} - BT^{-2})^2 + 2BT^{-3}]$ (16)

Ya que T_{Cr} es única y positiva, de (13), (15) y (16)

$d^2(\delta K_{Bmin})/dt^2 = 200\ K_0\ (BT_{Cr}^{-3}) > 0$ (17),

donde $K_0 = K_F.K_B^{-1}$ y $B > 0$ por definición. Por tanto existe mínimo único en el punto mínimo a t_{Cr} en el intervalo $[t_1, t_2]$.

Propiedad de la existencia de los rangos de riesgo

Si existe la función δK_B, t y las temperaturas isovalentes son $t_1 \neq t_2$ y $t_1 < t_2$, existen dos intervalos de subesterilización $t < t_1$ y $t > t_2$, ó rangos de riesgo.

Demostración

Puesto que existen $t_1 \neq t_2$, el conjunto innumerable de las temperaturas absolutas $T = \{T : T \in \mathbb{R}; T > 0\}$ se divide en tres intervalos. Por la propiedad del mínimo funcional único la función presenta un sólo mínimo δK_{Bmin} en el intervalo $[t_1, t_2]$. De (12)

$\delta K_B = (K_F/K_B - 1).100$ (18)

puesto que: $\lg(K_F/K_B) = (T - T_r)[Z^{-1} - B(TT_r)^{-1}]$, (19)

$\lg(K_F/K_B) = (T - T_r)[(1 - T_1/T)/Z]$, (20)

sustituyendo (13), (15) y (19), desarrollando y simplificando

$\lg(K_F/K_B) = -(T_r - T_{Cr})^2/(T_r Z) < 0$ (21)

por lo que $K_F/K_B < 1$ y $\delta K_{Bmin} < 0$ (22)

Además, si $T < T_1 < T_{Cr} < T_r = T_2$, entonces $T - T_r < 0$; $(1 - T_1/T) < 0$ y $\lg(K_F/K_B) > 0$, por lo que $\delta K_B > 0$ (23)

Si $T > T_2 = T_r > T_{Cr} > T_1$, entonces $T - T_r > 0$; $(1 - T_1/T) > 0$ y $\lg(K_F/K_B) > 0$, por lo que $\delta K_B > 0$. (24)

En consecuencia, existen dos intervalos $t < t_1$ y $t > t_2$ de subesterilización. En ellos, los coeficientes K_F resultan mayores que los coeficientes K_B más exactos (De la Cruz *et al*, 1987b). Estos dos intervalos se definen como rangos de riesgo.

Criterio de hiperriesgo

Una de las temperaturas isovalentes es función directa de Z y B (ec.(10)). Si Z es grande provoca la ocurrencia de la temperatura $t_1 \geq t_r$. Este fenómeno lo denominamos Hiperrangos de riesgo. Las temperaturas isovalentes no son inferiores a t_r: $T_1 \geq T_2 = T_r$; $T_1/T_2 \geq 1$. En correspondencia con (14) introducimos una variable real H de holgura, la cual denominamos Criterio H de Hiperrango. Existe Hiperrangos cuando

$H = [(ZB/T_r^2) - 1] \geq 0$. (25)

Sea T_M-temperatura de retención o la máxima del proceso de esterilización. La ocurrencia de subesterilización para todas las temperaturas del proceso hasta T_M la definimos como Hiperriesgo. En tal caso se cumple: $T_1/T_M \geq 1$ y $T_2/T_M \geq 1$. Si se consideran las variables H_1 y H_2 de holgura y se relacionan,

$H_1/H_2 = (T_1 - T_M)/(T_2 - T_M) \geq 1$, $\forall H \geq 0$ y $T_2 > T_M$ (26)

Definamos un Indice $R = H/|H| = \{1, -1\}$ de Hiperrangos y un Criterio H_R de Hiperriesgo. Existe Hiperriesgo, siempre que se cumpla

$H_R = \{[1 + H/(1 - T_M.T_r^{-1})]^R - 1\} \geq 0$ (27)

