

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**Validación Microbiológica de Procesos Térmicos de
Alimentos de Formas Complejas Envasados al Vacío en
Bolsas Esterilizables**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ciencias de los Alimentos.

Lorena Mabel Alarcón Meneses

VALDIVIA – CHILE
2008

PROFESOR PATROCINANTE

Elton Francisco Morales Blancas

Ingeniero en Industrias Alimentarias, M. Sc.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Universidad Austral de Chile

CO-PATROCINANTE

Paola Elena Recabarren Castro

Ingeniero en Alimentos.
Laboratorio del Ambiente
SEREMI de Salud Región de Los Ríos

PROFESOR INFORMANTE

Renate Paula Schöbitz Twele

Tecnólogo Médico, M. Sc.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Universidad Austral de Chile

"...Dedicado a los seres queridos que ya no están conmigo. Gracias Abuelitos y tío Alberto por ayudar a que se cumplan mis metas..."

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios y la Virgen, que siempre me escucharon y me ayudaron. A mis padres Aldina y Hernán por sacrificarse siempre por sus hijas, por darme en especial la posibilidad de estudiar para ser una profesional, por la paciencia, dedicación y amor desmedido que siempre me han entregado. A mi hermana, Marcela, por el amor y protección que siempre me entrega, por el apoyo y orientación en los momentos difíciles. Los amo.

A la persona que llena de felicidad mi vida desde que lo conocí, René, gracias por el apoyo, comprensión y por sobretodo por el inmenso e incondicional amor que siempre me has entregado, eres una parte muy importante de mi vida, te amo.

A mi profesor patrocinante, Elton Morales, que confió en mi para la realización de esta tesis y quien fue mi guía para el desarrollo del tema, gracias por el apoyo y conocimientos entregados.

Al Laboratorio del Ambiente SEREMI de Salud de la Región de los Ríos, en especial a la gestora Paola Recabarren, quien hizo posible el desarrollo de parte de esta investigación en el laboratorio, gracias por la confianza y disponibilidad. Además agradecer al personal del laboratorio en especial a Don Oscar, quien siempre tuvo la paciencia y disposición para ayudarme.

Al personal del ICYTAL y CTL en especial a Gastón, Alex y Marcelo, quienes contribuyeron con su trabajo a la realización de esta investigación.

Y por último a gracias a mis amigos y compañeros por acompañarme y ayudarme durante todas estas etapas.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	4
2.1	Microorganismo de referencia	4
2.1.1	Características de la especie	4
2.1.2	Forma de supervivencia	4
2.1.3	Importancia de la especie a nivel industrial	6
2.2	Bolsas esterilizables	7
2.2.1	Definición	7
2.2.2	Primeros antecedentes	7
2.2.3	Características de las bolsas flexibles esterilizables	8
2.2.4	Proceso de fabricación de productos en envases flexibles.	10
2.2.5	Composición del envase	11
2.2.6	Mercado de las bolsas esterilizables	13
2.3	Sistema de esterilización de alimentos	13
2.3.1	Clasificación de los autoclaves	14
3.3.1.1	Autoclaves discontinuos y continuos	15
3.3.1.2	Autoclaves estáticos y rotatorios	15
2.3.2	Esterilización de bolsas flexibles	16
2.4	Simulación	22

2.4.1	Ingeniería reversa	22
2.4.1.1	Diseño asistido por computador (CAD)	22
2.4.1.2	Ingeniería asistida por computador (CAE)	22
2.4.1.3	Características del procesamiento	23
2.4.1.4	Método de elementos finitos (FEM)	23
2.4.1.4.1	Antecedentes	24
2.4.1.4.2	Nodo	25
2.4.1.4.3	Elemento	26
2.5	Principios de procesamiento térmico	26
2.5.1	Tratamiento térmico de esterilización	27
2.5.1.1	Alteración de alimentos enlatados	27
2.5.1.2	Ciclo de esterilización	28
2.5.2	Cinética de destrucción térmica de microorganismos	28
2.5.2.1.	Factores que afectan la termoresistencia de los microorganismos	28
2.5.2.2	Parámetros cinéticos	33
2.5.2.2.1	Valor D	33
2.5.2.2.2	Valor z	36
2.5.2.2.3	Valor F	38
2.5.2.2.4	Número de reducciones decimales (S)	41
2.5.2.3	Cálculo de tratamientos térmicos	44
2.5.2.4	Evaluación del tratamiento térmico	44
2.6	Evaluación biológica de tratamientos térmicos	45
3	MATERIAL y METODO	47
3.1	Parte experimental laboratorio	48

3.1.1	Preparación de la solución madre	49
3.1.1.1	Determinación de la concentración de la solución madre	49
3.1.1.2	Determinación del pH de la suspensión	49
3.1.2	Confección de capilares	51
3.1.3	Determinación de la influencia de rayos X sobre la cantidad de esporas sobrevivientes.	57
3.1.4	Influencia del capilar en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico.	59
3.1.5	Cuantificación de la cantidad de esporas sobrevivientes después del tratamiento térmico.	60
3.2	Parte experimental planta	61
3.2.1	Inserción y envasado del alimento	61
3.2.1.1	Selección y preparación del alimento	61
3.2.1.2	Inserción de los capilares en el alimento	64
3.2.1.3	Inserción de las termocuplas.	65
3.2.2	Preparación del sistema de adquisición de datos	67
3.2.2.1	Calibración de las termocuplas.	67
3.2.2.2	Configuración del registrador de temperatura.	67
3.2.3	Preparación del sistema de esterilización	68
3.2.4	Tratamiento térmico en autoclave	69
3.2.5	Ubicación espacial de la termocupla y el capilar en el producto	71
3.3	Modelación matemática del proceso de transferencia de calor	72
3.3.1	Ecuación de gobierno	73

3.3.2	Condiciones iniciales	73
3.3.3	Condiciones de borde considerando un dominio 3D	73
3.4	Simulación del tratamiento térmico	75
3.4.1	Obtención del modelo digital 3D	76
3.4.1.1	Trazado de malla	76
3.4.1.2	Captura de puntos	77
3.4.1.3	Generación del modelo digital	78
3.4.2	Parámetros de simulación	80
3.4.2.1	Propiedades termofísicas	80
3.4.2.2	Determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U)	80
3.4.3	Simulación del proceso térmico en ALGOR	82
3.4.3.1	Generación de la malla	83
3.4.3.2	Tipo y definición del elemento	84
3.4.3.3	Especificación del material de los elementos	85
3.4.3.4	Tiempo y temperatura nodal	85
3.4.3.5	Curvas de carga de superficie	87
3.4.3.6	Análisis	90
3.4.4	Resultados	90
3.5	Validación y evaluación del tratamiento térmico	91
3.5.1	Ajuste de perfiles de temperatura simulados y experimentales	92
3.5.2	Comparación datos simulados y experimentales del capilar	93
3.5.3	Evaluación del tratamiento térmico	93
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE	95

	RESULTADOS	
4.1	Concentración de la solución madre y cantidad inicial del capilar	95
4.2	Evaluación de la influencia de los rayos X sobre la cantidad final de <i>Bacillus stearothermophilus</i>	96
4.3	Influencia del capilar en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico	98
4.4	Curvas experimentales de los tratamientos térmicos aplicados	103
4.5	Ubicación coordenadas físicas de la termocupla y capilar	103
4.6	Simulación de los tratamientos térmicos aplicados	111
4.6.1	Modelos digitales 3D	111
4.6.2	Modelos mallados FEA	111
4.6.3	Diagrama de contorno	115
4.7	Recuento de la población sobreviviente al tratamiento térmico	123
4.8	Validación de los datos obtenidos por simulación	125
4.8.1	Ubicación nodo de la termocupla y ajuste de perfiles de temperatura experimentales y simulados	125
4.8.2	Ubicación nodo y comparación de los datos experimentales y simulados del capilar	127
4.9	Evaluación microbiológica de la letalidad de los tratamientos térmicos aplicados	138

5	CONCLUSIONES	146
6	RESUMEN	148
	SUMMARY	149
7	BIBLIOGRAFIA	150
	ANEXOS	159

INDICE DE CUADROS

Cuadros		Página
1	Sensibilidad relativa de algunos microorganismos a la radiación	33
2	Valores D y z de algunas bacterias de importancia industrial.	38
3	Valores F_0 calculados para la destrucción de esporas termófilas (N_0 de 100)	41
4	Resistencia del <i>B. stearothermophilus</i> a calor seco y a calor húmedo	51
5	Especificaciones de los tubos capilares MARIENFELD	51
6	Pruebas de exposición a rayos X	59
7	Especificaciones bolsas esterilizables	63
8	Especificaciones de las termocuplas Kapton®	67
9	Número de muestras tratadas para cada temperatura	69
10	Composición proximal del jurel	80
11	Recuentos obtenidos después de la exposición a rayos X	97
12	Dosis absorbida de energía ionizante en cada muestra evaluada	98
13	Valores F_0 obtenidos para las muestras	99

	tratadas térmicamente	
14	Coordenadas (x, y, z) de la termocupla para las muestras evaluadas	109
15	Coordenadas (x, y, z) correspondientes al capilar ubicado en cada una de las muestras evaluadas	110
16	Estadísticas de los modelos digitales de las 6 muestras evaluadas	116
17	Cuantificación de esporas de <i>B. stearothermophilus</i> recuperadas después de los tratamientos térmicos aplicados	123
18	Nodos de la termocupla y del capilar ubicado en cada una de las muestras evaluadas	132
19	Valores de RMSE para las etapas de calentamiento, enfriamiento y proceso completo	133
20	Reducciones decimales experimentales ($S_{\text{experimental}}$) obtenidas a partir de los recuentos de las muestra evaluadas	137
21	Comparación S promedio experimental con S promedio estimado del capilar	138
22	Coordenadas (x, y, z) correspondientes al nodo mas frío en las muestras evaluadas	142
23	Valores F_0 y S estimados en el punto más frío para las 6 muestras evaluadas	143
24	Letalidad obtenida para cada una de las muestras tratadas	144
25	Comparación S nodo más frío, termocupla y puntos del capilar obtenidos por simulación	145

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Bolsas esterilizables	8
2	Curva de penetración de calor comparativa de bolsas esterilizables y botes metálicos (LAMPI, 1977)	9
3	Complejo multicapa de las bolsas esterilizables	12
4	Sistema de esterilización con vapor saturado	18
5	Esquema ilustrativo de un sistema de esterilización Hidrostático	19
6	Esquema de autoclave con vapor saturado y sistema de aire comprimido	21
7	Etapas del proceso de esterilización en autoclave	29
8	Efecto de la concentración de NaCl en esporas de <i>Bacillus stearothermophilus</i> recuperadas en medio AAMS suplementado con distintas concentraciones de NaCl	30
9	Típica curva de sobrevivientes	35
10	Típica curva de resistencia térmica	37
11	Procedimiento a seguir para la determinación de la concentración de la solución madre	50

12	Materiales elaboración de capilares (a) Suspensión de esporas de <i>Bacillus stearothermophilus</i> . (b) Tubos capilares MARIENFELD	52
13	Suspensión de esporas contenida en los capilares elaborados	52
14	Procedimiento a seguir para la determinación de la cantidad inicial de esporas	54
15	Colonias típicas de <i>B. stearothermophilus</i> sobre agar dextrosa peptona	55
16	Equipos laboratorio. (a) Campana de flujo laminar. (b) Incubadora VWR Scientific Products (c) Contador de colonias Bantex	56
17	Equipo de rayos X General Electric	58
18	Equipo revelador DAITO	58
19	Procedimiento a seguir para la cuantificación de la cantidad de esporas sobrevivientes	60
20	Jurel (<i>Trachurus symmetricus murphyi</i>)	62
21	Bolsa flexibles esterilizables utilizadas	62
22	Jurel cortado en forma de conos truncados	64
23	Dispositivo de bronce para la entrada de termocupla	65
24	Envasado al vacío. (a) Conos truncados en bolsas. esterilizables. (b) selladora a vacío. (c) Conos de jurel envasados al vacío	66
25	Sistema de medición y captura de datos. (a) Termocuplas tipo T (cobre-constantán) calibre 30 y 36. (b) Cables compensados tipo	68

	T. (c) Computador personal, software Scanlink V2.0 y registrador de temperatura de 12 canales DIGI-SENSE	
26	Sistema de esterilización. (a) Autoclave vertical. (b) Sistema de medición de presión y temperatura. (c) Compresor Hydrovane. (d) Bomba centrífuga Pedrollo	70
27	Superficies expuestas al medio de esterilización	75
28	Trazado de malla de 1 cm ²	76
29	Captura de puntos	77
30	Superficie superior e inferior obtenidas del modelo real por medio de digitalización	78
31	Modelado 3D en Rhinoceros 4.0	79
32	Modelo digital	79
33	Escenario de diseño	82
34	Generación de la malla	83
35	Modelo mallado	84
36	Definición de los elementos	85
37	Ingreso de propiedades termofísicas	86
38	Ingreso de parámetros de tiempo y temperatura nodal	87
39	Especificación de las curvas de carga de superficie de temperatura del medio	88
40	Especificación de las curvas de carga de superficie del coeficiente global de transferencia de calor (U)	88
41	Asignación de curvas de carga a superficies	89
42	Modelo en ALGOR con cargas de superficie	89

	añadidas	
43	Ventana de análisis	90
44	Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra I	100
45	Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra II	101
46	Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra III	102
47	Curvas experimentales del tratamiento térmico A aplicado a conos de jurel envasados en bolsas esterilizables	104
48	Curvas experimentales del tratamiento térmico B aplicado a conos de jurel envasados en bolsas esterilizables	105
49	Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra A-3. (a) Plano XY. (b) Plano XZ	106
50	Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra A-4. (a) Plano XY. (b) Plano XZ	107
51	Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra B-7. (a) Plano XY. (b) Plano XZ	108

52	Modelo digital 3D de la muestra A-3	112
53	Modelo digital 3D de la muestra A-4	113
54	Modelo digital 3D de la muestra B-7	114
55	Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra A-3	117
56	Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra A-4	118
57	Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra B-7	119
58	Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra A-3	120
59	Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra A-4	121
60	Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra B-7	122
61	UFC de <i>B. stearothermophilus</i> obtenidos en la muestra A-3 después del tratamiento térmico	124
62	UFC de <i>B. stearothermophilus</i> obtenidos en la muestra A-4 después del tratamiento térmico	124
63	UFC de <i>B. stearothermophilus</i> obtenidos en la muestra B-7 después del tratamiento térmico	125
64	Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra A-3	129
65	Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital	130

	para la muestra A-4	
66	Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra B-7	131
67	Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra A-3	134
68	Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra A-4	135
69	Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra B-7	136

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Propiedades termofísicas del jurel (<i>Trachurus symmetricus murphyi</i>) en función de la temperatura generadas en Foodproperty v1.0	160
2	Recuentos obtenidos de la solución madre e inicial	163
3	Análisis Estadístico de los resultados obtenidos en la evaluación de la influencia de rayos X sobre la cantidad final de esporas de <i>B. stearothermophilus</i>	164
4	Coordenadas capilares y termocuplas por medio de radiografías	166
5	Modelos digitales 3D	169
6	Modelos mallados FEA	172
7	Diagrama de contorno	175
8	Recuento de la cantidad de esporas sobreviviente al tratamiento térmico	178
9	Ubicación del nodo de los capilares y la termocupla en ALGOR®	181

10	Ajuste de perfiles simulados y experimentales de la termocupla	184
11	Cálculo del S promedio estimado del capilar a partir del F_0 simulado obtenido en ALGOR®	187
12	Valores esterilizantes calculados para <i>Clostridium botulinum</i>	188

1. INTRODUCCION

Desde los inicios de la conservería una de sus principales preocupaciones ha sido la determinación de los tiempos de proceso adecuados para asegurar la estabilidad microbiológica de las conservas. La aplicación de calor sobre los alimentos no solamente reduce sustancialmente su carga microbiana, sino que también actúa sobre las propiedades sensoriales y nutricionales, por este motivo es necesaria la optimización de los tiempos de tratamiento térmico.

Durante muchos años las industrias conserveras han seguido un enfoque empírico para la obtención de tiempos de proceso adecuados basado enteramente en el registro y evaluación del historial tiempo/temperatura mediante termocuplas ubicadas en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento. Sin embargo, la ubicación de la termocupla en este punto es casi imposible debido a la forma irregular compleja que presentan algunos alimentos, y al error experimental inherente durante la maniobra de inserción de los alambres de termocupla. Las incertidumbres mencionadas y las desviaciones propias de los procesos térmicos han obligado utilizar factores de seguridad equivalentes a un 50% o más.

En investigaciones recientes realizadas en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICYTAL) de la Universidad Austral de Chile se ha propuesto el uso de la ingeniería reversa y tecnología de software CAD/CAE (*Computer-Aided Design / Computer-Aided Engineering*) para el cálculo y evaluación de procesos térmicos con mayor precisión. Esta metodología permite encontrar, mediante un modelo digital 3D y simulación de tratamiento térmico, la ubicación “exacta” del punto de más lento calentamiento/enfriamiento. De esta forma se evitaría subcalcular la letalidad del proceso térmico y permitiría reducir los

factores de seguridad actualmente aplicados. Sin embargo, a pesar de las ventajas de mayor precisión y reducción de pruebas experimentales mediante la simulación 3D de los procesos térmicos, en la actualidad su implementación en las plantas de proceso del país se vería limitado debido a la necesidad de contar con hardware y software apropiados.

Es por esto que surge la necesidad de proponer otra metodología que utilice como herramienta los beneficios de la tecnología CAD/CAE y el uso de ingeniería reversa, pero a su vez, sea más fácil de implementar en planta. Así los indicadores biológicos utilizados en la microbiología clínica surgen como una alternativa para ser utilizados en la validación del tratamiento térmico de alimentos.

En la actualidad el uso de indicadores biológicos es el método de control de autoclave más aceptado para la esterilización de materiales e instrumentos de laboratorio así como de medios de cultivo. Los indicadores biológicos contienen esporas bacterianas de resistencia conocida, comúnmente de *Bacillus stearothermophilus* o mezclas con *Bacillus subtilis* provenientes, de colecciones de cultivos de referencia como son el catálogo de la ATCC (*American Type Culture Collection*). Estos microorganismos son más termorresistentes, por lo que su muerte indica indirectamente la destrucción de patógenos menos termoresistentes como *Clostridium botulinum*. Sin embargo, estos indicadores biológicos disponibles comercialmente en la actualidad sólo se utilizan como una forma de verificar que los materiales en cuestión fueron expuestos a un proceso de esterilización, no indicando la efectividad del proceso térmico en cuanto a la destrucción de una cantidad determinada de microorganismos. Por otro lado, el tamaño de las ampollas hace inviable su utilización para la mayoría de las conservas, por lo que se hace necesario el desarrollo de capilares que contengan microorganismos indicadores.

Basándose en los antecedentes citados, la hipótesis es la siguiente:

Es posible validar la efectividad del proceso de esterilización de conos de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, mediante el uso de capilares de *Bacillus stearothermophilus*, la aplicación de la Ingeniería Reversa y la tecnologías CAD/CAE.

Objetivo general

- Validar microbiológicamente la reducción de la población microbiana de *B. stearothermophilus*, en el proceso de esterilización de conos de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.

Objetivos específicos

- Confeccionar capilares con esporas de *B. stearothermophilus* para ser insertadas en el alimento.
- Estimar mediante, simulación computacional, el tiempo de proceso térmico del alimento en base a una letalidad previamente establecida.
- Validar microbiológicamente el valor esterilizante (S) de cada tratamiento térmico mediante simulación computacional.
- Evaluar la letalidad de los procesos térmicos utilizando el número de reducciones decimales (S).

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Microorganismo de referencia. *Bacillus stearothermophilus*

2.1.1 Características de la especie. Según HAYES (1993) el *B. stearothermophilus* es la única especie de *Bacillus* de importancia industrial y responsable del deterioro por amargor, es decir, produce ácidos a partir de los carbohidratos que dan un sabor amargo al alimento, pero no producen gas.

Se clasifica como un microorganismo termófilo obligado (PFLUG, 1987), Gram positivo, formador de esporas y aerobio. En algunos casos, dependiendo de la cepa, anaerobio facultativo, asociado con deterioro agrio sin producción de gas (agriado sin abombamiento), dentro de sus características se encuentra su máximo crecimiento a temperaturas de 65 – 75 °C, un mínimo crecimiento a 40 °C, y su óptimo crecimiento a 55 °C. Algunos tipos de *B. stearothermophilus* pueden crecer a 37 °C pero nunca bajo 30 °C. El pH mínimo para crecer es de 5,2 y la mínima actividad de agua (a_w) para crecer a su temperatura óptima es 0,93. Habita comúnmente en el suelo, en arena de desierto, en aguas árticas, en sedimentos de océano, en alimentos y en estiércol vegetal. Las esporas de esta bacteria son muy resistentes al calor y son a menudo usadas para monitorear el proceso de esterilización con calor húmedo. La heterogeneidad de la especie esta dada por la diversidad de la composición base del ADN así como también de la diversidad de las características fenotípicas (ROBINSON et al., 2000).

2.1.2 Forma de supervivencia. Generalmente los microorganismos crecen en un ambiente hostil, por lo que parece razonable que hayan desarrollado estrategias de supervivencia, sistemas de defensa para hacer frente a las

condiciones ambientales adversas. Es por esto, que diversas bacterias desarrollan una vía de diferenciación controlada, tras la cual se produce una marcada alteración de la estructura celular. Se pueden formar endosporas, (*Bacillus* o *Clostridium*), mixosporas (*myxococcus*), cistes (*azotobacter*) o acinetos. Normalmente estas formas alternativas comparten características comunes, como un protoplasma denso, capas celulares adicionales, resistencia a la radiación ultravioleta y a la desecación y metabolismo quiescente (“vida latente”). La producción de esporas, en general, es un fenómeno extendido entre los microorganismos. Las endosporas en particular, son casi exclusivas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Las esporas tienen dos funciones principales: actúan como agente de dispersión, debido a su pequeño tamaño y son formas de supervivencia en condiciones adversas (calor, desecación). La producción de esporas (esporulación), forma parte del ciclo vital de las bacterias que la presentan y no es consecuencia de la exposición inmediata a una situación crítica. La esporulación comienza normalmente cuando cesa el crecimiento vegetativo debido al agotamiento de nutrientes. Suele suceder en la etapa exponencial de la población.