Evidentemente, $\forall H = 0$, $T_1 = T_2$; $R = \pm 1$, por lo cual existe Hiperriesgo, ya que $H_R = 0$. (28)

RESULTADOS Y DISCUSION

1.Resultados obtenidos

En la tabla 1 se dan los datos del BIMO obtenidos mediante el método de la Concepción B y los datos de τ aceptados para el microorganismo imaginario según Van Asten *et al.* Los valores de D se obtienen de la siguiente ecuación (Stumbo, 1973; Tánchev, 1981; Flaumenbaum, 1981), que corregida para la práctica de diseño de procesos produce:

$\tau = f.n.D = F_T^B = f.D.(\lg N_0 + 6)$, (29)

donde f > 1-factor de seguridad o sobrediseño; F_T^B -efecto letal necesario (calculado), min. La temperatura de referencia se toma para los cálculos igual a $t_r = 121{,}1$°C de acuerdo con la práctica internacionalmente generalizada.

Tabla 1

Valores paramétricos obtenidos de acuerdo con los postulados del BIMO, según la teoría de la Concepción B para SHPA húmedos. (t_r= 121 1°C).

	BIMO: f= 1,43				BIMO: f= 1,3	
t,°C	120	121,1	120	121,1	121,1	121,1
n	5	5	6	6	6	5
τ, min	20	17,2	20	17,2	15,6	13,0
D,min	2,8	2,4	2,33	2,0	2,0	2,0
B,K	9 500					
H	0,04					
R	1,00					
t_2,°C	121,1					
t_1,°C	136,5					
H_R	∞					
$t_{cr.}$,°C	128,7					

Tabla 2
Valores de K_B para el BIMO en dependencia de los valores t,°C de temperatura. B= 9 500 K, t_r = 121,1°C.

t,°C	K_B	t,°C	K_B	t,°C	K_B	t,°C	K_B
70	0.0003	90	0.0086	110	0.2004	130	3.4038
70.5	0.0003	90.5	0.0094	110.5	0.2159	130.5	3.6404
71	0.0003	91	0.0102	111	0.2325	131	3.8928
71.5	0.0003	91.5	0.0111	111.5	0.2504	131.5	4.1621
72	0.0004	92	0.0120	112	0.2696	132	4.4492
72.5	0.0004	92.5	0.0130	112.5	0.2902	132.5	4.7554
73	0.0004	93	0.0141	113	0.3123	133	5.0818
73.5	0.0005	93.5	0.0153	113.5	0.3360	133.5	5.4297
74	0.0005	94	0.0166	114	0.3615	134	5.8005
74.5	0.0006	94.5	0.0181	114.5	0.3888	134.5	6.1956
75	0.0006	95	0.0196	115	0.4181	135	6.6166
75.5	0.0007	95.5	0.0212	115.5	0.4496	135.5	7.0650
76	0.0008	96	0.0230	116	0.4833	136	7.5426
76.5	0.0008	96.5	0.0249	116.5	0.5194	136.5	8.0512
77	0.0009	97	0.0270	117	0.5582	137	8.5928
77.5	0.0010	97.5	0.0292	117.5	0.5997	137.5	9.1693
78	0.0011	98	0.0316	118	0.6442	138	9.7829
78.5	0.0012	98.5	0.0343	118.5	0.6919	138.5	10.4360
79	0.0013	99	0.0371	119	0.7430	139	11.1309
79.5	0.0014	99.5	0.0401	119.5	0.7976	139.5	11.8703
80	0.0016	100	0.0434	120	0.8562	140	12.6568
80.5	0.0017	100.5	0.0469	120.5	0.9189	140.5	13.4933
81	0.0019	101	0.0508	121	0.9860	141	14.3828
81.5	0.0020	101.5	0.0549	121.5	1.0578	141.5	15.3287
82	0.0022	102	0.0593	122	1.1347	142	16.3342
82.5	0.0024	102.5	0.0641	122.5	1.2169	142.5	17.4031
83	0.0026	103	0.0693	123	1.3049	143	18.5390
83.5	0.0029	103.5	0.0748	123.5	1.3989	143.5	19.7461
84	0.0031	104	0.0808	124	1.4995	144	21.0287
84.5	0.0034	104.5	0.0873	124.5	1.6071	144.5	22.3911
85	0.0037	105	0.0942	125	1.7220	145	23.8383
85.5	0.0041	105.5	0.1017	125.5	1.8448	145.5	25.3751
86	0.0044	106	0.1097	126	1.9761	146	27.0071
86.5	0.0048	106.5	0.1184	126.5	2.1164	146.5	28.7397
87	0.0052	107	0.1277	127	2.2662	147	30.5790
87.5	0.0057	107.5	0.1377	127.5	2.4262	147.5	32.5311
88	0.0062	108	0.1485	128	2.5970	148	34.6029
88.5	0.0067	108.5	0.1601	128.5	2.7794	148.5	36.8011
89	0.0073	109	0.1726	129	2.9741	149	39.1333
89.5	0.0079	109.5	0.1860	129.5	3.1820	149.5	41.6072