La esporulación en *Bacillus* spp. es un proceso complejo de diferenciación celular en los que intervienen unos 200 genes y tarda aproximadamente 8 horas.

Las endosporas resisten el proceso de ebullición, la temperatura de 100 °C no inactiva las endosporas, y son necesarias temperaturas más altas para destruirlas. El desarrollo de la termoresistencia se debe a la incorporación masiva de Ca^{2+} por la célula esporulante y a la síntesis en gran cantidad de ácido dipicolínico. Los procesos que conducen a la destrucción completa (esterilización en autoclave), deben ser aplicados concienzuda y exhaustivamente. Después del ciclo de esterilización debemos asegurarnos que todo el contenido del autoclave ha sido sometido a la temperatura y tiempo

requeridos. Para controlarlo, el procedimiento más eficaz es observar la posible supervivencia de esporas de un *Bacillus* especialmente resistente como el *B. stearothermophilus*.

2.1.3 Importancia de la especie a nivel industrial. La incidencia de esporas de *B. stearothermophilus* en las conservas alimenticias es de particular interés. Las esporas pueden llegar a través del suelo en alimentos crudos y en ingredientes como especias, azúcar, almidón y harina. La presencia de esporas de *B. stearothermophilus* en algunos contenedores de algún determinado lote de alimentos de baja acidez comercialmente estéril, puede ser considerado normal.

La importancia del deterioro causado por microorganismos termófilos en la industria de alimentos fue generando un considerable interés en los factores que afectan la resistencia térmica, germinación y supervivencia de estas esporas (ROBINSON *et al.*, 2000).

Los valores $D_{121^{\circ}\text{C}}$ para el *B. stearothermophilus* según PFLUG (1987) varían en un promedio de 1 a 2 min, con un valor máximo de 5 min. Esto es lo que marca la diferencia a la hora del cálculo del valor F tanto para termófilos esporulados como para mesófilos esporulados.

Validar un determinado tratamiento térmico en base a la destrucción de esporas de *B. stearothermophilus*, es de vital importancia, ya que al producir ácido sin desprender gas el envase de hojalata no presenta abombamiento. Este tipo de alteración no es detectable ni por el fabricante ni por el consumidor antes de abrir la conserva, por lo cual, a pesar de no representar un problema para la salud sí constituye un problema económico para el fabricante. Este problema debe resolverse durante la producción de alimentos enlatados, asegurando que la destrucción de este tipo de microorganismos sea a niveles que no causen la

alteración del alimento. De esta forma se asegura su prestigio como empresa y por ende el bienestar económico de la industria conservera.

2.2 Bolsas flexibles esterilizables

2.2.1 Definición. Según lo señalado por Lampi (1977) citado por CATALA (1982) las bolsas flexibles esterilizables (FIGURA 1) se pueden definir como un envase flexible para alimentos esterilizados por calor, capaz de resistir temperaturas de 115 a 130 °C y fluctuaciones de presión semejantes a las que se desarrollan en la esterilización de envases de vidrio o metálicos.

2.2.2 Primeros antecedentes. El desarrollo de esta tecnología se inició en los primeros años de la década de 1950 debiéndose sus primeros estudios sistemáticos a Hu **et al.** (1955) y a Nelson y Steinberg (1956), de la universidad de Illinois, que estudiaron un amplio muestrario de materiales laminados y establecieron las características de aptitud para su utilización. En 1957 las autoridades militares estadounidense realizaron un amplio estudio sobre la posibilidad de introducir este tipo de envases en reemplazó a los metálicos (CATALA, 1982).

Los envases flexibles se emplean en productos de baja y alta acidez y también para el uso aséptico o para el uso en autoclaves. Estos envases pueden ser fabricados de poliéster en el exterior para la durabilidad, y polipropileno en la superficie de contacto con el alimento, junto con una barrera al oxígeno entre las dos, cloruro de polivilideno (PVDC o SARAN), EVOH o nylon. El polipropileno puede ser teñido para restringir el paso de la luz o una capa de aluminio puede reemplazar al PVDC como barrera para el oxígeno y la luz (GAVIN y WEDDIG, 1995).



FIGURA 1. Bolsas esterilizables.

2.2.3 Características de las bolsas flexibles esterilizables. En comparación con los enlatados las bolsas retortables presentan las siguientes ventajas (LAMPI, 1977):

- sección transversal plana con menor espesor del producto en relación con los envases convencionales: Rápida transferencia de calor, reducción del tiempo de esterilización, mejor calidad del alimento envasado por menor daño térmico.
- posibilidad de trabajar con tecnología integrada de formación y llenado de envases (ahorro de espacio en el almacenamiento de envases vacíos).
- reducción de peso y espacio en transporte y almacenamiento.
- facilidad de apertura.

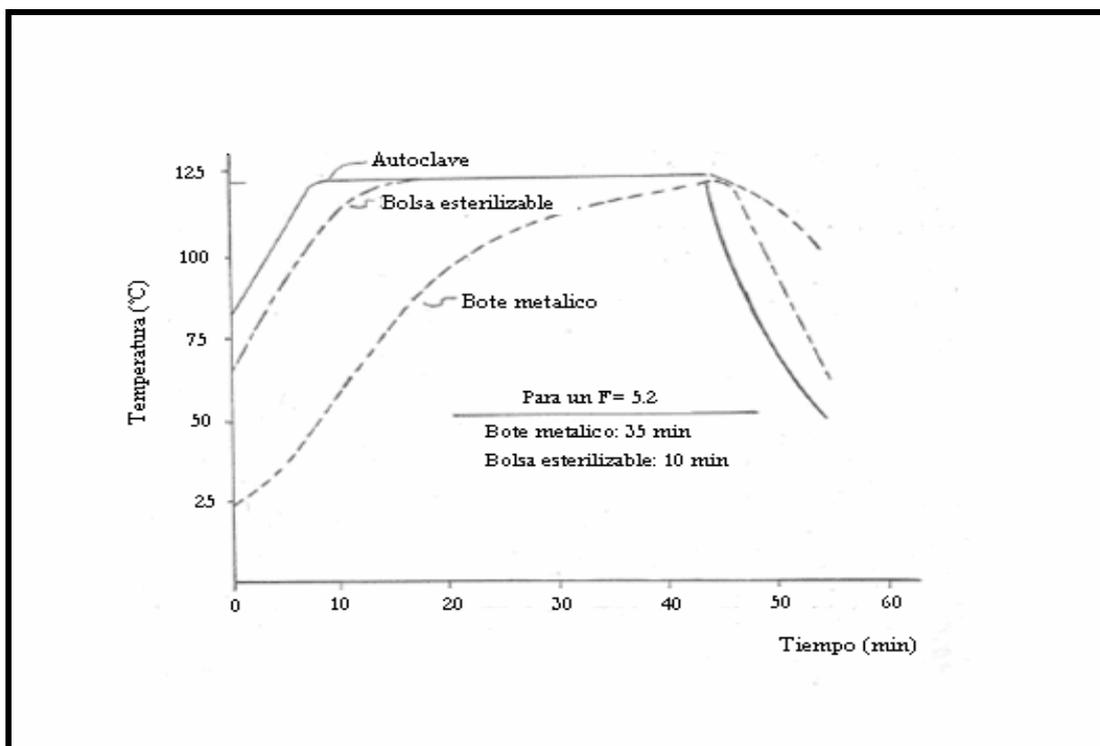


FIGURA 2. Curva de penetración de calor comparativa de bolsas esterilizables y botes metálicos.

FUENTE: Lampi (1977) citado por CATALA, 1982.

La diferencia sustancial en la esterilización de bolsas, con respecto a los envases metálicos se centra particularmente en el tiempo de tratamiento reduciendo el tiempo de esterilización de las bolsas a 1/2 ó 1/3 del necesario para una lata de similares dimensiones (FIGURA 2).

Según el INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERU (ITP, 2005), el factor económico, es una de las ventajas más importantes en la utilización de las bolsas esterilizables, sin considerar otras ventajas económicas que incluyen menores gastos de energía, debido al menor tiempo de esterilización, transporte de material de envases vacíos, entre otros.

Sin embargo las bolsas esterilizables también poseen las siguientes desventajas:

- el proceso es generalmente mas largo y requiere de mayor mano de obra.
- debido a que son menos robustas, las bolsas esterilizables necesitan de mayor protección a través de una bolsa o cartón como empaque secundario.
- las operaciones de empacado generalmente son mas lentas comparadas con una operación similar de congelado o conservas (PLASPAK, 2006).

2.2.4 Proceso de fabricación de productos en envases flexibles. Este proceso es diferente al procesamiento tradicional a partir de la etapa de llenado, cuya forma dependerá de las características físicas y reológicas del producto a ser incluido (ITP, 2005).

El formado de la bolsa se realiza con un equipo continuo de llenado y sellado. Durante el llenado de las bolsas es de vital importancia que la bolsa sea llenada con el producto hasta un nivel apropiado y a su vez que el producto nunca tenga contacto con el área de sellado, además se debe evitar el llenado excesivo de la bolsa por aumenta el riesgo de un sello defectuoso y también efectuarse un proceso térmico menor al recomendado debido al mayor espesor o alto del envase.

Para remover el aire y cierre de las bolsas flexibles esterilizables a nivel comercial se utilizan varios métodos dentro de los cuales cabe destacar:

- usar un chorro de vapor, saturado o sobrecalentado, sobre el espacio de cabeza.

- provocar un vacío mecánico dentro de una cámara al vacío o insertando un tubo o sonda dentro de la bolsa.
- comprimir mecánicamente los lados de la bolsa para reducir o eliminar el espacio de cabeza.
- llenar con el producto caliente para crear un vacío cuando el producto se enfríe.
- realizar un barrido del espacio de cabeza con nitrógeno gaseoso.

El área de sellado de la bolsa retortable debe estar libre de contaminación y arrugas para así formar sellos adecuados.

La temperatura de sellado, la presión y el tiempo de fusión tienen que mantenerse de acuerdo con las especificaciones del fabricante (GAVIN y WEDDIG, 1995).

2.2.5 Composición del envase. Las bolsas esterilizables son hechas de materiales flexibles laminados cuyas características más importantes son la de resistencia al calor, gran fuerza de tensión e impermeabilidad a los gases y vapor de agua. Las especificaciones típicas están constituidas por materiales laminados de 3 ó 4 capas: película exterior/aluminio/película interior ó película exterior/aluminio/película central/película interior. El laminado de 3 capas (FIGURA 3) se utiliza mayormente para bolsas esterilizables de tamaño pequeño hasta 1 kg. Mientras que el de 4 capas es usado preferentemente para bolsas esterilizables grandes (PLASPAK, 2006). Las capas mencionadas se definen de la siguiente forma:

- Capa exterior. Contribuye a la fuerza y resistencia a la formación de agujeros en la bolsa terminada. Se puede utilizar 2 tipos de material: poliéster de 12 μ (terephthalato de polietileno; PET) y poliamida orientada

de 15 μ (nylon). Se prefiere el poliéster ya que el nylon tiende a absorber humedad bajo altas humedades relativas y altas temperaturas.

- Aluminio. Se utiliza como barrera en el caso de productos pesqueros, la barrera contra transferencia de oxígeno, vapor de agua y luz es imprescindible si se considera un largo periodo de vida útil.
- Capa interior. Es la capa termosellable (alrededor de 150 °C) su función es proteger mecánicamente al aluminio, proteger el producto, y contribuir generalmente a la durabilidad y fuerza del laminado. Se usan 2 tipos de material: el polietileno de alta densidad modificado con caucho poliisobutileno (RMHD) y polipropileno copolimerizado con una proporción baja de polietileno. Se utiliza más el polipropileno debido a su buena disponibilidad.
- Capa central. Se utiliza otra capa entre el aluminio y el CPP cuando las 3 capas podrían resultar inadecuadas. Se utiliza PET de 12 μ y 15 μ y nylon de 15 μ .

Complejos multicapa		
Capa	Función	Material
interna	inercia química termosoldabilidad	PE, EVA, CPP, IONÓMEROS...
media	barrera a gases y aromas opacidad consistencia	EVOH, PVdC, ALUMINIO, PAPEL - CARTÓN*
externa	resistencia mecánica barrera a gases y aromas consistencia	PET, PA, OPP, PS, PAPEL- CARTÓN*...

* Solo consistencia y opacidad

FIGURA 3. Complejo multicapa de las bolsas esterilizables.

2.2.6 Mercado de las bolsas esterilizables. El desarrollo de la industria de bolsas esterilizables (*Retort Pouch*) ha sido rápida y actualmente es uno de los envases más usados para alimentos procesados térmicamente, incluyendo pesqueros, principalmente en Japón, Europa y Norteamérica, en donde es apreciada su novedosa y atractiva presentación.

La disponibilidad de este tipo de envase para la industria pesquera y alimentaría nacional, hace viable el procesamiento de alimentos con grandes posibilidades en el mercado externo, Esto, lo convierte en un producto competitivo para mercados internacionales (ITP, 2005)

En 1978, el departamento de defensa de U.S autorizó el uso de las bolsas esterilizables en las raciones militares (HEINTZ, 1980).

Las bolsas esterilizables están muy bien establecidas en Europa y Japón. Japón cuenta con el mercado más avanzado en empaques esterilizables. La falta de espacio físico y otros factores, llevaron a las empresas japonesas a optar por un empaque flexible de fácil almacenamiento, que fuera una alternativa para las latas, durante la década de 1980 (RED ALIMENTARIA, 2005).

En EE.UU. existe una gran número de empresas que comercializan alimentos en bolsas esterilizables, generalmente platos preparados en bolsas de formato 225 y 150 g (MITCHELL, 2002).

2.3 Sistema de esterilización de alimentos

Según GAVIN y WEDDIG (1995), cada sistema de procesamiento térmico, requieren de cierta instrumentación según lo establecido por las regulaciones

del FDA (Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos) y el USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos), entre estas:

- Disponer de un termómetro de mercurio en vidrio que se utilizara como el dispositivo indicador oficial de temperatura, para todos los sistemas de procesamiento térmico, el cual deberá tener desviaciones fácilmente legibles dentro de 0.6 °C (1 °F) y calibrarse y mantener en buenas condiciones de operación.
- Estar equipado con al menos un aparato registrador de temperatura y tiempo durante el procesamiento.
- Contar con sistema de control de temperatura, sistema de control electrónico y a su vez los sistemas de control operados por aire, deberán estar equipados con sistema de filtro adecuados para suministrar aire limpio y seco a la presión apropiada.
- Deberá también contar con un manómetro u otro dispositivo adecuado para medir la presión dentro del autoclave que tenga una escala con divisiones que no excedan de 2 lb/pulg² (1.3 Mpa).

El equipo a su vez deberá contar con suministro de vapor adecuado para que se alcance la temperatura de procesamiento y se mantenga bajo condiciones normales de operación. Todas las líneas de aire y agua conectadas a un autoclave tendrán que estar equipadas con válvulas de globo u otras válvulas adecuadas para prevenir la infiltración de aire o agua al interior del autoclave, además de purgas para proveer la circulación de un medio de calentamiento de vapor, para sacar el aire que entra al autoclave junto con el vapor (GAVIN y WEDDIG, 1995).

2.3.1 Clasificación de autoclaves. Existen variadas formas de clasificar o agrupar los diferentes tipos de autoclaves existentes, dependiendo de sus características tales como: si operan en forma continua o discontinua (por

carga); si son con agitación o sin agitación; si su medio de calentamiento es agua, vapor, mezcla vapor/aire, etc. Muchos de ellos pueden reunir uno o más de estas características por lo que no existe un marco fijo y estricto para clasificarlos. A continuación se describe la clasificación propuesta por MAFART (1991).

2.3.1.1 Autoclaves discontinuos y continuos. Los equipos discontinuos o que trabajan por cargas por lo general se utilizan en industrias pequeñas donde usualmente se produce un número considerable de alimentos distintos, en envases diferentes y de tamaños variados (CASP y ABRIL, 1999). Esta variabilidad de productos es lo que le da una gran ventaja en comparación con los equipos continuos. En los equipos discontinuos cada ciclo de esterilización precisa de una purga y el calentamiento y enfriamiento tanto del producto como del autoclave, otorga mayor fiabilidad y mayor facilidad de mantenimiento debido a su menor complejidad mecánica (MAFART, 1991).

Los equipos continuos son necesarios para una unidad de producción importante que trabaje con grandes series del mismo producto en el mismo envase (CASP y ABRIL, 1999), es decir, se utilizan para importantes caudales y tiempos de esterilización, y su consumo de energía es menor en comparación con una autoclave discontinuo, ya que permanece térmicamente en estado estacionario sin necesidad de purgar, calentar y enfriar el equipo en cada ciclo de esterilización, consumiendo menos agua de enfriamiento puesto que solo debe enfriarse el producto y no el autoclave mismo (MAFART, 1991).

2.3.1.2 Autoclaves estáticos y rotatorios. Los equipos rotatorios están diseñados para provocar en las latas un movimiento rotatorio con el fin de crear agitación del producto y acelerar la transferencia interna de calor. Por lo general se reserva para productos líquidos, pero viscosos como cremas de pastelería, leches concentradas, salsa de tomates u otras, ya que en productos sólidos en

los que la transferencia de calor se lleva acabo prácticamente en régimen puramente de conducción es evidente que la rotación no aporta nada, lo mismo que en productos líquidos poco viscosos donde la rotación añade poco al movimiento de convección natural.

2.3.2 Esterilización de bolsas flexibles. Según Yamaguchi (1979) citado por CATALA (1982), en general para la esterilización de bolsas se aplican técnicas de esterilización alta-corto, con temperaturas de 121-135 °C. En estas condiciones es necesario trabajar con sobrepresión de aire, fundamentalmente durante el ciclo de enfriamiento de los envases.

Es por esto que se ha llegado al consenso que comprende el realizar un proceso donde se equilibren las presiones internas y externas cuando las temperaturas durante el ciclo de calentamiento superen los 100 °C y cuando se retorna a esa temperatura durante el enfriamiento (MITCHELL, 2002).

La práctica aconseja el uso de una sobrepresión de aire de 0,2 a 0,7 kg/ cm². Esta sobre presión, además de asegurar la integridad frente a los problemas de expansión térmica del aire residual y del producto envasado es necesaria para mejorar la transmisión de calor y juega un papel importante en la inmovilización de las bolsas, previniendo la agitación y los movimientos que podrían dañar los cierres (LAMPI, 1977).

Los autoclaves usados en el procesamiento de bolsas pueden ser batch (por carga) o continuo, con agitación o sin agitación y requieren vapor o aire como fuente de sobrepresión para controlar la integridad de las bolsas. Hay tres clases de autoclaves recomendados en el procesamiento de bolsas (BLAKISTONE, 2003):

- con vapor saturado o sobre calentado / agua spray (S/W) o cascada de agua.
- inmersión total en agua con aire o vapor a sobrepresión.
- vapor / aire (S/A).

Los autoclaves que utilizan vapor saturado, empleados por la industria conservera, suelen ser de sección circular y pueden estar dispuestos en posición vertical u horizontal, donde los envases se colocan en cestas. En todos ellos el enfriamiento se realiza por inmersión de las cestas en agua fría, sea dentro del mismo autoclave o en un recipiente exterior colocado en su proximidad (CASP y ABRIL, 1999).

Con este tipo de esterilización para envases plásticos se debe obtener una temperatura suficientemente alta en la superficie para lograr la esterilidad requerida, con lo que se limita el efecto térmico en la superficie en orden de tratar de no alterar el material y así no deformarlo. Para un tratamiento con vapor saturado, el aire debe ser cuidadosamente removido del interior de las bolsas (MITCHELL, 2002).

En la FIGURA 4 se muestra el esquema de un autoclave vertical. Que consta fundamentalmente de:

- una entrada de vapor (1), con un sistema de distribución del mismo en el interior del autoclave (2) que asegure la buena homogeneidad de la temperatura.
- unos sistemas de purga (3) que consigan evacuar todo el aire existente en el equipo antes de la puesta a presión.
- un sistema de desagüe (4) para eliminar los condensados y el agua de enfriamiento.

- un sistema de entrada de agua de enfriamiento (5), cuando este enfriamiento se realice en su interior.
- unos sistemas de control y medida. Válvula de regulación de vapor (6), termómetro (7) y registro de temperatura (8), válvulas de seguridad, etc.

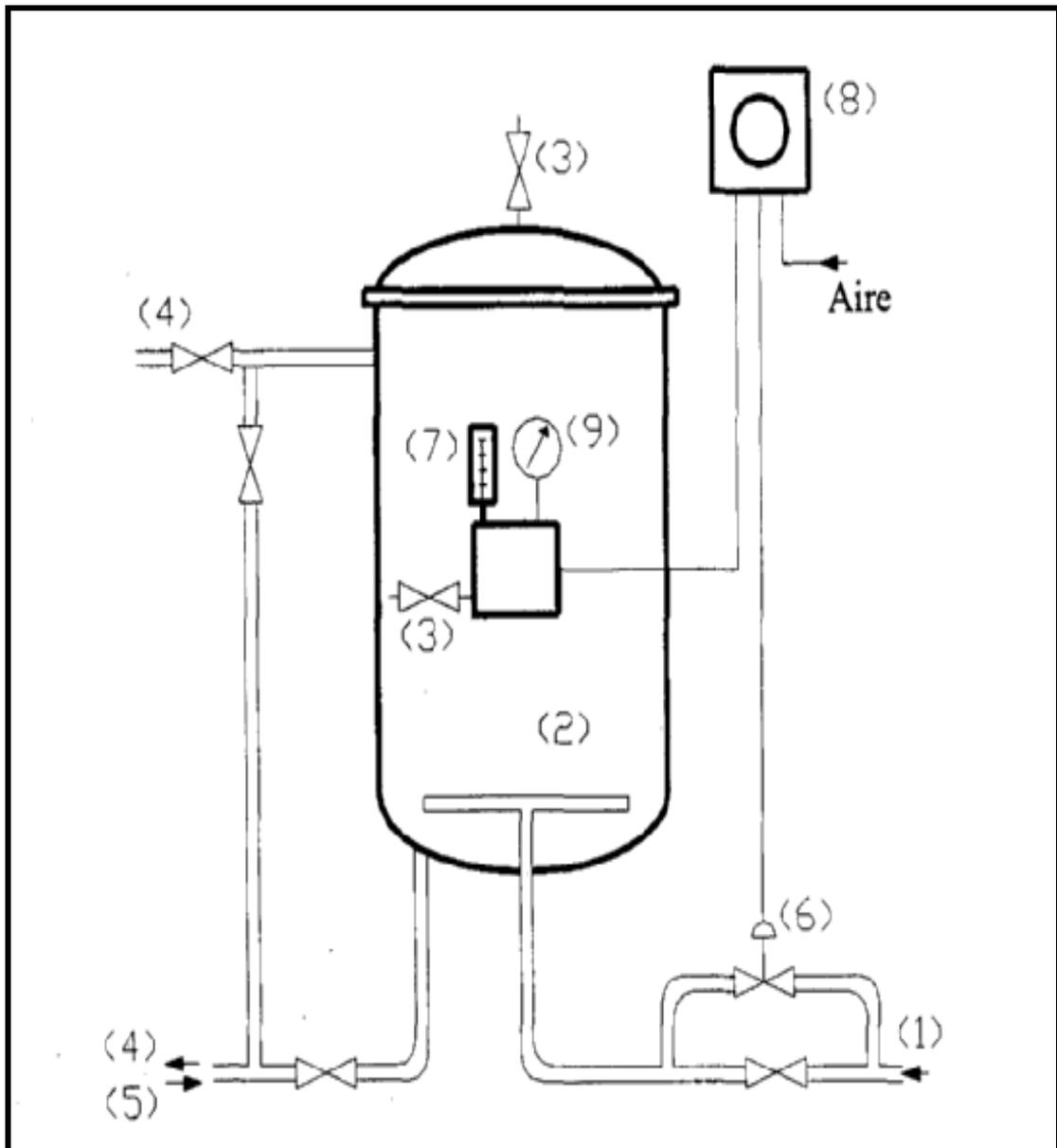


FIGURA 4. Sistema de esterilización con vapor saturado.