Tabla 3
Valores de tiempo de muerte térmica τ= F,min para el BIMO en dependencia de la temperatura t,°C (f = 1,43).

t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min.
70	61999	90	1907.5	110	84.412	130	5.0896
71	51596	91	1619.0	111	72.845	131	4.4552
72	42984	92	1375.3	112	62.912	132	3.9024
73	35848	93	1169.3	113	54.374	133	3.4204
74	29927	94	995.1	114	47.030	134	3.0000
75	25011	95	847.5	115	40.709	135	2.6329
76	20923	96	722.5	116	35.263	136	2.3122
77	17522	97	616.5	117	30.569	137	2.0318
78	14688	98	526.4	118	26.518	138	1.7866
79	12325	99	449.9	119	23.021	139	1.5719
80	10352	100	384.9	120	20.000	140	1.3839
81	8703.7	101	329.5	121	17.388	141	1.2191
82	7325.0	102	282.3	122	15.127	142	1.0746
83	6170.6	103	242.1	123	13.170	143	0.9478
84	5203.2	104	207.8	124	11.474	144	0.8365
85	4391.6	105	178.4	125	10.003	145	0.7387
86	3710.1	106	153.4	126	8.727	146	0.6527
87	3137.3	107	132.0	127	7.618	147	0.5771
88	2655.4	108	113.6	128	6.655	148	0.5105
89	2249.6	109	97.9	129	5.818	149	0.4518

El valor B se halla mediante la ec.(6) y los datos (9), y el Criterio H_R de Hiperriesgo según (27). Para f= 1,43 y t= 121,1°C se calcula el valor de τ por interpolación y los coeficientes D por la ec.(29) para cada uno de los dos valores de n. Para el BIMO y f= 1,3 se usa el valor D obtenido para n= 6 y t= 121,1°C, con el cual se recalculan los valores de τ para cada nivel de n. Las temperaturas isovalentes se obtienen por la ec.(10) y la temperatura crítica T_{Cr} según(11). Los rangos de riesgo para el IMO son las temperaturas inferiores a 121,1°C y las superiores a 136,5°C (fig.1). Se destaca la ocurrencia de Hiperrangos de riesgo ($H \geq 0$) e Hiperriesgo ($H_R = \infty$) para la t_M= 121,1°C común en las industrias biotecnológicas, lo cual implica un riesgo adicional: al trabajar con los valores Z de termorresistencia (IMO), todos los regímenes de esterilización que se efectúen hasta t= 121,1°C quedarán insuficientemente tratados aún cuando formalmente aparezcan como cumplidos los valores F requeridos (ec.(29)). Los SHPA alimentarios se esterilizan bajo un concepto de grado n= 5 para el microorganismo termorresistente. Los valores D (tabla 1) disminuyen, si se considera n= 6 y f= 1,43. En este último caso $D_{121,1}^{BIMO}$= 2,00 min= $D_{121,1}^{Stearotherm}$. Además, el valor $F_{121,1}^{9500}$ = $\tau_{121,1}$= 15,6 min para f= 1,3. Este valor cae en el intervalo de trabajo $11 \leq F_{121,1} \leq 16$min (Flaumenbaum, 1981) aceptado para SHPA alimentarios y coincide con el valor recomendado por la Pharmacopeia (USP XXII,1990) para los productos médico-farmacéuticos.

Para f= 1,43 el valor F_T^B= 17,2> min $F_{121,1}$= 16 min, lo que indica una coincidencia adecuada y que el papel determinante lo tendrá el valor del factor f que se adopte. El coeficiente B de termosensibilidad es menor que para el *Cl. Botulinum* (B= 14200 K) y también que para el *Bac. Stearothermophilus* (B= 13300 K) (De la Cruz, 1990)[1]. Este hecho representa que el BIMO es en principio más termorresistente que ellos.

En la tabla 2 se dan los valores K_B del BIMO (ec.(4)). Estos valores permiten el cálculo real del L_T^B-efecto de esterilización a partir de cualesquiera perfiles tiempo-temperatura según el método de la Concepción B basado en la ecuación de Arrhenius (De la Cruz, 1994)

$$L_0 = L_T^B = \int_0^t K_B \, d\tau \approx \Delta\tau \sum_{i=1}^{n} (K_B)_i \text{ , min} \quad (30)$$

donde $\Delta\tau$- tiempo constante, igual entre lectura y lectura de la temperatura, min; L_T^B - efecto letal real, min. La esterilización será completa si $L_T^B \geq F_T^B$ para

[1]-De la Cruz, (1990). Importancia práctica de los nuevos parámetros corregidos de trabajo para el *Cl.botulinum* tipo A y *B.stereothermophilus* según conceptos de la concepción B para la esterilización en: Conferencia Internacional de Arquitectura e Ingeniería de los alimentos. C. Habana, Cuba. Resultados no editados.

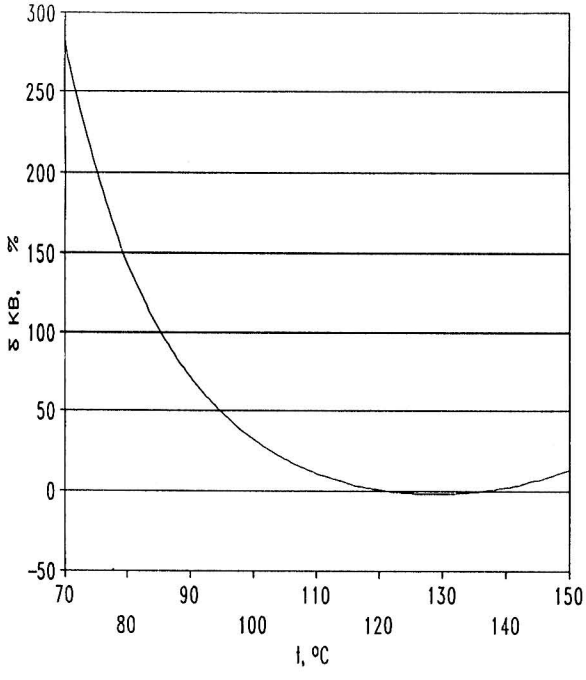

Fig.1. Dependencia de la diferencia relativa δK_B,% de la temperatura t°C e Hiperrangos de riesgo para el BIMO.

los mismos temperatura T_r de referencia y coeficiente B de termosensibilidad del microorganismo tomado como patrón. Por analogía con el IMO, en las tablas 3, 4, 5 y 6 se exponen respectivamente los valores F del BIMO y de velocidad letal L_i, min^{-1}

$L_i = \tau_i^{-1}$; (31)

donde: τ_i- tiempo de muerte térmica para cada temperatura constante t_i, min; para diferentes factores de seguridad en función de la temperatura. Las mismas permiten aplicar el método general de Ball como sigue.

$$L = \sum_{i=1}^{n} [L_i(\Delta\tau)_i] \quad (32)$$

donde L- letalidad. La esterilización será completa si $L \geq 1$. Este método es más inexacto que el anterior (ec(.30)) y se abandona.