FUENTE: CASP y ABRIL (1999).

Tanto S/W y S/A pueden tener un sistema de circulación del medio de calentamiento. Con un sistema S/A puede ser difícil mantener la proporción vapor/aire. La circulación de agua en un autoclave S/W soluciona potenciales problemas. El sistema S/W es particularmente atractivo ya que este no tiene restricciones en la presión de aire. La transición entre calentamiento y enfriamiento es fácil ya que no hay daños por una baja de presión que pueda afectar la integridad del envase (BLAKISTONE, 2003).

En la esterilización con vapor aire (FIGURA 6) se presenta entre otras, las siguientes ventajas (CATALA, 1982):

- tiempo de precalentamiento menor.
- enfriamiento más rápido, obteniéndose mejor calidad del producto.
- Reducción de gasto de energía.
- Menor daño a las bolsas, especialmente en comparación con los sistemas de circulación de agua a gran velocidad.

Cuando se emplea vapor-aire como medio calefactor para esterilizar a 120 °C pueden usarse mezclas de 85% de vapor y 15% de aire.

El problema más importante de la utilización de una mezcla vapor/aire para la calefacción es que su coeficiente convectivo de transferencia de calor es menor que el del vapor de agua condensándose y que además es inversamente proporcional a la concentración de aire en la mezcla, lo que significa que si se requiere una uniformidad en el tratamiento, se debe conseguir que la mezcla sea uniforme en todos los puntos del interior del equipo (CASP y ABRIL, 1999).

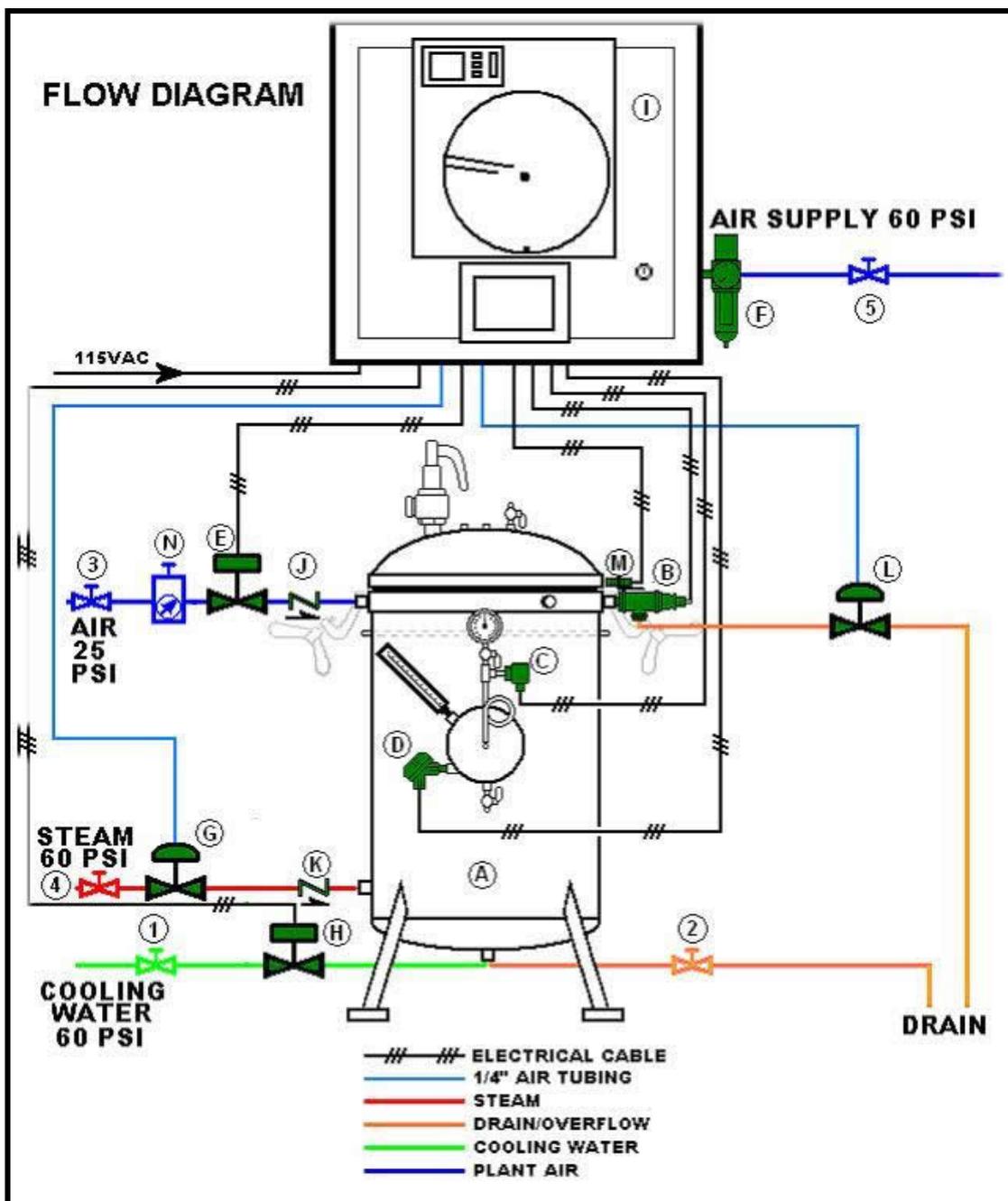


FIGURA 6. Esquema de autoclave con vapor saturado y sistema de aire comprimido.

FUENTE: <http://www.dixiecanner.com/2060.htm>

2.4 Simulación.

La simulación del comportamiento térmico del producto es útil cuando se quiere predecir el valor esterilizador que alcanza un determinado tratamiento, o cuando se quiere conocer cual debería ser el tiempo necesario de aplicación de una temperatura para alcanzar la letalidad buscada.

2.4.1 Ingeniería reversa. Se conoce como Ingeniería Reversa el proceso de reconstrucción, de forma digital, de un producto, a partir de un modelo físico (modelos de diseño, industriales, artísticos, prototipos, etc.) para obtener el modelo digital del objeto en cuestión (IBAÑEZ, 2004).

2.4.1.1 Diseño asistido por computador (CAD). El diseño asistido por computador, más conocido por las siglas inglesas CAD (*Computer Aided Design*) se refiere a un amplio rango de herramientas computacionales que asisten a ingenieros y otros profesionales. Se trata básicamente de una base de datos geométricos (puntos, líneas, arcos, etc.) con la que se puede operar a través de una interfaz gráfica (RODRIGUEZ, 2005).

El CAD es espacial, cartesiano y vectorial, lo que quiere decir que la información del diseño posee una ubicación determinada en un espacio imaginario y dominado por un sistema coordenado cartesiano. De este modo, toda la información puede ser relacionada con el resto de acuerdo al lugar geométrico que ocupa cada una (FERRER, 2007).

2.4.1.2 Ingeniería asistida por computador (CAE). El CAE es una herramienta que combina información geométrica (tecnología CAD) con información funcional (cálculos matemáticos). Las herramientas CAE permiten realizar análisis, optimizar y documentar procesos térmicos, análisis

estructurales, análisis de circuitos electrónicos, entre otros (RODRIGUEZ, 2005).

2.4.1.3 Características del procesamiento. El proceso de análisis se caracteriza por 3 pasos fundamentales, que se resumen brevemente a continuación:

- preprocesamiento: Se obtiene la estructura de malla mediante nodos y elementos. Es decir, consiste en la creación de la geometría (digitalización) con la consiguiente importación del modelo a un software CAE y la aplicación de condiciones de borde.
- solver: Consiste en la resolución del sistema de ecuaciones a partir de los datos introducidos.
- postprocesamiento: Se refiere al análisis de resultados, es decir, el análisis de los datos tiempo/temperatura generados para cada nodo del modelo analizado (DATTA, 1999)

2.4.1.4 Método de elementos finitos. El método de elementos finitos (FEM, *Finite Element Method*) constituye hoy en día el procedimiento habitual de cálculo en mecánica estructural y mecanismos de sólidos en general. Su uso esta también muy extendido en la solución de problemas de transferencia de calor y empieza a cobrar real importancia en otras áreas, como la mecánica de fluidos o electromagnetismo.

En conclusión el método de elementos finitos es una técnica computacional para la obtención de soluciones aproximadas de ecuaciones diferenciales parciales planteadas en aplicaciones científicas y de ingeniería. Este método toma un dominio continuo y lo divide en sub-dominios, llamados elementos, y la solución de la ecuación diferencial parcial es aproximada por función polinomial simple en cada elemento (FLAHERTY, 2000).

El término "finito" de la expresión "análisis por elementos finitos" refleja la idea de que en un modelo de elementos finitos existe un número finito de elementos. Antes de la aparición de esta técnica, los ingenieros utilizaban métodos de cálculo integral y diferencial, que descomponen los objetos en un número infinito de elementos (ALGOR, 2000).

La técnica de elementos finitos se convierte en una herramienta de ayuda para modelar el proceso térmico de alimentos de formas irregulares, desde entonces podemos hacer supuestos respecto a las formas de envases, propiedades térmicas de los alimentos y condiciones de frontera pueden ser eliminadas. (CRISTIANINI y RODRIGUES, 2002).

2.4.1.4.1 Antecedentes. En sus orígenes en la década de los 50, el FEM nació como una generalización de la idea básica del cálculo matricial. Surgió al verse al frente de un problema con sistemas estructurales complejos y se pensó que estos sistemas se podían dividir en zonas o "elementos", estos elementos estarían conectados entre si por medio de nodos pero a diferencia del cálculo matricial, dentro de ellos solo se conocía la solución de forma aproximada en función de los movimientos nodales. En un principio se presento como un procedimiento de cálculo mas, que servia para resolver problemas prácticos, sin embargo, durante los años 60 se descubrió que no solo servia para resolver problema de cálculo estructural sino también problemas de elasticidad o conducción de calor.

Ya a fines de los 60 su evolución es mayor con la aparición de los primeros programas comerciales ya en la década de los 80 hubo un importante avance en la popularización del FEM y su facilidad de uso, tanto por abaratamiento espectacular de los computadores, como por las capacidades gráficas que proporcionaba. El abaratamiento de ordenadores y programas ha contribuido a que la difusión de las herramientas de elementos finitos sea tremenda.

Otro aspecto importante en la actualidad es la integración del cálculo por elementos finitos con otras ramas lo que se ha dado en llamar Ingeniería Asistida por Computador (“*Computer Aided Engineering*” – CAE). En la actualidad es normal la integración del cálculo por elementos finitos (“*Finite Element Analysis*” -FEA) Y el diseño asistido por computador (“*Computer Aided Design*” – CAD) con el fin simple de reducir los tiempos de proyecto o de puesta de un producto en el mercado.

Los cálculos básicos que se necesitan para llevar a cabo un cálculo por el FEM son:

- Definición de la geometría del dominio de cálculo y discretización del mismo. Esto se hace dando una lista de nodos y elementos. El conjunto de nodos y elementos constituye lo que se conoce como mallado o malla de elementos finitos.
- Atributos y propiedades de los elementos. Estas propiedades dependerán de la clase de elemento finito que se este utilizando. Así como en todos los casos hay que identificar el material que constituye el subdominio o elemento.
- Propiedades de los materiales.
- Condiciones de contorno. Se caracterizan porque estas condiciones afectan directamente a la variable del campo del problema. En problemas de transferencia de calor las condiciones de contorno corresponden a temperaturas impuestas y a flujos o fuentes de calor.

2.4.1.4.2 Nodo. Un nodo es una posición de coordenadas en el espacio donde están definidos los grados de libertad (DOFs, degrees of freedom). Los grados de libertad asociados a este punto representan los posibles movimientos que éste puede describir al someter a carga la estructura. Los grados de libertad (DOF) indican también qué fuerzas y momentos se transfieren de un elemento

al siguiente. Los resultados de un análisis por elementos finitos (deflexiones y tensiones) suelen darse por nodos (ALGOR, 2000)

2.4.1.4.3 Elemento. El elemento es el bloque constructivo básico del análisis por elementos finitos. Hay varios tipos básicos de elementos. El tipo de elemento utilizado para el análisis por elementos finitos dependerá del tipo de objeto que vaya a modelarse para realizar esta clase de análisis, y del tipo de análisis que vaya a realizarse con él.

Un elemento es una relación matemática que define la interrelación entre los grados de libertad de un nodo y los del siguiente. Estos elementos pueden ser líneas (barras o vigas), áreas (placas y membranas 2D o 3D) o sólidos ("bricks" o tetraedros). También indica cómo crean tensiones las deflexiones. (ALGOR, 2000).

2.5 Principios de procesamiento térmico

La base para establecer los procesos térmicos para alimentos enlatados es un conocimiento profundo de la microbiología de alimentos y de los métodos de proceso (GAVIN y WEDDIG, 1995)

El diseño de un proceso térmico para conseguir la preservación de alimentos involucra dos principios:

- el uso de temperaturas elevadas para incrementar la tasa de destrucción en la población microbiana presente en alimentos.
- la transferencia de energía térmica dentro del producto alimenticio como requerida, para alcanzar las elevadas temperaturas deseadas (HELDMAN y HARTEL, 1997).

2.5.1 Tratamiento térmico de esterilización. Según lo descrito por CASP y ABRIL (1999), corresponde al tratamiento térmico aplicado generalmente a productos poco ácidos en los que pueden desarrollarse bacterias esporuladas, cuyos fin principal es eliminar los riesgos para la salud pública y además que el producto sea lo suficientemente estable como para permitir un almacenamiento de larga duración a temperatura ambiente. Esto exige que el tratamiento térmico, sea ajustado a la bacteria esporulada más termorresistente presente, por lo que se trata de un tratamiento de alta intensidad, realizado a temperatura superior a 100 °C que conseguirá una suficiente destrucción de la flora patógena y banal, incluyendo las formas esporuladas.

2.5.1.1 Alteración de alimentos enlatados. Dependiendo del tipo de conserva y al tipo de alteraciones que puedan sufrir, dependerá el tipo de tratamiento térmico a aplicar. Por lo cual es útil conocer la clasificación de los alimentos enlatados según su acidez (JAY, 2002).

- Poco ácidos (pH > 4,6). se incluye la carne y los productos marinos, la leche algunas hortalizas (maíz, judías de Lima). Estos alimentos son alterados por el grupo termofílico del agriado plano (*B. stearothermophilus*, *B. coagulans*) microorganismos alterantes productores de sulfuro. Los alterantes mesófilos incluyen anaerobios de la putrefacción (especialmente los tipos PA 3679). Se puede dar la alteración y la producción de toxinas por cepas proteolíticas de *C. botulinum* si se hallan presentes.
- Ácidos (pH 3,7-4.0 a 4,6). en esta clase están las frutas como los tomates, peras e higos. Los microorganismos alterantes termofílicos incluyen tipos de *B. coagulans*. Los mesófilos incluyen *B. polymyxa*, *P. macerans* y otros.
- Muy ácidos (pH < 4,0-3,7). incluye frutas y productos de frutas y hortalizas- uvas, encurtidos, etc. Estos alimentos son generalmente

afectados por mesófilos asporógenos- levaduras mohos, *Alicyclobacillus* spp. y/o bacterias ácido lácticas.

2.5.1.2 Ciclo de esterilización. El proceso de esterilización de alimentos se divide en 3 etapas (FIGURA 7) la curva de color rojo indica los cambios típicos de temperatura en el medio durante el tiempo de procesamiento en un autoclave. La primera CUT o tiempo de elevación de la temperatura, tiempo que empieza una vez que comienza a ingresar el vapor en el autoclave cerrado, hasta llegar a la temperatura de trabajo o temperatura de esterilización. Previo a esta etapa se realiza un purga que consiste en eliminar el aire presente inicialmente en el autoclave introduciendo vapor, con el fin de evitar la disminución en el coeficiente de transferencia de calor superficial del fluido calefactor. La segunda es el tiempo del operador o etapa de mantenimiento de la temperatura, es el periodo durante el cual el producto se encuentra sometido a la temperatura de esterilización y la que le entrega la verdadera importancia letal al proceso de esterilización. Finalmente le sigue la etapa de enfriamiento, es el tiempo que se demora el producto en bajar desde la temperatura de esterilización hasta aproximadamente unos 35 °C. Una vez finalizado el tiempo del operador comienza a entrar el agua fría en el autoclave, provocando una condensación de vapor y descenso de la presión en el autoclave (MAFART, 1991).

2.5.2 Cinética de destrucción térmica de microorganismos.

2.5.2.1 Factores que afectan la termoresistencia de los microorganismos.

Se puede asegurar que cuanto mayor sea el número de microorganismos presentes en el producto, más intenso deberá ser el tratamiento térmico para conseguir su destrucción, por lo que, su termoresistencia también deberá ser mayor.

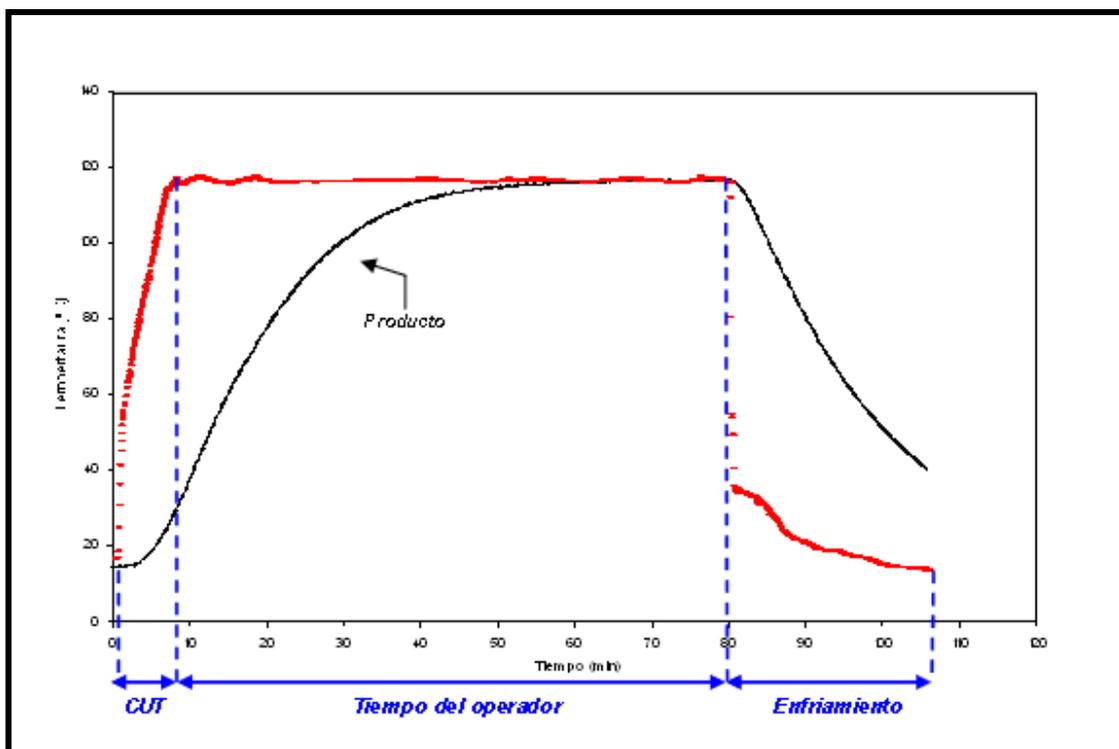


FIGURA 7. Etapas del proceso de esterilización en autoclave.

FUENTE: ELABORACION PROPIA.

La termoresistencia aumenta cuando disminuye la humedad, la hidratación o la actividad de agua (a_w). A su vez la presencia de grasa aumenta la termoresistencia de algunos microorganismos, a este fenómeno se denomina a veces protección por la grasa y se piensa que aumenta la termoresistencia afectando directamente el contenido de humedad de las células.

El efecto de la sal es variable en la termoresistencia de los microorganismos y depende del tipo de sal, la concentración usada, entre otros (JAY, 2002). Un estudio hecho por FEEHERRY *et al.* (1986), demostraron la sensibilidad a la adición de NaCl en esporas de *B. stearothermophilus* por sobre los 0,9% en el medio de recuperación (FIGURA 8), causa un progresivo decrecimiento en el número de UFC por ml. También se observó que el valor D decrecía al reducir el pH por debajo de 6,6 aumentando el porcentaje de células dañadas y

disminuyendo la posibilidad de esporulamiento en alimentos con pH <6,6 y con contenidos >0,9 % de NaCl.