Las tablas 3 y 4 permiten además calcular los valores de D_T del BIMO para cualquier otra temperatura que se adopte como referencia para el trabajo con el método de la Concepción B (ec.(30)). De la expresión(29) sigue que: $D_T = F_T/(6.f)$ (33).

Para la nueva temperatura T,K de referencia, deberán recalcularse los valores de K_B según la igualdad (7) para B= 9 500 K.

Tabla 4

Valores de tiempo de muerte térmica τ= F,min para el BIMO en dependencia de la temperatura t,°C (f= 1,3).

t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min	t,°C	F=τ,min.
70	56363	90	1734.1	110	76.738	130	4.6269
71	46906	91	1471.8	111	66.223	131	4.0501
72	39077	92	1250.3	112	57.192	132	3.5476
73	32589	93	1063.0	113	49.431	133	3.1095
74	27207	94	904.6	114	42.755	134	2.7272
75	22737	95	770.5	115	37.008	135	2.3935
76	19021	96	656.8	116	32.058	136	2.1020
77	15929	97	560.4	117	27.790	137	1.8471
78	13353	98	478.6	118	24.108	138	1.6241
79	11204	99	409.0	119	20.929	139	1.4290
80	9410.9	100	349.9	120	18.182	140	1.2581
81	7912.5	101	299.5	121	15.807	141	1.1083
82	6659.1	102	256.6	122	13.752	142	0.9769
83	5609.7	103	220.1	123	11.972	143	0.8617
84	4730.2	104	188.9	124	10.431	144	0.7605
85	3992.4	105	162.2	125	9.093	145	0.6715
86	3372.8	106	139.4	126	7.933	146	0.5934
87	2852.1	107	120.0	127	6.926	147	0.5246
88	2414.0	108	103.3	128	6.050	148	0.4641
89	2045.1	109	89.0	129	5.289	149	0.4108

Tabla 5
Valores de velocidad letal L_i,min^{-1} para el BIMO en dependencia de la temperatura t°C (f = 1,43).

t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}
70	1.6E-05	90	0.0005	110	0.0118	130	0.1965
71	1.9E-05	91	0.0006	111	0.0137	131	0.2245
72	2.3E-05	92	0.0007	112	0.0159	132	0.2563
73	2.8E-05	93	0.0009	113	0.0184	133	0.2924
74	3.3E-05	94	0.0010	114	0.0213	134	0.3333
75	4.0E-05	95	0.0012	115	0.0246	135	0.3798
76	4.8E-05	96	0.0014	116	0.0284	136	0.4325
77	5.7E-05	97	0.0016	117	0.0327	137	0.4922
78	6.8E-05	98	0.0019	118	0.0377	138	0.5597
79	8.1E-05	99	0.0022	119	0.0434	139	0.6362
80	9.7E-05	100	0.0026	120	0.0500	140	0.7226
81	0.0001	101	0.0030	121	0.0575	141	0.8203
82	0.0001	102	0.0035	122	0.0661	142	0.9306
83	0.0002	103	0.0041	123	0.0759	143	1.0550
84	0.0002	104	0.0048	124	0.0872	144	1.1955
85	0.0002	105	0.0056	125	0.1000	145	1.3538
86	0.0003	106	0.0065	126	0.1146	146	1.5321
87	0.0003	107	0.0076	127	0.1313	147	1.7329
88	0.0004	108	0.0088	128	0.1503	148	1.9589
89	0.0004	109	0.0102	129	0.1719	149	2.2131

2. Análisis práctico y aplicación

2.1 Problemas prácticos

Al aplicar cualquier régimen de esterilización debe tenerse en cuenta lo siguiente:

1.) No es posible lograr esterilidad absoluta o total.

2.) No es posible efectuar procesos de esterilización 100% seguros. La contaminación final es siempre un valor probabilístico, pero real.

3.) No es posible establecer al *Bac. Stearothermophilus* como patrón universal. Este microorganismo ha constituido un patrón de referencia suficientemente aceptable en la práctica actual para los SHPA.

4.) No se deben considerar los tratamientos 20 min a 120°C y 3 min a 134°C como absolutamente seguros. Ellos son tratamientos térmicos estadísticamente muy confiables.

5.) No se debe ignorar absolutamente la contaminación inicial de microorganismos.

6.) No se debe considerar seguro el concepto IMO. El mismo presenta el fenómeno de Hiperriesgo, por lo que resulta poco exacto, poco confiable y aumenta significativamente el peligro de esterilización insuficiente.

2.2 Convenciones prácticas asumidas

Al establecer, modificar, perfeccionar o diseñar regímenes de esterilización se admitirán las siguientes convenciones.

I- Método de trabajo

Se acepta el método de la Concepción B para la esterilización (De la Cruz *et al*, 1987a, 1994).

II- Microorganismo de referencia (patrón)

Se acepta el BIMO.

III- Contaminación final

Se acepta estadísticamente (Van Asten y Dorpema, 1982) un valor final N= 10^{-6} microorganismos por artículo, lo que equivale a una afectación residual o pérdidas esperadas S= 0,0001%.

IV- Contaminación inicial

Caso 1: No se realizan determinaciones previas.: Se acepta en base a la práctica una carga biológica termorresistente inicial N_0= 1 por artículo (Tánchev, 1981; Flaumenbaum, 1981; Van Asten y Dorpema, 1982).

Caso 2: Se realizan determinaciones previas.

2.1- No se clasifica ni identifica la microbiota. Se determinará el número N_0 inicial total de termorresistentes por artículo.

2.2- Se clasifica y/o identifica suficientemente. Se determinará el número inicial N_0 del microorganismo más termorresistente del proceso.

V- Factor f de sobrediseño

Se asume un factor f= 1,43. Se propone su disminución a f= 1,3: se verificará su efectividad concreta.

Tabla 6
Valores de velocidad letal L_i,min^{-1} para el BIMO en dependencia de la temperatura t°C (f = 1,3).

t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}	t,°C	L,min^{-1}
70	1.8E-05	90	0.0006	110	0.0130	130	0.2161
71	2.1E-05	91	0.0007	111	0.0151	131	0.2469
72	2.6E-05	92	0.0008	112	0.0175	132	0.2819
73	3.1E-05	93	0.0009	113	0.0202	133	0.3216
74	3.7E-05	94	0.0011	114	0.0234	134	0.3667
75	4.4E-05	95	0.0013	115	0.0270	135	0.4178
76	5.3E-05	96	0.0015	116	0.0312	136	0.4757
77	6.3E-05	97	0.0018	117	0.0360	137	0.5414
78	7.5E-05	98	0.0021	118	0.0415	138	0.6157
79	8.9E-05	99	0.0024	119	0.0478	139	0.6998
80	0.0001	100	0.0029	120	0.0550	140	0.7949
81	0.0001	101	0.0033	121	0.0633	141	0.9023
82	0.0002	102	0.0039	122	0.0727	142	1.0236
83	0.0002	103	0.0045	123	0.0835	143	1.1605
84	0.0002	104	0.0053	124	0.0959	144	1.3150
85	0.0003	105	0.0062	125	0.1100	145	1.4891
86	0.0003	106	0.0072	126	0.1261	146	1.6853
87	0.0004	107	0.0083	127	0.1444	147	1.9062
88	0.0004	108	0.0097	128	0.1653	148	2.1548
89	0.0005	109	0.0112	129	0.1891	149	2.4344

VI- Grado n de esterilización

Caso 1: No se realizan determinaciones previas. n= 6.