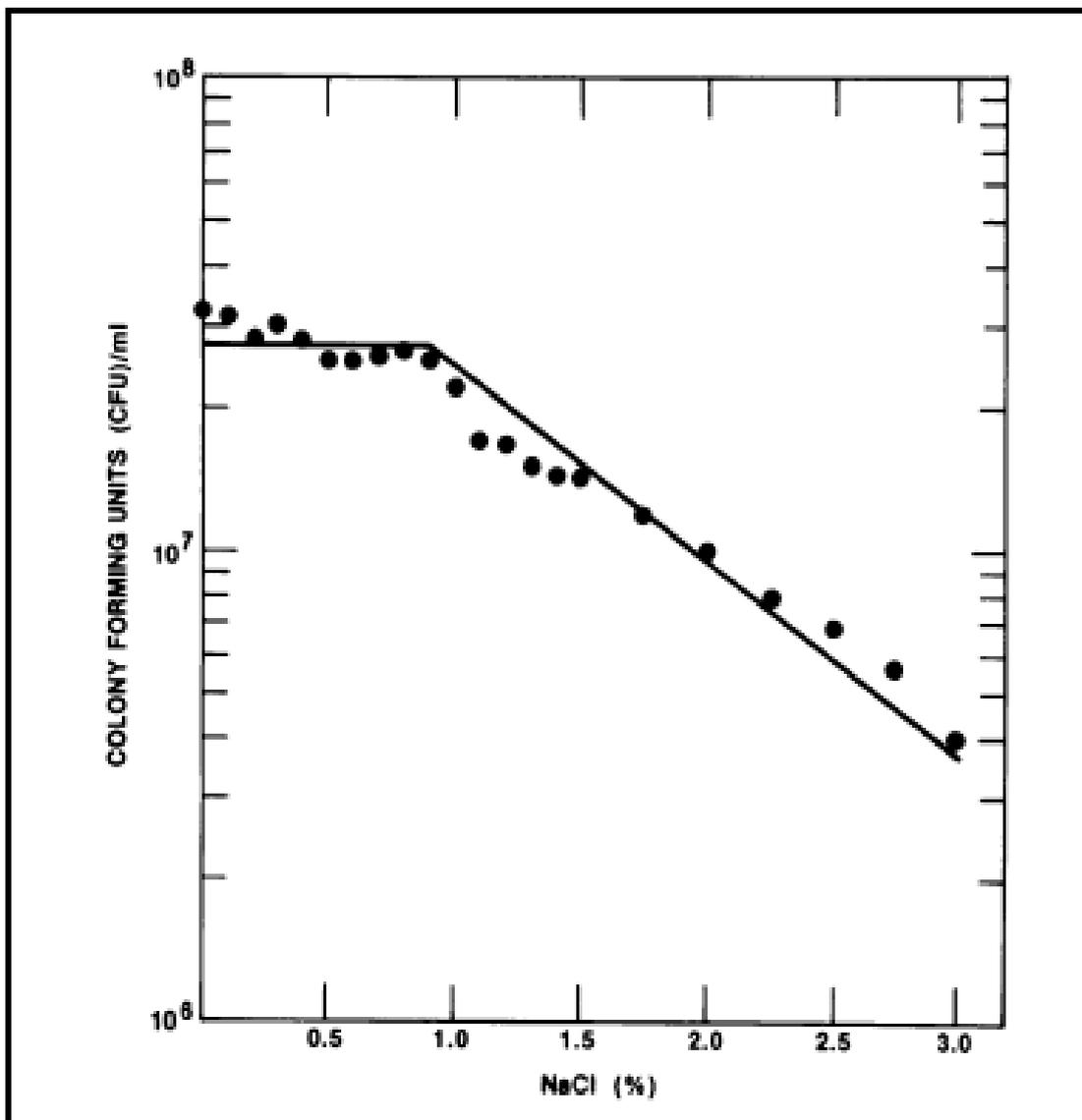


FIGURA 8. Efecto de la concentración de NaCl en esporas de *Bacillus stearothermophilus* recuperadas en medio AAMS¹ suplementado con distintas concentraciones de NaCl.

FUENTE: FEEHERRY et al. (1986).

¹ Antibiotic assay medium supplemented with 0.1% soluble starch

La temperatura también es un factor que influye en la termoresistencia, las endoesporas de una especie dada formadas a temperatura máxima, son más termoresistentes que las formadas a temperaturas más bajas. Además en las esporas se encuentran proteínas de tamaño reducido solubles en ácido (SASP) del tipo α/β (impiden la depuración del DNA de la spora) de este modo cooperan en la termoresistencia (JAY, 2002).

La exposición a radiación también influye en la termoresistencia de los microorganismos. La radiación se define como la emisión y propagación de energía a través del espacio o a través de un material. (JAY, 2002). El tratamiento ionizante es un procedimiento físico de conservación que consiste en exponer los alimentos bien sea a una radiación electromagnética (rayos γ), bien sea un bombardeo particular (electrones acelerados), con el fin de aumentar su duración de conservación (MAFART, 1991).

Tipos de radiación:

- Luz ultravioleta. Es un potente agente bactericida, siendo la longitud de onda más eficaz, la de aproximadamente 2.600 Å. No es ionizante y es absorbida por las proteínas y ácidos nucleicos, en los que se producen cambios fotoquímicos que pueden ocasionar la muerte de las células.
- Rayos beta. Corresponde al flujo de electrones emitidos por sustancias radiactivas los rayos catódicos son los mismos excepto que son emitidos por el cátodo de un tubo de vacío. poseen escasa penetración.
- Rayos gamma. Corresponden a radiaciones electromagnéticas emitidas por el núcleo excitado de elementos como el Co^{60} y el Cs^{137} . esta es la forma de conservación de alimentos más barata., tienen un excelente poder de penetración.

- Rayos X. Son producidos por el bombardeo de blancos de metales pesados con electrones de alta velocidad (rayos catódicos) en un tubo de vacío.

Factores que influyen en la sensibilidad de bacterias y esporas bacterianas a la radiación:

- tamaño del inóculo.
- tipo de microorganismo (Resistencia en *Bacillus* spp. Y *Clostridium* spp.). Se ha demostrado que las bacterias Gram positivas son más resistentes a la radiación que las Gram negativas (CUADRO 1).
- tratamiento pre-irradiación (el secado da resistencia).
- efecto oxígeno (mayor sensibilidad a mayor pO₂).
- medio de suspensión de las esporas (pH, buffer).
- aditivos al medio de suspensión.
- temperatura.

La dosis de radiación aceptada para esterilización es de 25 kGy (2,5 Mrad), es efectiva para microorganismos resistentes (esporas de *Clostridium botulinum* y *B. pumilus*). Y para la preservación de alimentos la irradiación utilizada es 1 a 100 kGy (GALLEANO, 2006).

CUADRO 1. Sensibilidad relativa de algunos microorganismos a la radiación.

Respuesta	Ejemplos
Sensibles	Bacterias esporuladas (<i>Pseudomonas</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Sarcina</i> , <i>Streptococcus</i>)
Poco sensibles	Hongos y levaduras
Resistentes	Esporas bacterianas (<i>C. botulinum</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Deinobacter sp</i> , <i>Enterococcus faecium</i> . La mayoría de los virus)
Muy resistentes	<i>Deinococcus radiodurans</i> Virus de la aftosa

FUENTE: GALLEANO, 2006.

2.5.2.2 Parámetros cinéticos. El cálculo del proceso térmico requiere un entendimiento de la cinética de inactivación térmica de los microorganismos. Particularmente de los parámetros que describen el impacto de las temperaturas letales en la inactivación de la población microbiana (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003b).

2.5.2.2.1 Valor D. Según MAROULIS y SARAVACOS, (2003) el tiempo de reducción decimal o valor *D*, se puede definir como el tiempo requerido para reducir en un 90% (un ciclo logarítmico) la población de microorganismo, y esta determinada por la inversa de la pendiente negativa de un gráfico semilogarítmico de $\text{Log}(N/N_0)$ versus tiempo (FIGURA 9), dicho de otra forma, es el tiempo requerido para inactivar el 90% de las esporas o células vegetativas de un organismo dado expuesto a una temperatura letal constante en un medio dado (MORALES-BLANCAS Y TORRES, 2003a). Esta reducción

del número de sobrevivientes a una décima parte, es constante; esto quiere decir que el tiempo necesario para reducir la población de esporas de 10000 a 1000 es igual que el que se requiere para que disminuya de 1000 a 100 (WARNE, 1989).

Cuando se representa la población microbiana en coordenadas semilogarítmicas a diferentes tiempos, se expresa matemáticamente como sigue en la ecuación (2.1).

$$D = \frac{(t_2 - t_1)}{[\log(a) - \log(b)]} \quad (2.1)$$

El valor D de las esporas bacterianas varía ampliamente con la naturaleza físico-química del medio en que se desarrolla el microorganismo y por lo mismo resulta muy difícil asignar un valor del cual estemos seguros (WARNE, 1989). Son menos termoresistentes en medios ácidos que en medios neutros. Por lo tanto los tiempos de esterilización empleados son mucho más bajos cuanto más ácido es el alimento. La reducción de la a_w aumenta la termoresistencia de bacterias así como la adición de azúcares. La presencia de antisépticos en el medio, como etanol también disminuye netamente la termoresistencia de los microorganismos (MAFART, 1991).

Cuanto más elevada sea la temperatura, más rápida será la destrucción térmica y más bajo será el valor D ; por eso, la esterilización térmica de los productos pesqueros envasados se basa en la cocción a presión a temperatura elevadas (>100 °C) y no en la cocción en vapor o agua en recipientes abiertos en contacto con la atmósfera (WARNE, 1989).

transcurra un tiempo infinito para que el número de supervivientes sea cero (CASP y ABRIL, 1999).

2.5.2.2.2 Valor Z. De la curva de resistencia térmica de un determinado microorganismo, se puede obtener el segundo parámetro utilizado para caracterizar la resistencia térmica de la población microbiana. El cual se define como el incremento de temperatura requerido para causar una reducción de un ciclo logarítmico en el tiempo de reducción decimal (HELDMAN y HARTEL, 1997) (FIGURA 10).

El valor z ó constante de resistencia térmica es un parámetro de termo-resistencia característico de cada microorganismo y expresa el cambio en la tasa de muerte con respecto a un cambio en la temperatura letal (MORALES-BLANCAS Y TORRES 2003a). Sus valores, menos fluctuantes que los de D , y son generalmente del orden de 4 a 7 °C para las formas vegetativas y de 10 °C para las esporas. No obstante, pueden observarse desviaciones importantes según las condiciones de calentamiento (MAFART, 1991).

Matemáticamente el valor z es equivalente al negativo del recíproco de la pendiente de la curva de muerte. Representando los valores D obtenidos a diferentes temperaturas en coordenadas semilogarítmicas el valor z se puede expresar como sigue:

$$\frac{\log D_{T_1} - \log D_{T_2}}{T_1 - T_2} = -\frac{1}{z} \quad (2.2)$$

El valor z calculado de los valores D de vez en cuando se le denomina con el símbolo z_D . También puede ser obtenido de la curva de datos TDT (valor F) y se denomina con el símbolo z_F ecuación (2.3).

$$\frac{\log F_{T_1} - \log F_{T_2}}{T_1 - T_2} = -\frac{1}{z} \quad (2.3)$$

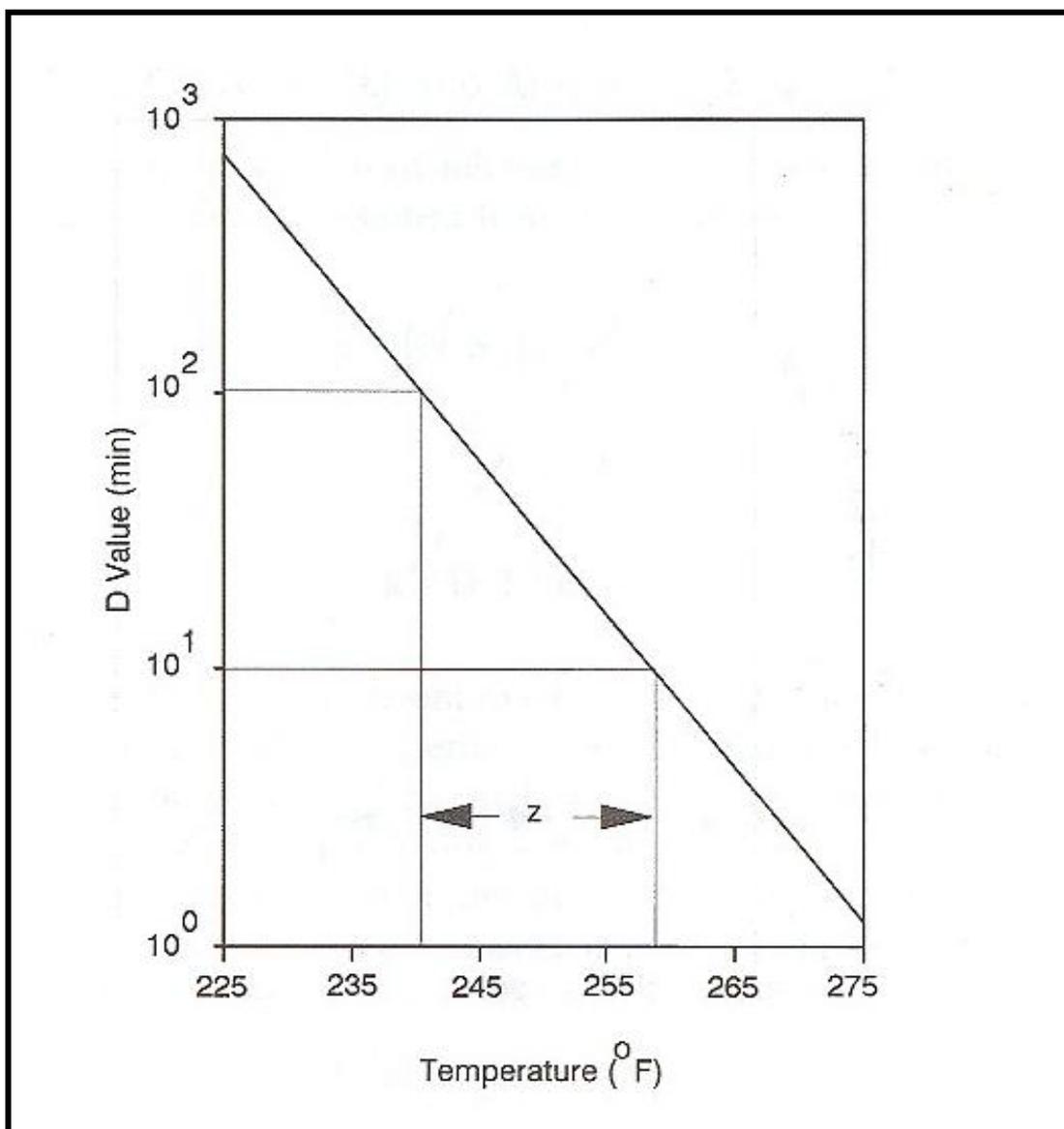


FIGURA 10. Típica curva de resistencia térmica.

FUENTE: MAFART (1991)

En el CUADRO 2 aparecen los valores D y z para las bacterias que normalmente son de importancia para la industria conservera.

CUADRO 2. Valores *D* y *z* de algunas bacterias de importancia industrial.

Organismo	T(°C)	<i>D</i> (s)	<i>z</i> (°C)	Referencia
<i>Bacillus stearothermophilus</i>				
TH34 (agua)	120	1	7,3	Davies et al. (1977)
FS 7954 (tampón fosfato)	121	6	8,3	Wang et al. (1964)
NCIB 8919 (agua)	121	186	7,0	Briggs (1996)
<i>Bacillus subtilis</i>				
5230 (agua)	121	6,0	8,3	Jacobs et al. (1973)
5230 (tampón fosfato)	121	21,9	8,8	Wang et al. (1964)
<i>Clostridium botulinum</i>				
Tipo A (agua)	121	6,0	8,3	Jacobs et al. (1973)
A35B (tampón fosfato)	121	19,2	10,8	Knock y Lambrechts (1956)
213B (vegetales)	121	6,6	9,8	Perkin et al. (1975)
213B (tampón fosfato)	110	96	10,3	Matsuda et al. (1981)
62A (puré de guisante)	121	5,34	8,3	Stumbo et al. (1950)

FUENTE: Adaptado de CASP y ABRIL, 1999.

2.5.2.2.3 Valor *F*. La letalidad (valor *F*) es una medida del tratamiento térmico o proceso de esterilización. Se define como el tiempo necesario para inactivar todas las esporas bacterianas en un medio específico a una temperatura específica (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003a), y es equivalente a un

calentamiento de 1 min a una temperatura de referencia que usualmente es 250 °F (121,1 °C) para el proceso de esterilización (VALENTAS et al., 1997).

Existen dos formas de calcular el valor F :

La primera es donde F es múltiplo de D , suponiendo que en todo el envase se produce un calentamiento y un enfriamiento instantáneo de las esporas, de las células o del alimento (JAY, 2002). En este caso el valor F se deduce de la formula siguiente:

$$F_{T_{ref}}^z = D_{T_{ref}} \cdot (\log a - \log b) \quad (2.4)$$

Donde a = número de células de la población inicial y b = número de células de la población final.

Si este valor asegura una concentración final de esporas establecidas para la salud pública o considera índices de esporulamiento, se puede hablar de valor F requerido (MERSON et al., 1978)

$$\left(F_{T_{ref}}^z \right)_{requerido} = D_{T_{ref}} \cdot (\log a - \log b) \quad (2.5)$$

Además si este tiempo es el tiempo equivalente en minutos a 250 °F hablamos de valor F_0 . (JAY, 2002).

$$F_0 = D_r \cdot (\log a - \log b) \quad (2.6)$$

Ahora si por ejemplo a nivel industrial la preocupación es por la sobrevivencia de esporas de *B. stearothermophilus*. Para una población inicial de 10^2 y final de 10^{-2} .

$$F_0 = 2.0 \cdot (\log 10^2 - \log 10^{-2}) \quad (2.7)$$

$$F_0 = 8 \text{ min}$$

Esto quiere decir que el tratamiento térmico mínimo requerido para impedir la supervivencia de esporas de *B. stearothermophilus* debe ser equivalente en términos de efecto esterilizante, a 8 min a 121,1 °C en el punto más frío del alimento envasado. Sin embargo, esto en la práctica no es así debido a los siguientes motivos principales:

- En el alimento no se encuentra solamente una especie o tipo de microorganismos contaminantes. La variedad es inmensa, sin embargo a nivel industrial siempre se establece la peor condición para determinar los tiempos de tratamiento térmico, es decir, considerando como contaminantes a microorganismo patógenos que causen daño a la salud pública ó bien, en base a microorganismos termófilos más termoresistentes que el *C. botulinum* que causan grandes pérdidas económicas al fabricante por deterioro del producto.
- En la práctica la temperatura del tratamiento térmico no es constante en el punto más frío ya que en un autoclave comercial, el punto más frío sufre un cierto retraso en el calentamiento y en muchos casos nunca llega alcanzar la temperatura del autoclave.

Debido a estas razones que limitan el uso de la ecuación (2.6) tal cual como se describe la segunda forma de calcular el valor F , para casos reales, es tomando en cuenta el efecto esterilizador total en el punto más frío del alimento envasado (que no es igual al tiempo de duración del tratamiento térmico) y que se expresa como un tiempo a una temperatura de referencia constante, debe incluir los efectos letales (integración) de todas las combinaciones tiempo /temperatura en el punto más frío durante el tratamiento térmico y expresar su suma en términos de tiempo a la temperatura de referencia. En la fabricación de pescado envasado, la magnitud del efecto esterilizador del tratamiento térmico

se expresa en minutos a la temperatura de referencia de 121,1 °C. Siguiendo esta convención se decidió designar el efecto esterilizador total de un tratamiento térmico como valor F_0 (WARNE, 1989). Este es el equivalente en términos de capacidad de esterilización, al efecto letal acumulativo de todas las combinaciones tiempo/temperatura que se registran en el punto más frío durante el tratamiento térmico.

Y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\left(F_{T_{ref}}^z\right)_{proceso} = \int_{t_a}^{t_b} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (2.8)$$

Algunos valores F encontrados en literatura para destrucción de esporas termófilas se incluyen en el CUADRO 3.

CUADRO 3. Valores F_0 calculados para la destrucción de esporas termófilas (N_0 de 100).

$D_{121.1^{\circ}\text{C}}$ (minutos)	F_0 ($N_F=10^{-2}$) (minutos)	F_0 ($N_F= 10^{-6}$) (minutos)
1,5	6	12
2,0	8	16
3,0	12	24

FUENTE: PFLUG, 1987.

2.5.2.2.4 Número de reducciones decimales (S). Como una función logarítmica nunca puede alcanzar el valor cero. En otras palabras, la esterilidad definida como la ausencia de esporas vivientes en un volumen ilimitado de producto, es imposible de lograr, es más factible reducir el número de esporas hasta alcanzar una probabilidad de esporulamiento específica.

Un concepto más útil y realista es el de "efecto esterilizante*" o "eficiencia de esterilización". Estos términos establecen el número de reducciones decimales en el recuento de esporas bacterianas logrado por un proceso dado de esterilización (CAMBIANO y VON DER BECKE, 2000).

Cada vez que es llevado a cabo un proceso de esterilización, éste puede ser caracterizado por un cierto efecto esterilizante. En cualquier proceso térmico de esterilización, el efecto esterilizante es determinado por la combinación de tiempo/temperatura aplicada. A mayor temperatura y mayor tiempo de retención, el proceso será más eficiente.

Considerando que una suspensión de microorganismos es calentada a temperatura constante, el número de microorganismos viables decrecerá siguiendo una reacción de primer orden. Siendo N = número de organismos viables (TOLEDO, 1999).

$$-\frac{dN}{dt} = kN \quad (2.9)$$

Donde K es la constante de primer orden para la tasa de inactivación microbiana. Integrando la ecuación anterior y usando la condición inicial, N=N₀ a t=0

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -kt \quad (2.10)$$

Esta ecuación sugiere un grafico semilogaritmico lineal de N versus t. expresándola en logaritmo común queda como sigue.

$$2.303 \log \left(\frac{N}{N_0} \right) = -kt \quad (2.11)$$

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = \frac{-kt}{2.303} \quad (2.12)$$

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = \frac{-t}{D} \quad (2.13)$$

Así el tiempo de reducción decimal y la constante cinética de primer orden pueden ser fácilmente convertidas. N por ser el número de sobrevivientes. Se considera una viabilidad de esporas mucho menor a 1.