Caso 2: Se realizan determinaciones previas. n= $\log(N_0/N)$.

VII- Efecto F_T^B necesario de esterilización

Caso 1: No se realizan determinaciones previas

$F_0 = F_T^B$ = 17,2 min a t_r = 121,1°C u otros pares equivalentes (ec.(7)) según tablas 3 ó 4.

Caso 2: Se realizan determinaciones previas. $F_T^B = f.n.D_T$.

2.1- No se clasifica ni identifica la microbiota. Se toma de la tabla 1, D_T= 2,00 min a t_r= 121,1°C.

2.2- Se clasifica y/o identifica la microbiota. Se determina experimentalmente el D_T del microorganismo más termorresistente (teoría general del F_0).

VIII- Efecto L_T^B letal de esterilización

En la tabla 2 se dan los valores K_B del BIMO para t_r= 121,1°C, para el cálculo del efecto letal real L_0, el cual se determinará en el rango no inferior a 100°C. El valor B se tomará de la siguiente manera.

Caso 1: No se realizan determinaciones previas. B= 9 500 K (BIMO).

Caso 2: Se realizan determinaciones previas.

2.1- No se clasifica ni identifica la microbiota. B= 9 500 K (BIMO).

2.2- Se clasifica y/o identifica la microbiota. Se determina el valor B experimentalmente para el microorganismo más termorresistente (método de la Concepción B).

2.3 Consideraciones generales

1.) Todo proceso de esterilización que se diseñe deberá validarse experimentalmente antes de su introducción definitiva, para prevenir cualquier aumento de termorresistencia por influencia del medio.

2.) Los procesos de esterilización pueden perfeccionarse para valores iguales del efecto F, aumentando la temperatura y disminuyendo correspondientemente el tiempo de trata miento (tablas 3, 4), de tal forma que disminuya la destrucción térmica de los preparados o sustancias termolábiles presentes. Pueden encontrarse excepciones.

3.) Todo proceso que se diseñe debe tomar en cuenta las restricciones tecnológicas que impone el equipamiento utilizado.

4.) No es imprescindible la clasificación y/o identificación de la contaminación inicial. Se recomienda, siempre que sea posible, determinar el número N_0 inicial total de microorganismos termorresistentes presentes por artículo. Este valor se tomará analizando un número suficiente de muestras.

2.4 Aplicabilidad

La utilización del BIMO mantiene la posibilidad de pasar del monitoreo al control del proceso. Puede obviarse la clasificación y/o identificación de los micro oganismos iniciales contaminantes. Esta posibilidad permite su empleo por muchas entidades, sin necesidad de laboratorios sofisticados.

En aquellos lugares cuyo equipamiento, tiempo, recursos y calificación del personal se lo permite, podría justificarse la clasificación e identificación de la carga inicial contaminante, si esta es endémica. Se determinarán los parámetos D, B y N_0 del microorganismo más termorresistente. El valor total F_T^B necesario se deberá alcanzar al finalizar las etapas de calentamiento. Así, la fase de enfriamiento quedará como margen adicional de seguridad. Cuando el proceso productivo está bién controlado, la higiene está a buen nivel y la microbiota es suficientemente estable, no es necesario este margen y el valor total F_T^B puede ser alcanzado durante el enfriamiento.

Al introducirse el BIMO en la práctica puede estarse en uno de los siguientes casos.

Caso 1: No existe necesidad aparente de perfeccionar el proceso. Los valores B= 9 500 K y $D_{121,1}$ = 2,00 min se toman en concordancia con la tabla 1. No se determina N_0 y se acepta n = 6 y f = 1,43 (tabla 3). Se hacen pruebas para emplear f = 1,3 (tabla 4).

Caso 2: Se realiza conteo inicial de termorresistentes. El número N_0 inicial se emplea como guía. Se recalculan n y F_T^B.

Caso 3: Se puede llegar a conocer la microbiota inicial y sus parámetros característicos. Los cálculos se realizan con los parámetros D, B y N_0 reales del microorganismo más termorresistente presente. Este caso es muy específico y su estabilidad en el tiempo poco probable, por lo que habrá que comprobarlo minuciosamente.

CONCLUSIONES

El IMO presenta el fenómeno de los Hiperrangos de riesgo e Hiperriesgo, por lo que resulta insuficientemente exacto y poco confiable. El empleo del valor Z no permite una correcta extrapolación de los cálculos.

Al introducir el BIMO (B= 9 500 K, $D_{121,1}$= 2,00 min) se eliminan estos problemas, por lo que los resultados son más seguros y exactos y se mejora la extrapolabilidad.

Se introduce el trabajo con el método de la Concepción B para la determinación del efecto F de esterilización, por lo que se perfecciona el método de cálculo con respecto al IMO.

Se introducen los nuevos coeficientes K_B de velocidad letal para el BIMO y los Criterios de Hiperrangos de riesgo e Hiperriesgo.

Se considera trabajar con un factor f= 1,3 de sobrediseño inferior al 43% (f= 1,43) adicional actualmente empleado en la práctica.

Se prevén pasos a considerar en diferentes casos que se presentan en y/o durante la introducción del BIMO. Esta técnica BIMO permite perfeccionar diferentes procesos de esterilización y mejorar la seguridad de los mismos.

REFERENCIAS

AIBA S., A.E. HUMPREY y N.F. MILLIS (1973). *Biochemical engineering.* Academic Press, New York.

DEINDOERFER F.H. (1957). Calculations of heat sterilization times for fermentation media. *Appl. Microbiol.*5: No.4, 224-229.

DE LA CRUZ FIGUEROA L.F., S. TÁNCHEV, K.VÍDEV, S. AKTERIAN (1987a). B-kontseptsija za izchizliavane na F-efekta pri sterilizatsija chrez zavicimostta na Arrhenius. *Hranitelnopromishlena naúka* 3: $N_0$3, 59-66.

DE LA CRUZ FIGUEROA L.F., S. AKTERIAN, K.VÍDEV, S. TANCHEV (1987b). Izledvane na izchizlenite chrez Z-stóinosti y B-stóinosti otklonenija na F-efekta pri sterilizatsija. *Hranitelnopromishlena naúka* 3: N0.4, 68-78.

DE LA CRUZ FIGUEROA L.F. (1994). Cálculo del efecto F de esterilización según la nueva Concepción B aplicado a microbiota termorresistente. *Revista Biologia UH*.8: 2, en prensa.

FLAUMENBAUM B.L.(1981). *Teoreticheskije osnovi sterilizatsii konservov.* Izd. Kíev, Kíev.

LENZ M.K., D.B. LUND(1977). The lethality-fourier number method: experimental verification of a model for calculating temperature profiles and lethality in conduction heating canned foods. *J. of Food Science* 42: N0.4, 989-996.

MATVEJEV B.E.(1981). *Osnovi aseptiki v tehnologii chistih microbiologicheski preparatov.* Izd. Moskva, Moskva.

STUMBO C.R.(1973). *Thermobacteriology in food processing.* 2nd. Ed., Academic Press. N.Y. and London.

TÁNCHEV S.(1981). *Tehnologija na konserviraneto na plodove i zelenchutsi.* Izd. G.Dánov. Plóvdiv.

THIJSSEN H.A.C., J.A.A. KERKHOFF, A.A.A. LIEFKENS(1976). Short-cut method for the calculation of sterilization yielding optimum quality retention for conduction type heating of packaged foods. *J.of Food Science* 43: 1976-1986.

U.S.Pharmacopeia XXII, 1990. Washington, D.C.

VAN ASTEN J., J.W. DORPEMA(1982). A new approach to sterilization conditions.The IMO concept. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition* 4: 49-56.

WANG D.I.C., C.L. COONEY, A.L. DEMAIN, P. DUNNIL, A.C. HUMPHREY (1979). *Fermentation and enzyme technology.* John Wiley, N.Y.