La base del proceso de letalidad esta representada por la ecuación 2.14. La destrucción de entidades microbiológicas en un alimento sometido a un tratamiento térmico. La siguiente expresión puede ser usada para expresar el efecto esterilizante logrado en un proceso.

$$S = \text{numero de reducciones decimales} = \log \frac{N_0}{N_f} \quad (2.14)$$

Donde N_0 corresponde al número de inicial de microorganismo y N_f al número de microorganismos sobrevivientes.

Tomemos el caso de un efecto esterilizante o valor letal logarítmico de 9. Un efecto esterilizante de 9, indica que de 10^9 esporas bacterianas que ingresaron al proceso, solamente sobrevivió 1 (10^0). El efecto esterilizante es independiente del volumen.

F_t = tiempo de proceso a temperatura constante el cual es equivalente a la letalidad del proceso dado. Usualmente el valor F , es expresado a una temperatura de referencia. El valor F y D a 121,1 °C. es respectivamente F_0 y D_0

$$S = \frac{F_T}{D_T} \quad (2.15)$$

Sin embargo, si la suspensión es calentada bajo condiciones de temperatura que cambian tales como el interior de la lata durante el proceso termal, la expresión anterior solo puede ser usada solamente si el valor F es calculado con el mismo valor z de la entidad biológica representada por D_t . El uso del valor S para expresar el proceso de letalidad es absoluto es decir es el efecto esperado del proceso térmico.

2.5.2.3 Cálculo de tratamiento térmico. Se refiere a encontrar un tiempo de proceso necesario para conseguir una letalidad previamente establecida o $F_{\text{requerido}}$. Este tiempo de proceso se encuentra por medio de simulaciones computacionales sucesivas hasta alcanzar la letalidad preestablecida.

2.5.2.4 Evaluación del tratamiento térmico. Se basa en conocer la letalidad de un proceso térmico, definido por la historia tiempo/temperatura, y se expresa como un tiempo de procesamiento equivalente a una temperatura constante de 250 °F (121,1 °C). Que considera el valor z del microorganismo tomado como referencia. Dependiendo si se trata de esterilidad comercial que implica la inactivación de todos los microorganismos que ponen en peligro la salud pública, o esporulamiento económico que se refiere a la probabilidad de esporulamiento de microorganismos que no causan daño a la salud pública, pero si provocan deterioro en la calidad y disminuyen la vida útil del producto y por lo general tiene mayor resistencia térmica que *C. botulinum*.

Consiste básicamente en medir la variación de la temperatura en el centro del producto mediante el uso de termocuplas durante el tratamiento térmico y la relaciona con la tasa de destrucción térmica a una temperatura de referencia. Donde destacan el método general original, propuesto por Bigelow (1920) y el método general mejorado propuesto por Ball (1928). Donde se grafica.

$$\frac{1}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \text{ vs. } t \quad (2.16)$$

Para evaluar la letalidad del proceso. Resultando el área bajo la curva en unidades de F (min), hasta lograr lo expresado en la ecuación (2.11).

$$\left(F_{Tref}^z \right)_{proceso} \approx \left(F_{Tref}^z \right)_{requerido} \quad (2.17)$$

Comúnmente se utiliza un método numérico de integración como la regla de Simpson para calcular el área bajo la curva.

2.6 Evaluación biológica de tratamientos térmicos

En la literatura especializada existen pocos trabajos reportados en la que utilizan capilares para el estudio de tratamientos térmicos.

MICHIELS (1972) intentó utilizar métodos biológicos que reemplazarían a los estudios de penetración de calor en la evaluación de los tratamientos térmicos para una letalidad preestablecida. Sin embargo, esta técnica constituía un simple método de control y requería de análisis microbiológicos altamente demandantes de materiales y tiempo que lo hacían poco práctico para ser implementado a nivel industrial.

El método biológico propuesto por Michiels (1972), se basaba en la relación

$$F_{121,1^{\circ}C} = D_{121,1^{\circ}C} \cdot (\log a - \log b) \quad (2.18)$$

Este método consistió en colocar en el centro del producto un capilar que contenía una suspensión de esporas de *Bacillus stearothermophilus* elegido por su elevada termoresistencia de un microorganismo específico del que se conozca la población inicial N_0 y el valor $D_{121,1^{\circ}C}$. Terminado el tratamiento térmico se recuperaba el capilar y se lleva a cabo el recuento de las esporas supervivientes.

DE PAULA y RODRIGUEZ (2005), también intentaron utilizar microorganismos de referencia en este caso esporas de *Bacillus coagulans* y *Neosartorya fischeri* para validar el proceso térmico continuo de pulpa de tomate (pH 4,3 y 8 Brix) en envases Tetra Brik, para lo cual inocularon indirectamente en el alimento y recuperaron las esporas inmovilizadas en pelotas de alginato/tomate.

3. MATERIAL Y MÉTODO

La confección y el subcultivo de los capilares, se realizó en el Laboratorio de Ambiente de la Secretaria Regional Ministerial de Salud (SEREMI) de la Región de los Ríos. El procesamiento de las bolsas esterilizables se realizó a su vez en la Planta Piloto del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) y la posterior simulación del proceso, se desarrolló en el laboratorio de digitalización 3D e Ingeniería Asistida por Computador para el Procesamiento y Preservación de Alimentos (FoodDigiCAELab, <http://www.fooddigicaelab.uach.cl>), estos dos últimos pertenecientes a la Universidad Austral de Chile.

La investigación se realizó de la siguiente forma:

Laboratorio

Pre-proceso de esterilización.

- Confección de capilares con esporas de *B. stearothermophilus* y obtención de la población inicial.
- Determinación de la influencia de los rayos X sobre la población de esporas.
- Determinación de la influencia del capilar en la distribución de temperatura.

Post-proceso de esterilización.

- Determinación de la población sobreviviente de *B. stearothermophilus*

Planta

- Inserción del capilar y envasado del alimento.

- Tratamiento térmico en autoclave.
- Ubicación de la termocupla y el capilar en producto por medio de radiografías.

Modelación matemática del proceso de transferencia de calor

Simulación

Simulaciones preliminares (pre-procesamiento).

- Digitalización y modelado de una bolsa tipo.
- Estimación del tiempo de esterilización por simulación.

Simulaciones definitivas (post-procesamiento).

- Digitalización y modelado del alimento procesado térmicamente.
- Simulación de cada unas de las bolsas tratadas térmicamente.

Validación y Evaluación del tratamiento térmico

- Ajuste de curvas simuladas y experimentales de la termocupla.
- Comparación resultados experimentales y simulados del capilar.
- Determinación de la letalidad del proceso.

3.1 Parte experimental laboratorio

Al no existir comercialmente capilares con esporas de *Bacillus stearothermophilus* disponiendo solo de ampollas de un tamaño y volumen mucho mayor al requerido, surgió la necesidad de crear capilares de un volumen mucho menor y mas concentrado que los indicadores de esterilización que existen en la actualidad.

Para validar el proceso térmico por medio de métodos microbiológicos, fue necesario determinar la cantidad de esporas contenida en los capilares antes y

después del tratamiento térmico, por medio del método de recuento en placa en superficie sobre agar dextrosa peptona.

3.1.1 Preparación de la solución madre. Para elaboración se utilizó una suspensión de esporas de *Bacillus stearothermophilus* cepa ATCC 7953 disponibles comercialmente en ampollas de 2 ml (MERCK, Chile) (FIGURA 12). MERCK establece en la ficha de especificaciones de su producto, que sus ampollas varían en una concentración de 5×10^7 a 5×10^8 esporas/ml. Considerando que la concentración de esporas entre ampollas es muy variable, se preparó una solución madre de 4 ml utilizando para su elaboración dos ampollas comerciales.

3.1.1.1 Determinación de la concentración de la solución madre. La determinación de la concentración de la solución madre se realizó en una campana de flujo laminar (FIGURA 16) disponible en el Laboratorio del Ambiente de la SEREMI de Salud Región de los Ríos, donde se obtuvieron diluciones decimales en buffer fosfato de hasta 10^{-6} . Se tomaron 0,1 ml de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , y se sembraron sobre agar dextrosa peptona (MERCK, Chile) por triplicado (FIGURA 11) luego se llevaron a una incubadora Modelo 1535, (VWR Scientific Products Co., N.Y., U.S.A.) programada a 60 ± 1 °C (FIGURA 16). Una vez determinada la concentración, se tomaron las cantidades necesarias de la solución para la elaboración de los capilares. Según la concentración determinada, se calculó la cantidad de suspensión que se extrajo para logara una reducción de aproximadamente 4 ciclos logarítmicos en cada capilar.

3.1.1.2 Determinación del pH de la suspensión. Para la determinación del pH se utilizaron tiras de papel indicador y se midió directamente de una ampolla el pH obtenido fue aproximadamente de 7,0 con el cual se obtuvieron los parámetros cinéticos del *Bacillus stearothermophilus* (CUADRO 4).

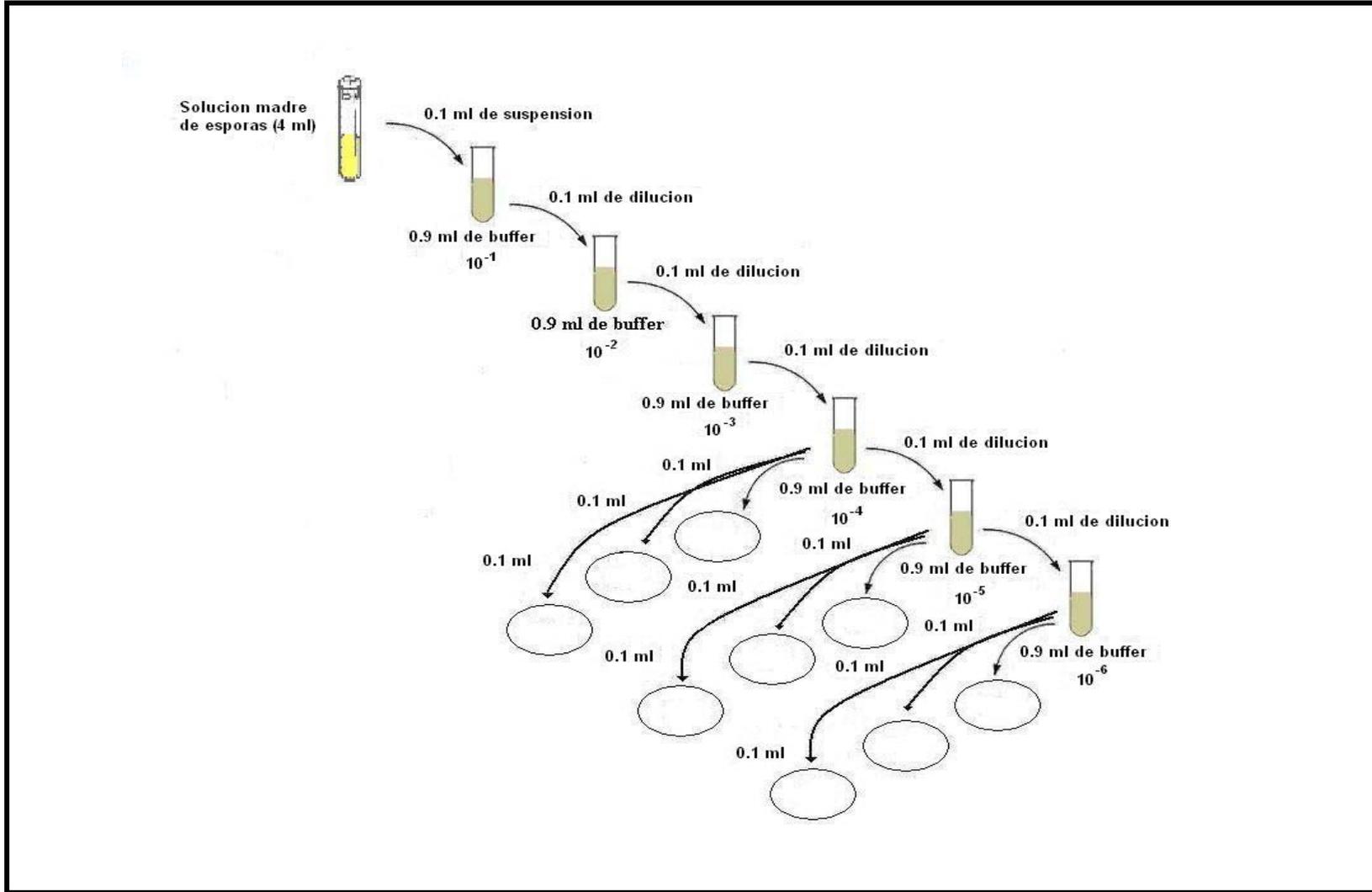


FIGURA 11. Procedimiento a seguir para la determinación de la concentración de la solución madre.

CUADRO 4. Resistencia del *B. stearothermophilus* a calor seco y a calor húmedo.

Cepa de <i>B. stearothermophilus</i>	Rango de temperatura investigada (°C)	Calentamiento en buffer fosfato (pH 7,0) o en agua		Calor seco	
		Valor D (min)	Valor Z (°C)	Valor D (min)	Valor Z (°C)
ATCC 7953	111-125	D ₁₂₁ =2,1	8,5		
ATCC 7953	110-120	D ₁₁₈ =10,0	5,7		
ATCC 7953	150-170			D ₁₆₀ =0,08	19
NCTC 10339	150-180			D ₁₆₀ =0,16	26-29

FUENTE: Adaptado de ROBINSON *et al.* (2000).

3.1.2 Confección de capilares. Se utilizaron tubos capilares MARIENFELD (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Alemania) (CUADRO 5) facilitados por el Laboratorio del Ambiente de la SEREMI de Salud Región de los Ríos (FIGURA 12). Los capilares se elaboraron de un largo de 5 cm aproximadamente y fueron sellados en ambos extremos con un soplete a gas propano Modelo TX9 (BERNZOMATIC Co., N.Y., U.S.A.) (FIGURA 13).

CUADRO 5. Especificaciones de los tubos capilares MARIENFELD.

Diámetro interno (mm)	1,1 – 1,2
Diámetro externo (mm)	1,5 – 1,6
Largo (mm)	75



FIGURA 12. Materiales elaboración de capilares (a) Suspensión de esporas de *Bacillus stearothermophilus*. (b) Tubos capilares MARIENFELD.

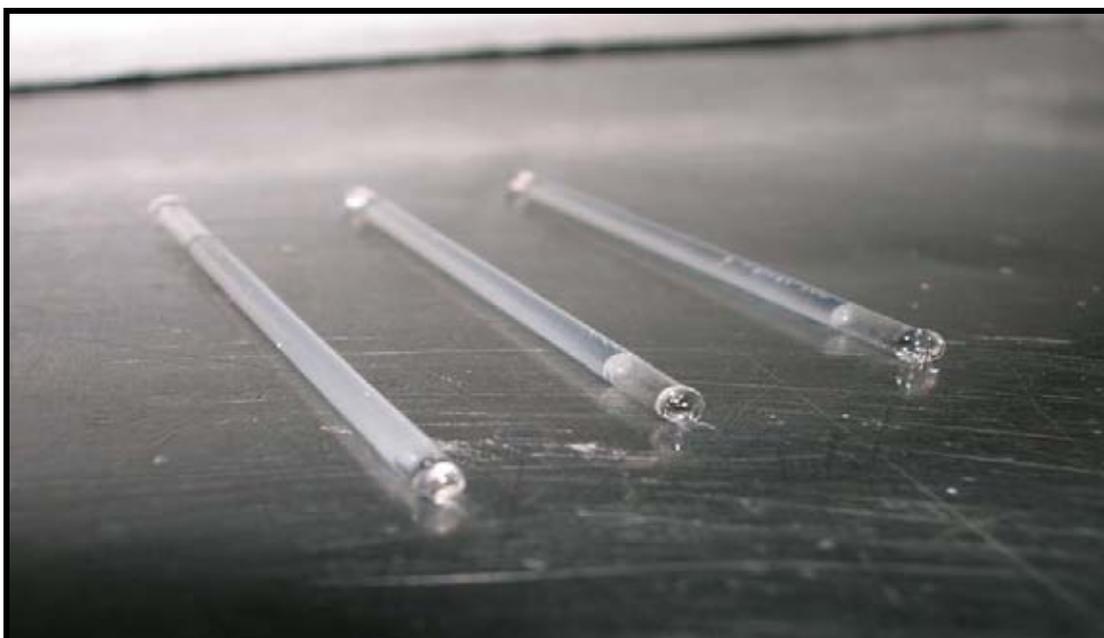


FIGURA 13. Suspensión de esporas contenida en los capilares elaborados.

Puesto que este microorganismo no afecta la salud pública del consumidor, el estándar que se establece generalmente no se basa en reducir su número por un factor de 10^{12} sino más corrientemente de 10^4 y 10^5 (4 y 5 ciclos logarítmicos). En base a los ciclos logarítmicos a reducir se calculó la población inicial a utilizar en los capilares.

Posterior a esto los capilares fabricados que no fueron ocupados inmediatamente, fueron almacenados entre $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ según lo recomendado por el fabricante.

- **Determinación de la cantidad inicial de esporas de los capilares.** Del lote elaborado se escogió al azar algunos de los capilares confeccionados, y se sembraron en superficie por triplicado sobre agar dextrosa peptona (FIGURA 14) recomendado por MERCK (2000) para detección de bacterias termófilas responsables de la descomposición ácida, este medio cumple las recomendaciones del NCA (*National Canners Association*, 1954; 1956), y el APHA (*American Public Health Association*, 1992). Posterior a esto se incubaron durante 48 h a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ al interior de bolsas plásticas para evitar la pérdida excesiva de agua y el quiebre del agar. Este recuento inicial confirmó que la solución madre fue correctamente homogeneizada antes de la confección de los capilares y que los capilares contienen la concentración deseada.

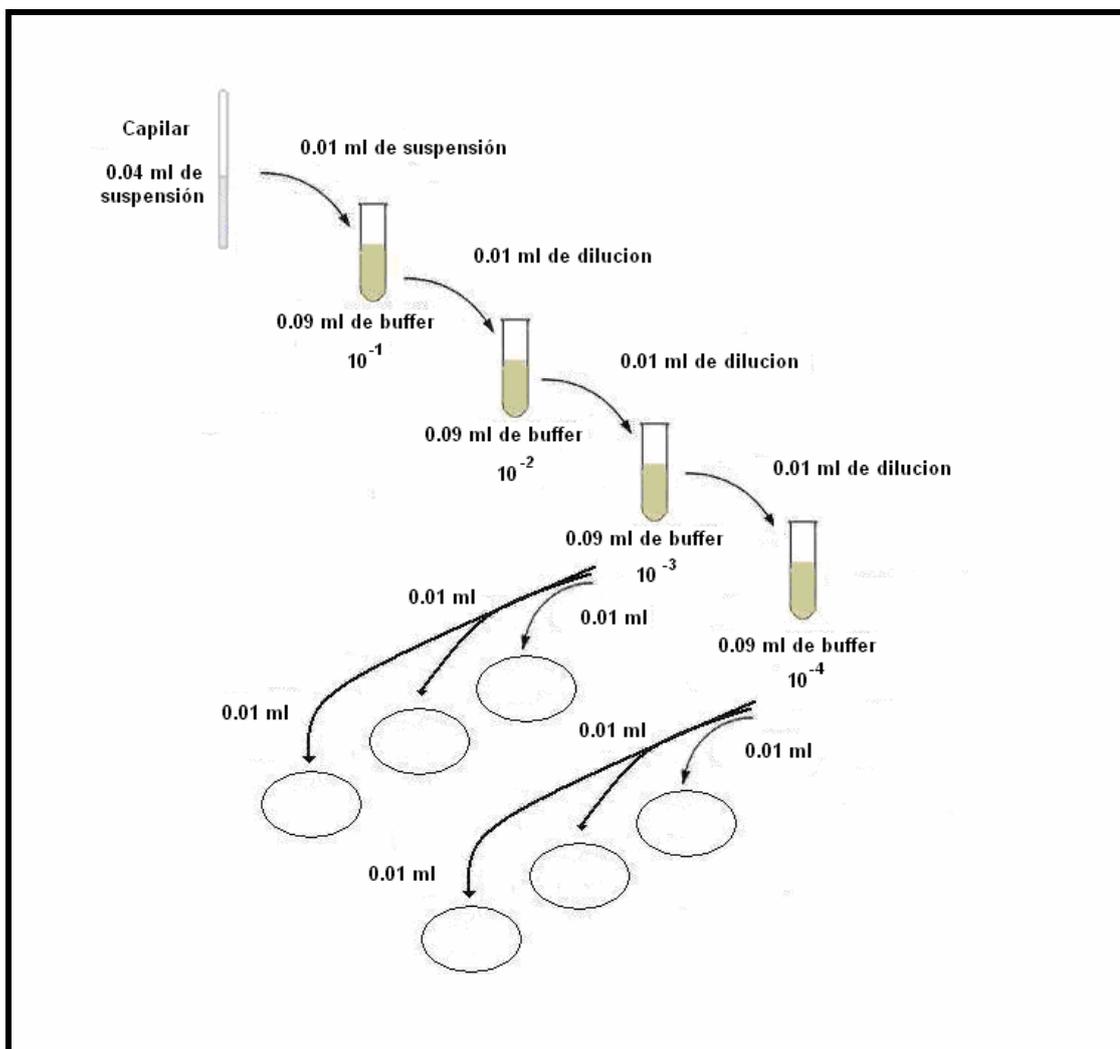


FIGURA 14. Procedimiento a seguir para la determinación de la cantidad inicial de esporas.

Luego de este periodo de incubación se utilizó un contador de colonias Bantex *Colony Counter* Modelo 900A (American Bantex Corp., Burlingame, CA) (ver FIGURA 16) para contar las unidades formadoras de colonias (UFC). Donde se identificaron colonias típicas del *Flat – sour*² en este caso de *Bacillus stearothermophilus*; colonias planas, con borde liso, un diámetro de 2-3 mm.,

² Agriado sin producción de gas o descomposición ácida

con un punto opaco central y por lo general son rodeados por una zona amarilla. MERCK (2000) (FIGURA 15).

La cantidad de esporas contadas inicialmente correspondió al valor N_0 utilizado en la sección 3.5.2.

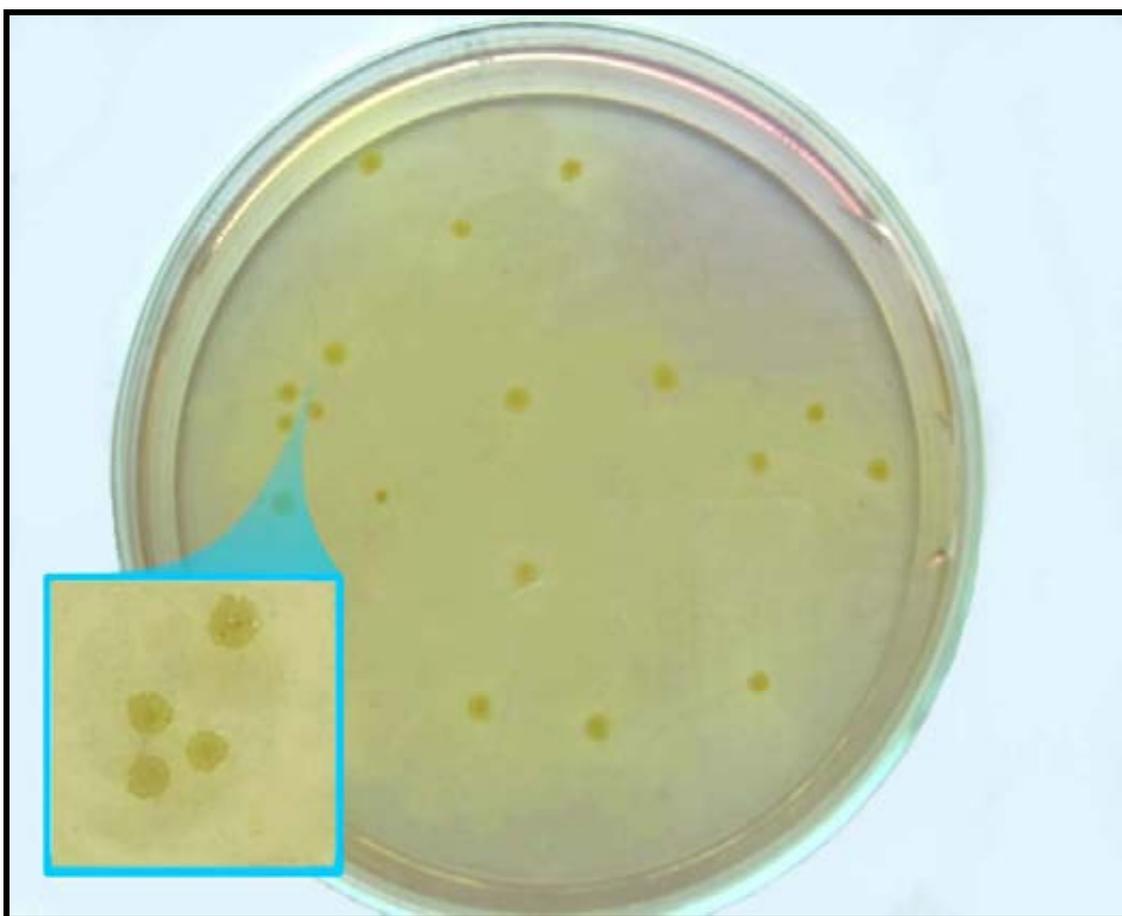


FIGURA 15. Colonias típicas de *B. stearothermophilus* sobre agar dextrosa peptona.



FIGURA 16. Equipos laboratorio. (a) Campana de flujo laminar. (b) Incubadora VWR Scientific Products. (c) Contador de colonias Bantex.

3.1.3 Determinación de la influencia de Rayos X sobre la cantidad de esporas sobrevivientes. Es conocido que la radiación es un procedimiento físico de conservación de alimentos que provoca sobre todo modificaciones en el ADN y en el ARN de diferentes microorganismos. Estas modificaciones provocan la inhibición del crecimiento e incluso la muerte de las células, MAFART (1994), la dosis efectiva de radiación para esterilización de microorganismos resistentes como esporas de *C. botulinum* y *B. pumilus* es de 25 kGy, mientras que la dosis máxima de irradiación de alimentos recomendada por la comisión FAO/OMS del *Codex Alimentarius* es de 10 kGy (SENDRA, 1996). Por esta razón fue de suma importancia determinar si la población de esporas contenida en los capilares insertos en el alimento, después de ser sometidas a un proceso de esterilización en autoclave y ser tomadas las radiografías correspondientes, quedó susceptible de ser afectada en número, al ser expuestas a energías ionizantes como es el caso de los rayos X.

El sistema de rayos X se compone de una equipo de rayos X Modelo DXD-350 II, (General Electric Co., Connecticut, EE.UU) (FIGURA 17) y una reveladora automática de películas radiológicas DAITO Modelo XP 1000, (DAITO Co., Japon) (FIGURA 18) disponibles en el hospital veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.

Cada muestra evaluada contaba con un capilar de 0,04 ml de suspensión. De este capilar se tomaron 0,01 ml para realizar las diluciones, y de la dilución 10^{-4} se sembraron 0.01 ml sobre agar dextrosa peptona para su recuento.

El CUADRO 6 muestras las bolsas que fueron expuestas a diferentes dosis de rayos X para el plano XY como para el plano ZX. Estas muestras estaban en las mismas condiciones con las que fueron expuestos los conos de jurel envasados



FIGURA 17. Equipo de rayos X General Electric.



FIGURA 18. Equipo revelador DAITO.

al vacío utilizados en este trabajo (precocción, dimensiones de los conos, envasado al vacío, etc.). Luego de expuestos se realizó un recuento de las esporas sobrevivientes comparando con un blanco que no fue expuesto a la acción de estos rayos. Para determinar si existían diferencias significativas entre recuentos, se realizó un análisis de varianza, y una prueba de Tukey al 95% de confianza.

CUADRO 6. Pruebas de exposición a rayos X.

Muestras	Dosis de exposición (a 8 cm de distancia)
Conos bolsa 1	Plano XY: 42 kV; 0,03 s; 100 mA Plano ZX: 52 kV; 0,03 s; 100 mA
Conos bolsa 2	Plano XY: sin exposición a rayos X Plano ZX: sin exposición a rayos X
Conos bolsa 3	Plano XY: 82 kV; 0,1 s; 100 mA Plano ZX: 82 kV; 0,1 s; 100 mA
Conos bolsa 4	Plano XY: 42 kV; 0,03 s; 100 mA Plano ZX: 52 kV; 0,03 s; 100 mA
Conos bolsa 5	Plano XY: sin exposición a rayos X Plano ZX: sin exposición a rayos X
Conos bolsa 6	Plano XY: 82 kV; 0,1 s; 100 mA Plano ZX: 82 kV; 0,1 s; 100 mA

3.1.4 Influencia del capilar en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico. Con el objetivo de determinar si el flujo de calor que se distribuye al interior del capilar es el mismo que se distribuye en el resto del alimento durante el tratamiento térmico, se sometieron 3 muestras (I, II, III) con dos conos cada una de aproximadamente 35 mm de diámetro a un proceso de

esterilización de 40 min de tiempo de operador. En cada una de las bolsas se insertaron 2 termocuplas, una al interior capilar y otra fuera, luego fueron unidas con silicona roja para ser ubicadas y fijadas en el punto medio del capilar, a su vez el capilar fue llenado con agua para imitar el medio donde se encontraban las esporas suspendidas.

3.1.5 Cuantificación de la cantidad de esporas sobrevivientes después del tratamiento térmico. Una vez finalizado el tratamiento térmico se realizó un recuento de esporas de *Bacillus stearothermophilus* que resistieron el tratamiento térmico, sembrando directamente en superficie sobre placas con agar dextrosa peptona 0,01 ml de cada capilar por triplicado (FIGURA 19).

La cantidad de esporas recuperadas después del tratamiento térmico correspondieron al valor de N_f utilizado en la sección 3.5.2

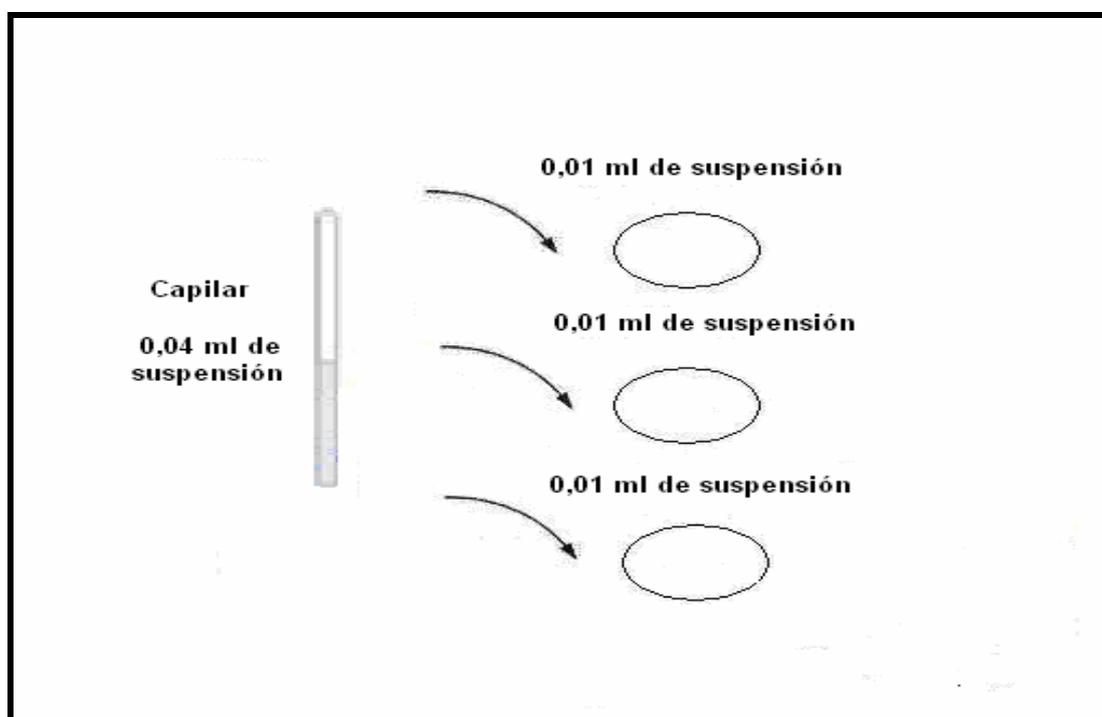


FIGURA 19. Procedimiento a seguir para la cuantificación de la cantidad de esporas sobrevivientes.

3.2 Parte experimental planta.

Consiste básicamente en la preparación y ejecución del tratamiento térmico de esterilización. El tiempo de proceso utilizado se ajustó al previamente estimado con una bolsa tipo, obtenido por simulación computacional para una $F_{\text{requerido}}$ de 8,4 min (aprox. 4 ciclos logarítmicos).

3.2.1 Inserción y envasado del alimento

3.2.1.1 Selección y preparación del alimento. El alimento empleado para la investigación fue jurel (*Trachurus symmetricus murphyi*) obtenidos de la feria fluvial de Valdivia (FIGURA 20). El cual fue cortado en forma de conos truncados que luego fueron envasados cada dos unidades para su posterior procesamiento. Los envases utilizados en la investigación fueron bolsas esterilizables proporcionadas por la Pesquera San José³ (FIGURA 21). Estos envases están compuesto de 4 laminas, desde interior al exterior del envase son; polipropileno, lámina de aluminio, nylon y poliéster (CUADRO 7). Que permiten conservar un producto alimenticio por un periodo de tiempo prolongado que va desde 18 meses hasta 4 años. Su estructura ha sido diseñada para soportar temperaturas sobre los 121 °C por lo que tiene una gran fuerza de tensión e impermeabilidad a los gases (ALUSA S.A.⁴).

³ Pesquera San Jose S.A. Avda el Bosque Norte 0440 p10; Las Condes Santiago. Sitio Web <http://www.sanjose.cl>.

⁴ Alusa S.A. Av. Pdte Eduardo Frei M. 9160, Quilicura Santiago. Sitio Web <http://www.alusa.cl>.



FIGURA 20. Jurel (*Trachurus symmetricus murphyi*).

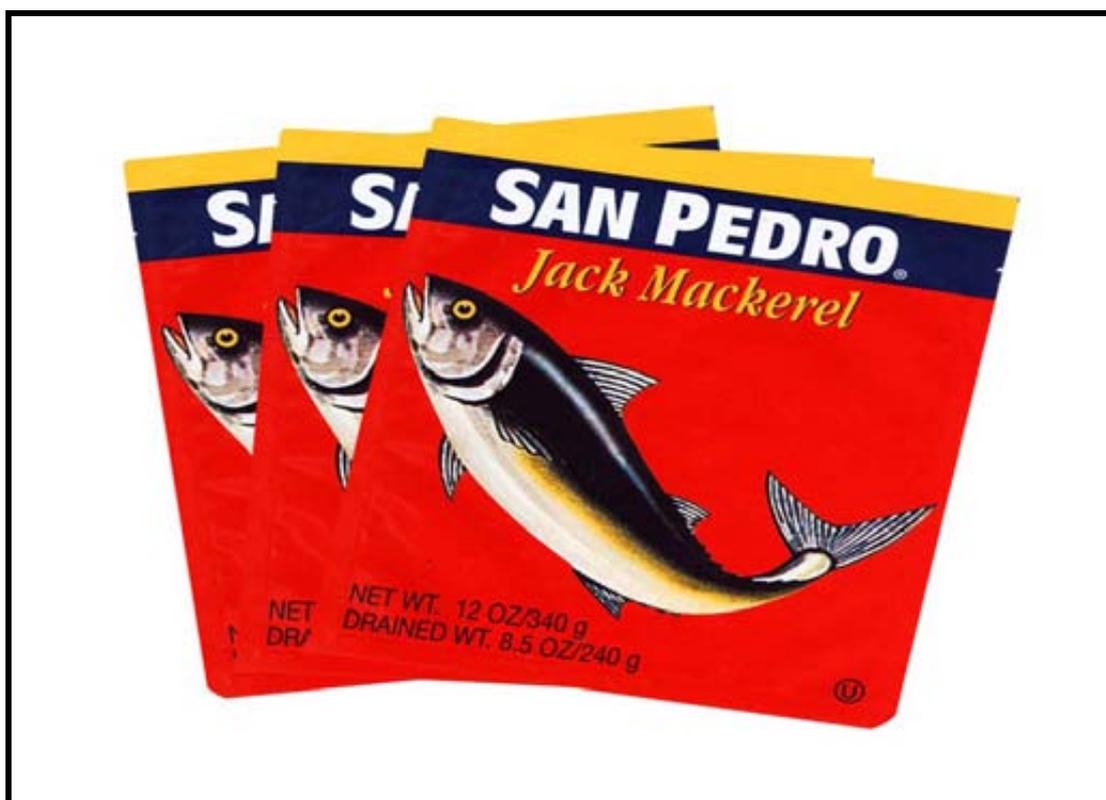


FIGURA 21. Bolsa flexibles esterilizables utilizadas.

CUADRO 7. Especificaciones bolsas esterilizables.

SAN PEDRO JACK MACKEREL (ROJO)	
Descripción	PET 12 μ impreso en reversa laminado a cara opaca de Al. 9 μ , laminado a OPA. 15 μ por cara brillante del Al. Y laminado a CP P70 μ .
Peso completo (g/m ²)	137,1
Resistencia del sello (kg/15 mm)	6
Ancho total de la bolsa (mm)	170
Alto total de la bolsa (mm)	200
Control de explosión (PSI/ 30 s)	18
Ancho sello lateral (mm)	10
Espesor (pulg)	0,0043

FUENTE: ALUSA (2006).

Los conos de jurel se clasificaron de acuerdo a largo y diámetro donde el largo utilizado fue de 11,3 cm y el diámetro escogido de 33 a 37 cm (FIGURA 22). Se mantuvieron congelados hasta su utilización. Antes del envasado del alimento se realizar una precocción del alimento a 95 °C por 7 minutos a fin de deshidratar parcialmente la carne y evitar que durante el tratamiento en autoclave se liberen fluidos que se acumularían en el envase (WARNE 1989), evitar la excesiva variación del peso drenado del producto después del tratamiento térmico (LAROUSSE, 1997) y eliminar el aire ocluido en el tejido del producto MAFART (1991).



FIGURA 22. Jurel cortado en forma de conos truncados.

3.2.1.2 Inserción de los capilares en el alimento. Los capilares se ubicaron en la parte más gruesa de los conos de jurel en lo que podría ser la proximidad al punto más frío luego se metieron en bolsas esterilizables y finalmente se pasaron por una envasadora al vacío Plaspak Modelo KVP-65OT, (Plaspak Maquinarias Ltda., Santiago, Chile) (FIGURA 24) para su posterior esterilización, cuando no fueron esterilizadas inmediatamente, se almacenaron en condiciones de refrigeración a una temperatura de +2 hasta +8 °C.

3.2.1.3 Inserción de las termocuplas. Antes del envasado al vacío se instaló un dispositivo de cobre (FIGURA 23) en las bolsas esterilizables por medio del cual se permitió la entrada de la termocupla a la bolsa. Se instaló la termocupla en la parte más gruesa de los conos de jurel, pensando siempre en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento, tanto la termocupla como el capilar se insertaron juntos en los conos de jurel, posterior a esto se sellaron la vacío.



FIGURA 23. Dispositivo de bronce para la entrada de termocupla.

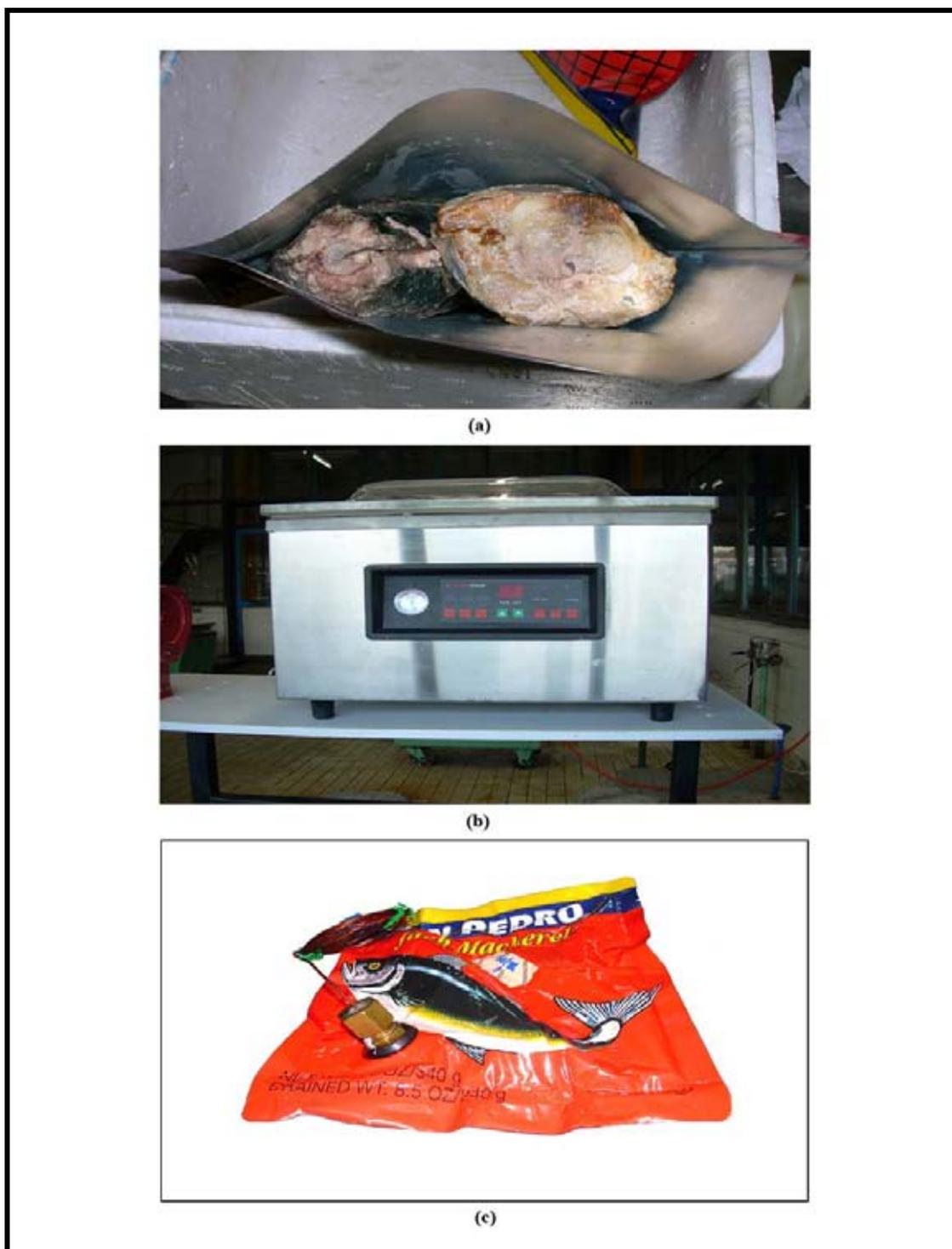


FIGURA 24. Envasado al vacío. (a) Conos truncados en bolsas esterilizables. (b) selladora a vacío. (c) Conos de jurel envasados al vacío.

3.2.2 Preparación del sistema de adquisición de datos.

3.2.2.1 Calibración de las termocuplas. Para la medición de temperatura se utilizaron termocuplas tipo T flexibles (cobre-constantán) Kapton® calibre 30 y 36 cuyas especificaciones se detallan en el CUADRO 8, estas fueron conectadas mediante cables compensados tipo T, calibre 20 Modelo A-93785-14 a un registrador de temperatura de 12 canales DIGI-SENSE (*Data Logger*), Modelo IL 60010 (Barnant Co., Barrington, U.S.A) (FIGURA 25). Las termocuplas fueron calibradas mediante un termómetro patrón por el método de puntos fijos, es decir, al punto de ebullición del agua a 100 °C y al punto del fusión del hielo a 0 °C a condiciones de presión atmosférica a nivel del mar, este método de calibración es recomendado por NICHOLAS y WHITE, (1994) para cualquier tipo de termocupla y se realiza previo a cada ensayo.

3.2.2.2 Configuración del registrador de temperatura. Se registraron los datos de temperaturas de todas las termocuplas a un intervalo de cada 4 segundos, para lo cual se utilizó el programa de captura de datos Scanlink V2.0 (Copyright© Barnant Company 2001) y un computador portátil Pentium 3 con sistema operativo Microsoft® Windows® XP Profesional (FIGURA 24).

CUADRO 8. Especificaciones de las termocuplas Kapton®.

TIPO	T
Rango de temperatura	-418 a 759 °F (-250 a 404 °C)
Diámetro	0,010" (0,508 mm)
Longitud del Cable	5 ft (1,524 m)
Conexiones	Mini conector
Empalme	Expuesto
Tiempo de Respuesta	0,5 s

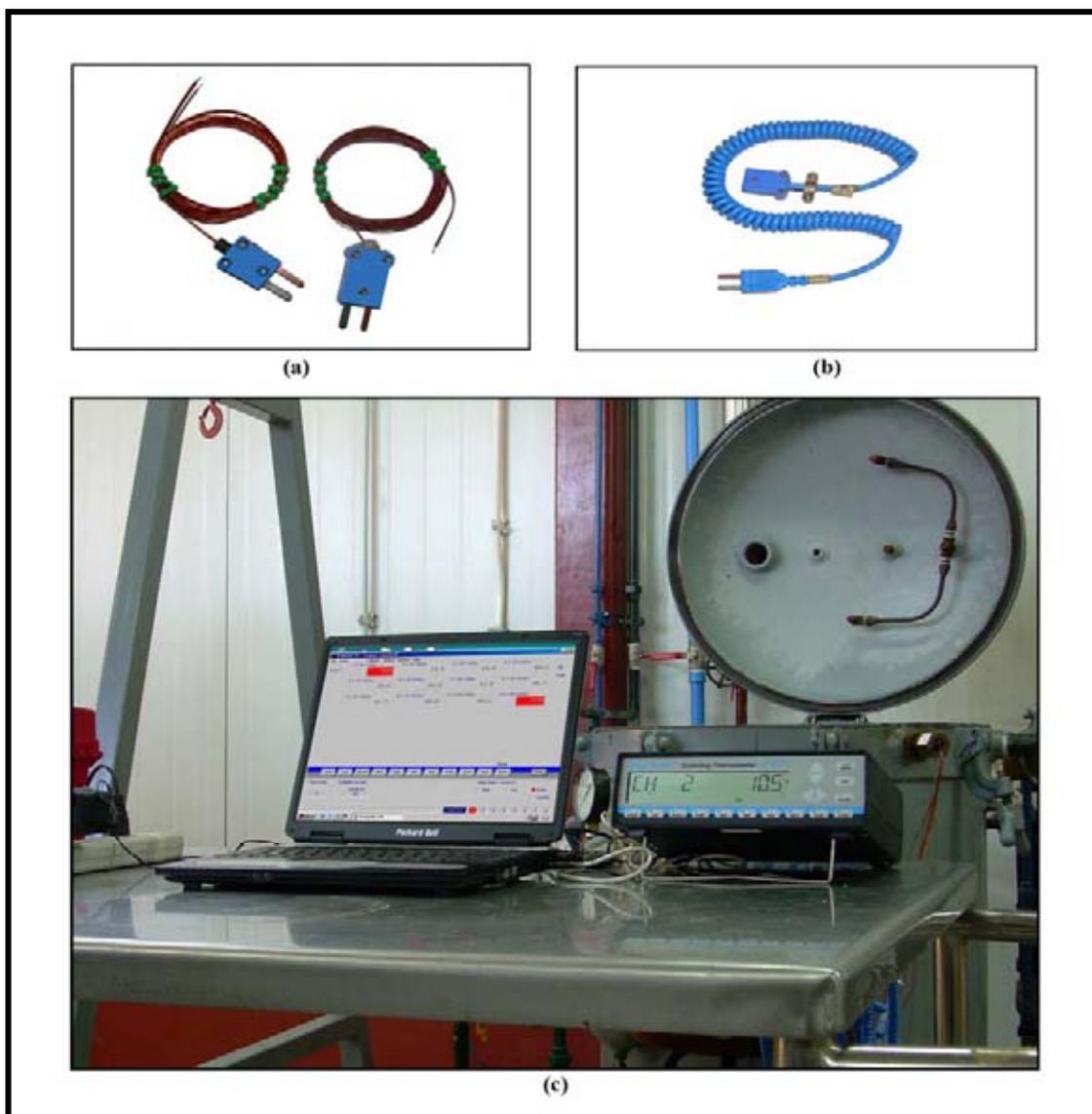


FIGURA 25. Sistema de medición y captura de datos. (a) Termocuplas tipo T (cobre-constantán) calibre 30 y 36. (b) Cables compensados tipo T. (c) Computador personal, software Scanlink V2.0 y registrador de temperatura de 12 canales DIGI-SENSE.

3.2.3 Preparación del sistema de esterilización. El sistema de esterilización utilizado (FIGURA 26) estaba compuesto por un autoclave vertical Dixie Canner Equipment Modelo RDSW-3 (Dixie Canner Co., Georgia, U.S.A) que además disponía de un sistema de medición de presión y temperatura incorporado, Manómetro “USG”, con un rango de presión de 0 a 60 *psi* y un termómetro

“TRERICE” con una rango de temperatura de 80 - 130 °C. Un compresor 50 L Modelo 550lpurs 10-2415D111, (CompAir Hydrovane Ltda, Redditch, Reino Unido) y un sistema auxiliar de alimentación de agua a alta presión, bomba centrífuga “PEDROLLO” de un 1 HP de potencia (PEDROLLO S.p.A, San Bonifacio, Verona, Italia).

- **Acondicionamiento del sistema de aire comprimido.** El objetivo fue comprobar que la presión de vapor de suministro de la caldera junto con la presión de carga del compresor estaba funcionando correctamente. Debiendo estar entre 90 y 100 psig para la primera y para la segunda de 15 psig. Esto es de vital importancia para suministrar correctamente el aire comprimido y lograr la sobrepresión durante el tratamiento térmico realizado.

3.2.4 Tratamiento térmico en autoclave. Los tratamientos térmicos aplicados fueron dos a $116 \pm 0,5$ °C (CUADRO 9) con un tiempo de operador de $71 \pm 0,5$ min y un tiempo de elevación de la temperatura (CUT) de 8 a 9 min.

CUADRO 9. Número de muestras tratadas para cada temperatura.

Producto	Temperatura de autoclave (°C)	Muestras tratadas
Conos de jurel	116	3

Durante el periodo de calentamiento, es necesario vencer la tendencia de los gases dentro de los envases flexibles o semirígidos a expandir y retardar la transferencia de calor y durante el periodo de enfriamiento impedir que las presiones de vapor internas pudieran tender a deformar o hacer estallar el envase MITCHELL (2002).



FIGURA 26. Sistema de esterilización. (a) Autoclave vertical. (b) Sistema de medición de presión y temperatura. (c) Compresor Hydrovane. (d) Bomba centrífuga Pedrollo.

En base a lo anterior la sobrepresión que se utilizó fue de 0,2 a 0,7 kg/cm² según lo recomendado por LAMPI, (1977). Esta sobrepresión se aplicó a partir del término del CUT sobre la presión de equilibrio del vapor (14 *psi*) a la temperatura de proceso, hasta que el producto llegó aproximadamente a 100 °C en la etapa de enfriamiento, mejorando de esta forma la transmisión de calor.

3.2.5 Ubicación espacial de la termocupla y el capilar en el producto. Si bien capturar los datos tiempo/temperatura del punto de más lento calentamiento/enfriamiento es casi imposible de forma experimental y se convierte más en un factor de suerte que de estrategia de procedimiento, es de mayor utilidad validar el tratamiento térmico en base a los datos tiempo/temperatura del punto donde se encuentra el extremo sensible de la termocupla en el interior del alimento y el capilar. Con la localización exacta de estos puntos en el alimento (coordenadas *x, y, z*) por medio de radiografías, se pudo obtener las coordenadas y el nodo correspondiente a estas coordenadas en modelo digital simulado en ALGOR®. De la misma forma se pudo obtener por medio de radiografías las coordenadas de cada punto (P1, P2, P3) de los capilares y su correspondiente nodo.

Con el objetivo de obtener la ubicación espacial de la termocupla y del capilar al interior del alimento y posterior ubicación del nodo, se utilizó la técnica de ubicación por medio de radiografías implementada por PEREZ (2007). Las radiografías fueron tomadas en dos planos *XY* y *XZ* para cada bolsa, una vez obtenidas las coordenadas físicas se llevó a coordenadas de Rhinoceros®, y se buscaron los nodos correspondientes a estas coordenadas en modelo digital simulado en ALGOR®.

3.3 Modelación matemática del proceso de transferencia de calor.

El modelo matemático utilizado para la representación del proceso de esterilización (etapas de calentamiento y enfriamiento) de alimentos sólidos envasados al vacío de formas irregulares complejas considerar los siguientes supuestos para la solución numérica del modelo matemático en elementos finitos:

- El alimento se considera como un sólido de composición uniforme e isotrópica.
- La transferencia de calor al interior del alimento se realiza exclusivamente por conducción, desde que no se añade líquido de cobertura a la conserva.
- Las bolsas poseen un alto grado de vacío, lo cual indica que no es un factor crítico que afecte la transferencia de calor por conducción.
- La variación de volumen y de área superficial por efecto del tratamiento térmico son despreciables.
- Las propiedades termofísicas, conductividad térmica (k) y calor específico (Cp) del producto son función de la temperatura.
- La densidad (ρ) del producto es considerado constante dado que el cambio de volumen del producto es despreciable.

Se consideró un proceso de conducción de calor transiente con propiedades termofísicas variables con la temperatura y sujeto a condiciones de borde (temperatura del medio y coeficiente global de transferencia de calor) variables con el tiempo.

Se consideró además simetría térmica debido a que la carga (número de bolsas) puesta en el autoclave era menor y el tamaño de las bolsas era pequeño lo que provocó una distribución de vapor uniforme.

3.3.1 Ecuación de gobierno. La ecuación tridimensional general que representa el fenómeno de transferencia de calor por conducción en el interior del alimento sólido, isotrópico y composición uniforme, con propiedades termofísicas (k , C_p) dependientes de la temperatura, expresada en coordenadas rectangulares, puede ser descrita como sigue:

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial z} \right) = C(T) \frac{\partial T}{\partial t} \quad (3.1)$$

Siendo:

$$C(T) = \rho \cdot C_p(T), \text{ el calor específico volumétrico (J/m}^3 \text{ K).}$$

3.3.2 Condiciones iniciales.

$$\text{Etapa de calentamiento: } T(x, y, z, 0) = T_{in}; \text{ para todo } x, y, z, t = 0 \quad (3.2)$$

$$\text{Etapa de enfriamiento: } T_{in}(x, y, z, t_g) = T_g(x, y, z); \text{ para todo } x, y, z, t = t_g \quad (3.3)$$

La ecuación (3.2) indica que la temperatura inicial es uniforme en todos los puntos (nodos) del dominio, en tanto que la ecuación (3.3) muestra que la temperatura inicial de cada nodo del dominio para la etapa de enfriamiento es la condición alcanzada al finalizar la etapa de calentamiento (tiempo t_g).

3.3.3 Condiciones de borde considerando un dominio 3D.

Etapa de calentamiento:

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_1(t) \cdot [T_{a_1}(t) - T_{S1}] \text{ sobre la superficie limite } S1, t > 0 \quad (3.4)$$

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_1(t) \cdot [T_{a_1}(t) - T_{S2}] \text{ sobre la superficie limite } S2, t > 0 \quad (3.5)$$

Etapa de enfriamiento:

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_2(t) \cdot [Ta_2(t) - T_{S1}] \text{ sobre la superficie limite } S1, t > 0 \quad (3.6)$$

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_2(t) \cdot [Ta_2(t) - T_{S2}] \text{ sobre la superficie limite } S2, t > 0 \quad (3.7)$$

Donde:

U = coeficiente global de transferencia de calor

Ta = temperatura del medio

Ts = temperatura de la superficie del material

S = superficie límite de la bolsa esterilizable expuesta a la condición de frontera (porciones superficiales S_1 y S_2)

$\frac{\partial T}{\partial n}$ = gradiente de temperatura normal a la superficie

Las ecuaciones (3.4 - 3.7) representan las condiciones de simetría térmica, en todas las etapas (CUT, calentamiento y enfriamiento). El modelo matemático toma en cuenta la variación del coeficiente global de transferencia de calor y la temperatura del autoclave durante las etapas de CUT, calentamiento, y enfriamiento [$U(t)$ y $T_a(t)$]. El coeficiente U incorpora el efecto de la resistencia térmica convectiva del medio y la resistencia térmica conductiva del envase flexible. El dominio irregular complejo compuesto por las superficies S_1 y S_2 , representa las condiciones de asimetría geométrica (FIGURA 27).

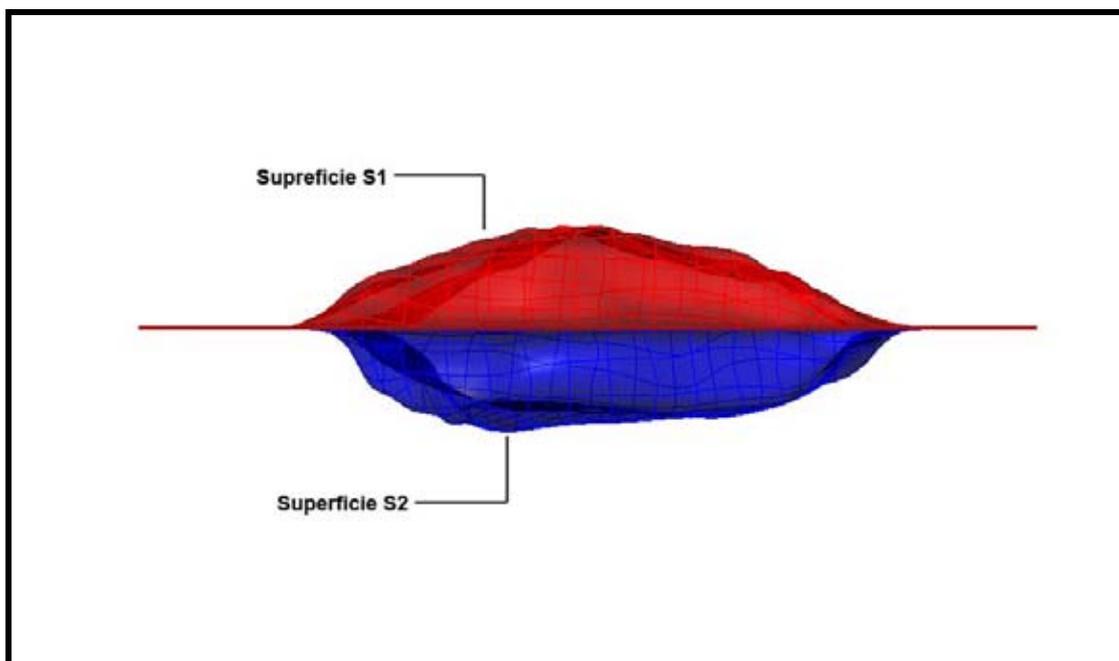


FIGURA 27. Superficies expuestas al medio de esterilización.

3.4 Simulación del tratamiento térmico

La simulación del proceso térmico se realizó en una primera instancia con el objetivo de estimar el tiempo de proceso disminuyendo la cantidad de pruebas experimentales a realizar. El tiempo de proceso obtenido por simulaciones preliminares fue el que alcanzó un valor esterilizante de 4 ciclos logarítmicos (para un F_0 requerido de 8,4 min) para una población inicial de aproximadamente 10^6 esporas. Una vez hallado el tiempo de 71 min y aplicado el tratamiento térmico se realizaron las simulaciones definitivas para cada bolsa bajo las mismas condiciones a las que fueron procesadas, esto permitió obtener los datos simulados tanto para la termocupla como para el capilar que se utilizó para la validación.

Los procedimientos que se enumeran y describen en esta etapa, se realizaron tanto para las simulaciones preliminares como para las definitivas.

3.4.1 Obtención del modelo digital 3D.

3.4.1.1 Trazado de malla. Para la obtención del modelo digital primero se realizó un trazado de la malla (FIGURA 28) que cubrió toda la superficie del alimento, de preferencia el trazado debe realizarse antes del envasado del alimento, para lograr una malla lo más homogénea y pareja posible. Se dibuja por lo general de 1 cm² o menos de dependiendo del tamaño del envase o del alimento, mientras menor sea el tamaño de malla mayor será similitud del modelo real al modelo digital obtenido. A su vez mientras menor es el tamaño del alimento o envase menor deberá ser el tamaño de malla para capturar la mayor cantidad de detalles del modelo real.



Figura 28. Trazado de malla de 1 cm².

3.4.1.2 Captura de puntos. Para la captura de puntos se utilizó el procedimiento de reconstrucción de superficies implementada por PINO (2004), que divide la bolsa en dos superficies para una digitalización más fácil del modelo. Un computador personal (PC) Pentium 4 de 3.0 MHz, 2Gb de RAM y 256 Mb en video, con sistema operativo Microsoft® Windows® XP profesional, Service Pack 2, con puerto serial RS-232 al cual fue conectado a un brazo digitalizador 3D Microscribe-G2L™ (Immersion Co., San José, CA, USA), con exactitud de punta aguja de 0.64 mm y también se utilizó una plataforma de madera donde se fijó el modelo real con masilla adhesiva removible para evitar que se mueva durante la captura (FIGURA 29).



FIGURA 29. Captura de puntos.

3.4.1.3 Generación del modelo digital. Finalizada la captura de puntos de ambas superficies en el software de diseño y modelado 3D de superficies NURBS Rhinoceros® 4.0 (Robert McNeel & Associates, Seattle, WA, USA) fue necesario recurrir a las técnicas de modelado (FIGURA 30 y 31) para juntar ambas partes y afinar detalles con el fin de obtener un modelo digital lo más parecido en lo posible al modelo original (FIGURA 32).

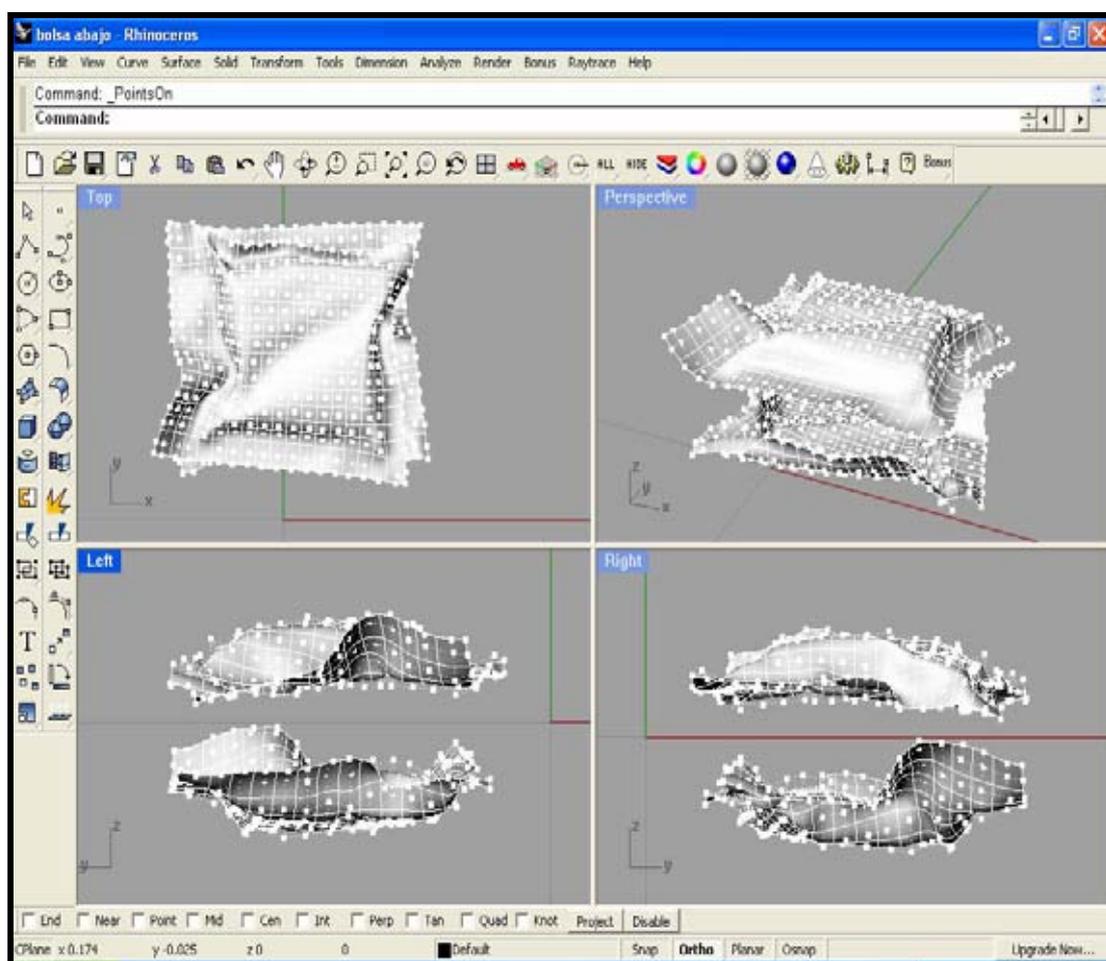


FIGURA 30. Superficie superior e inferior obtenidas del modelo real por medio de digitalización.

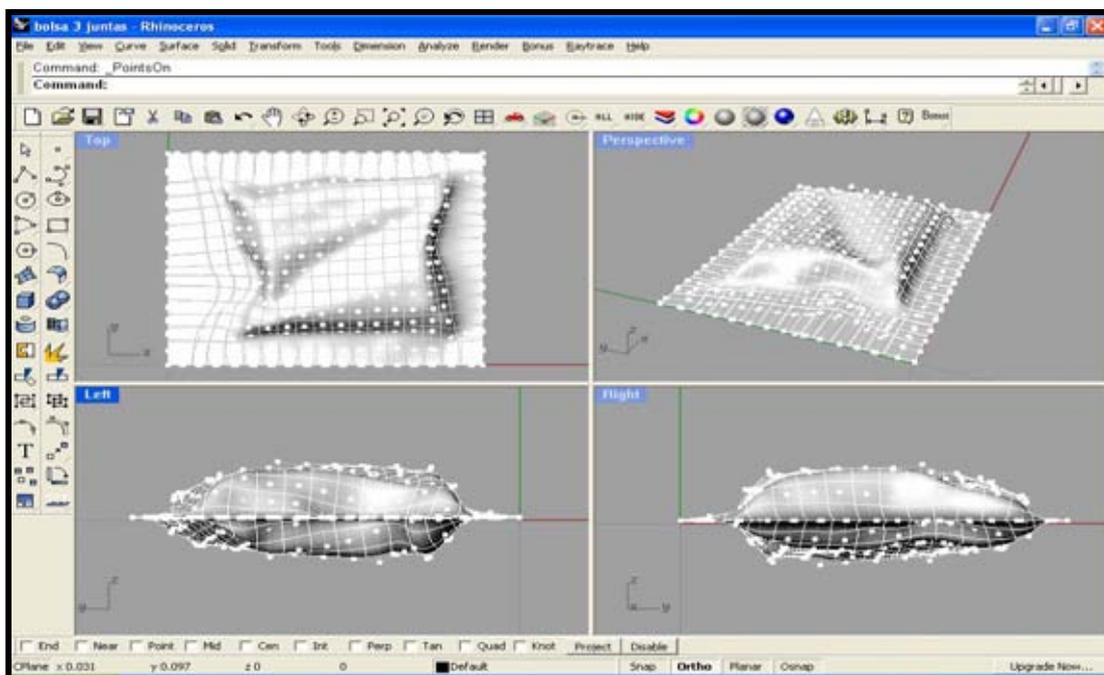


FIGURA 31. Modelado 3D en Rhinoceros 4.0.

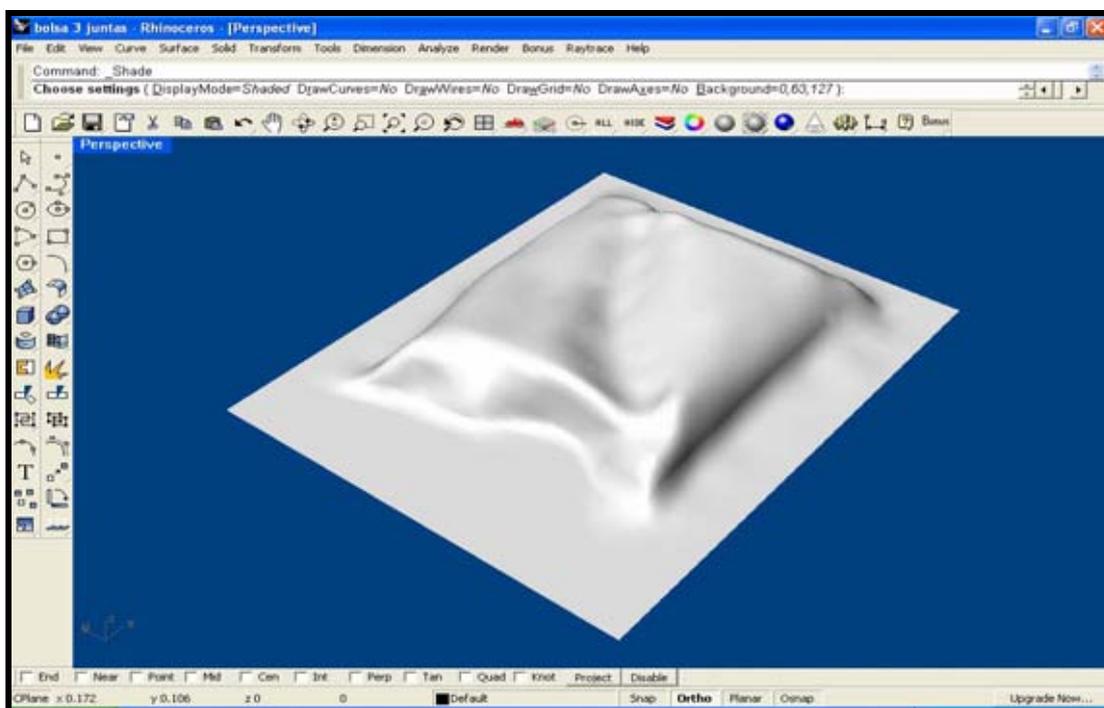


FIGURA 32. Modelo digital.

3.4.2 Parámetros de simulación.

3.4.2.1 Propiedades termofísicas. A partir de la composición proximal que se muestra en el CUADRO 10 se obtuvieron las propiedades termofísicas por medio del Software FoodProperty® v1.0, disponible en el sitio Web <http://www.wamfoodlab.uach.cl/>

CUADRO 10. Composición proximal del jurel

Composición	Fracción másica
Agua	0,73
Proteínas	0,219
Lípidos	0,038
Carbohidratos	0,012
Extracto no nitrogenado	0,001

FUENTE: SCHMIDT y HEBBEL (1992).

La densidad del jurel utilizada a 100 °C es de 1017 kg/m³, el resto de las propiedades termofísicas variables con la temperatura, calor específico (C_p) y conductividad térmica (k) en el rango de temperatura utilizado en esta investigación, se incluye en el ANEXO 1.

3.4.2.2 Determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U).

Para la determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U) se utilizó el Método de la Capacidad Calorífica Global “*Lumped Capacitance Analysis*”. Según DIAZ (2000) el coeficiente convectivo de transferencia de calor constituye el factor proporcional que representa la resistencia a la transferencia de calor entre el fluido de calentamiento/enfriamiento y la superficie de un sólido; por ello, es el factor físico que controla la razón de intercambio de calor entre el medio y el producto.

ZURITZ y SASTRY, (1990); SIMPSON **et al.**,(2004) citado por PEREZ (2007) afirman que en el caso de los alimentos envasados en bolsas esterilizables, existe una resistencia adicional otorgada por el envase, razón por la cual se utiliza el coeficiente global de transferencia de calor (U) que involucra todas las resistencias desde afuera hasta el alimento.

Para tomar en cuenta esta resistencia adicional de la bolsa, se utilizó la siguiente (SIMPSON **et al**, 2004):

$$\frac{1}{U} = \left[\frac{1}{h} + \frac{e_p}{k_p} \right] \quad (3.8)$$

Donde:

U = coeficiente global de transferencia de calor ($W/m^2 K$).

h = coeficiente convectivo de transferencia de calor ($W/m^2 K$).

e_p = espesor del material (m).

k_p = conductividad del material ($W/m K$).

La determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U) se llevó a cabo mediante el registro del historial tiempo – temperatura de cilindros de cobre (99% pureza), de dimensiones y propiedades conocidas, envasados al vacío en bolsas esterilizables.

El coeficiente global de transferencia de calor (U) se determinó para intervalos de tiempo mediante la siguiente ecuación:

$$U = - \left[\left(\frac{Cp \cdot \rho \cdot V}{A \cdot t} \right) \cdot \ln \left(\frac{T_\infty - T}{T_\infty - T_0} \right) \right] \quad (3.9)$$

Donde:

- T_{∞} = Temperatura del medio ($^{\circ}\text{C}$).
 T = Temperatura en el tiempo t ($^{\circ}\text{C}$).
 T_0 = Temperatura inicial en el intervalo evaluado ($^{\circ}\text{C}$).
 C_p = Calor específico ($\text{J}/\text{kg } ^{\circ}\text{C}$).
 ρ = Densidad (kg/m^3).
 V = Volumen (m^3).
 A = Área (m^2).
 t = tiempo de intervalo (s).

3.4.3 Simulación del proceso térmico en ALGOR. Una vez creado el modelo digital Rhinoceros® se procedió a simular el tratamiento térmico de esterilización con el modelo obtenido. Para lo cual fue necesario llevar el modelo obtenido desde el software Rhinoceros® a un software CAE como es el software de simulación por método de Elementos Finitos ALGOR v20.1 SP1 (ALGOR, Inc., Pittsburg, PA). Una vez importado el modelo el escenario de diseño elegido fue un “análisis de transferencia de calor transiente” (FIGURA 33), ya que la transmisión de calor por conducción en conserva tiene lugar siempre en estado no estacionario, es decir, que la temperatura en un punto del alimento es función de su posición geométrica y del tiempo transcurrido (RODRIGO y SAFON, 1982).



FIGURA 33. Escenario de diseño.

3.4.3.1 Generación de la malla. ALGOR® muestra dos formas de elegir el tamaño de la malla.

- la primera en porcentaje, donde el generador de malla del software calcula automáticamente un tamaño de malla basado en el porcentaje ingresado multiplicado por el tamaño de malla por defecto.
- La otra opción es ingresar el tamaño absoluto de malla, donde el generador de malla intentará hacer la malla sobre el modelo usando aproximadamente el tamaño de malla ingresado. El número ingresado aquí corresponde a la longitud aproximada de los lados de los elementos. El tamaño absoluto de malla elegido fue de 0,003 mm (FIGURA 34 Y 35).

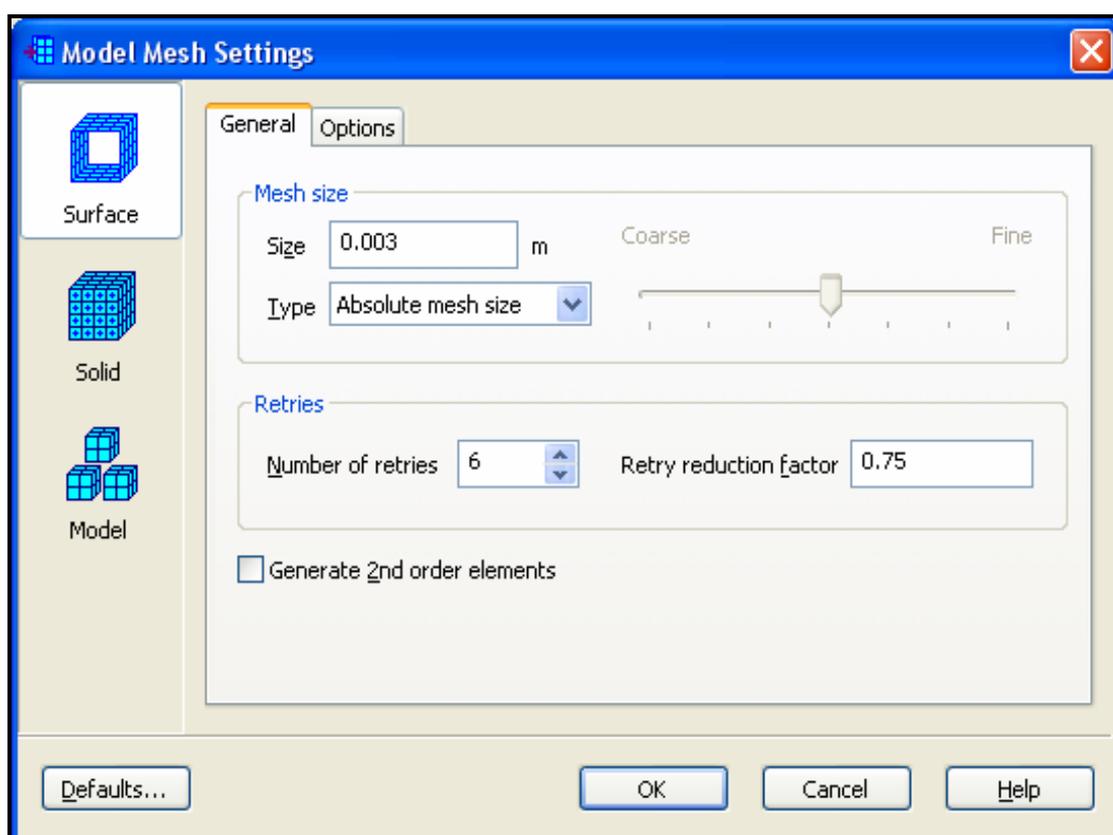


FIGURA 34. Generación de la malla.

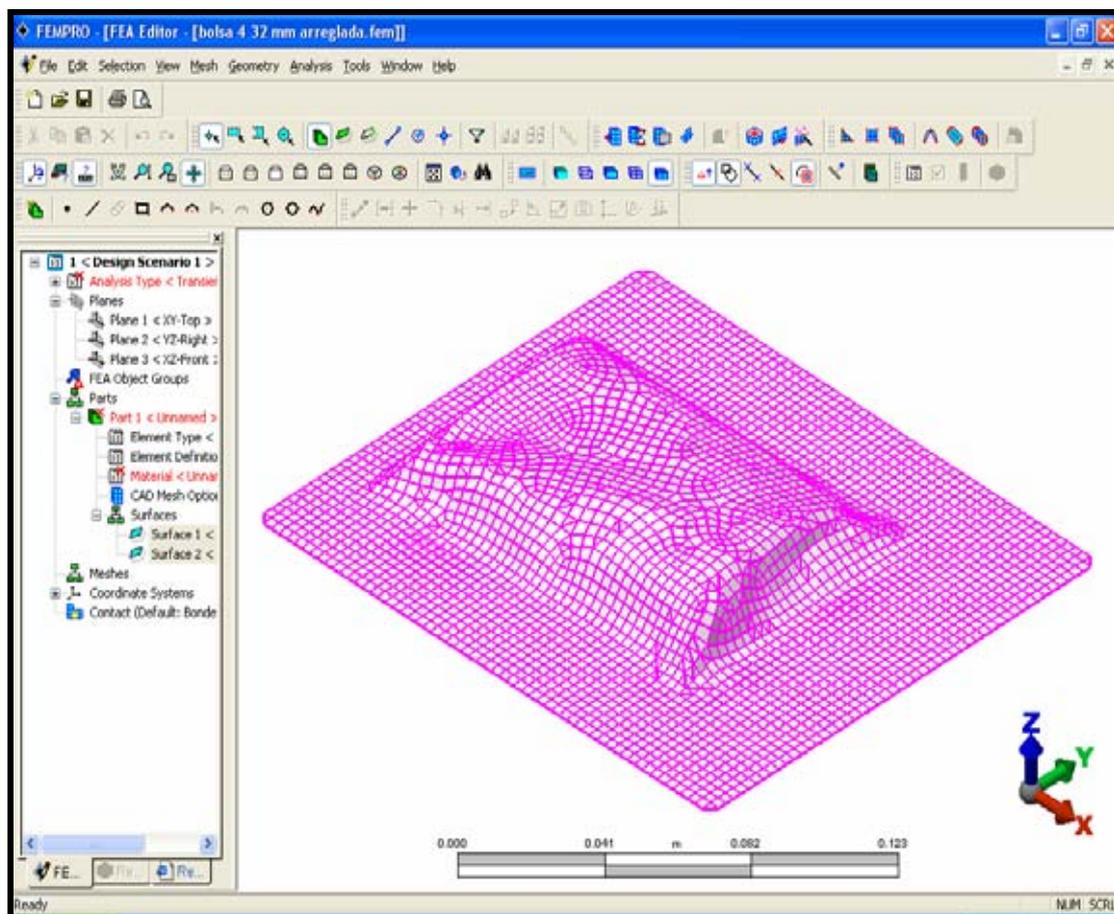


FIGURA 35. Modelo mallado.

3.4.3.2 Tipo y definición del elemento. Existe también la opción de elegir qué tipo de elementos que deseamos en la malla: ladrillos, tetraedros, o una mezcla de ellos. Se eligió el método de mallado mixto “Bricks/Tetrahedra” (Ladrillos/Tetraedros), que corresponde a la opción por defecto, ya que genera una malla de la más alta calidad y con el menor número de elementos.

Se definió un modelo ortotrópico (FIGURA 36) según las limitaciones del software previamente estudiadas por NAVARRO (2007).

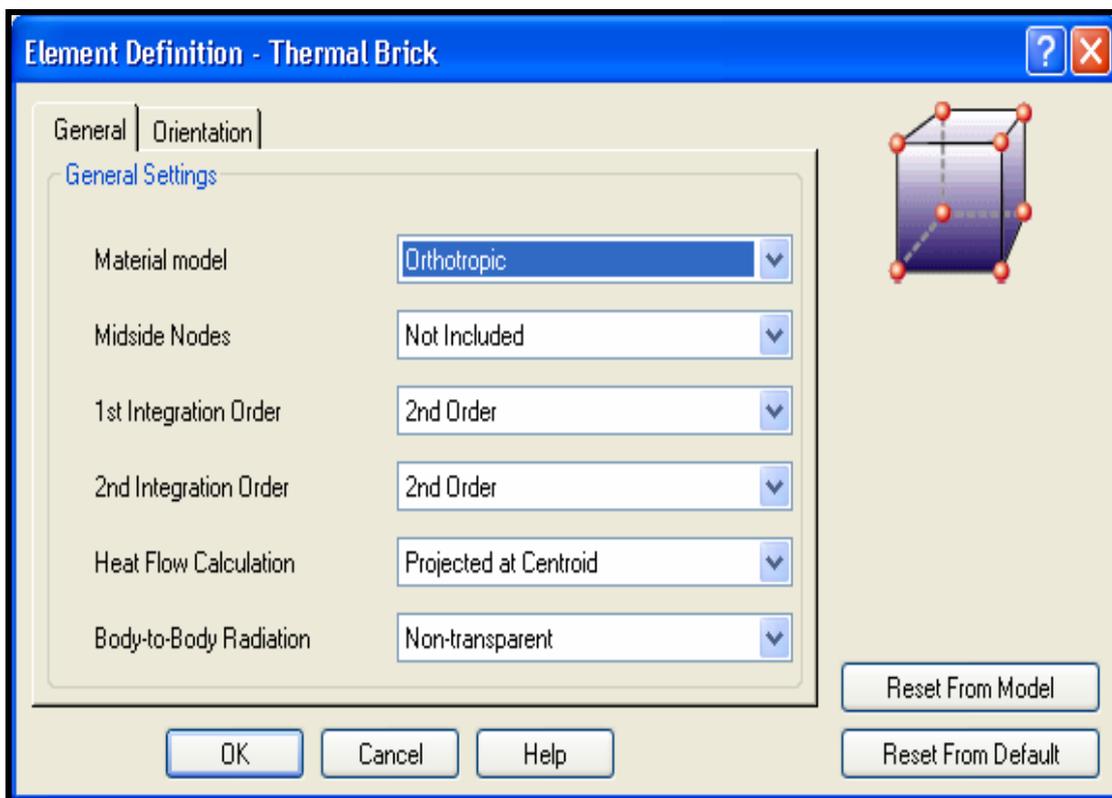


FIGURA 36. Definición de los elementos.

3.4.3.3 Especificación del material de los elementos. Se especificaron las propiedades termofísicas del alimento en función de la temperatura, las cuales fueron obtenidas por medio del software FoodProperty para un rango de temperatura desde la inicial del producto a la más alta alcanzada en la etapa de calentamiento (FIGURA 37).

3.4.3.4 Tiempo y temperatura nodal. Se especificó la cantidad de pasos de tiempo que fueron ejecutados (Steps), el tiempo total de análisis (Time). Esto determinará el tamaño de cada paso (en segundos) del proceso simulado. Además se debió especificar el intervalo de salida de los resultados (Output interval).

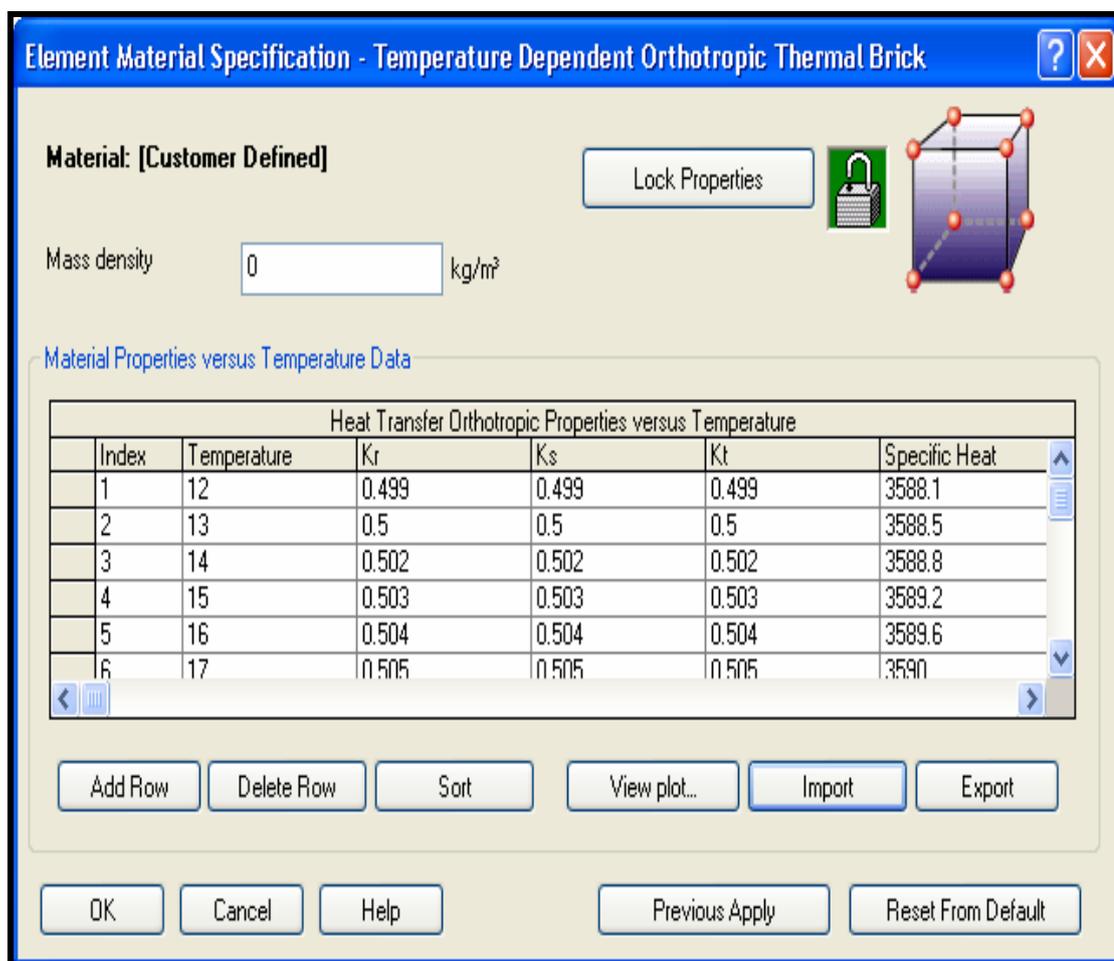


FIGURA 37. Ingreso de propiedades termofísicas.

Los parámetros ingresados son específicos para conos de jurel envasados al vacío donde se alcanzó un tiempo de proceso de 6140 s para un F_0 de 8,4, el tamaño de paso de tiempo fue de 4s por lo cual la cantidad de pasos de tiempo fue de 1535. Además se ingresó la temperatura nodal que es la temperatura inicial experimental del producto (FIGURA 38).

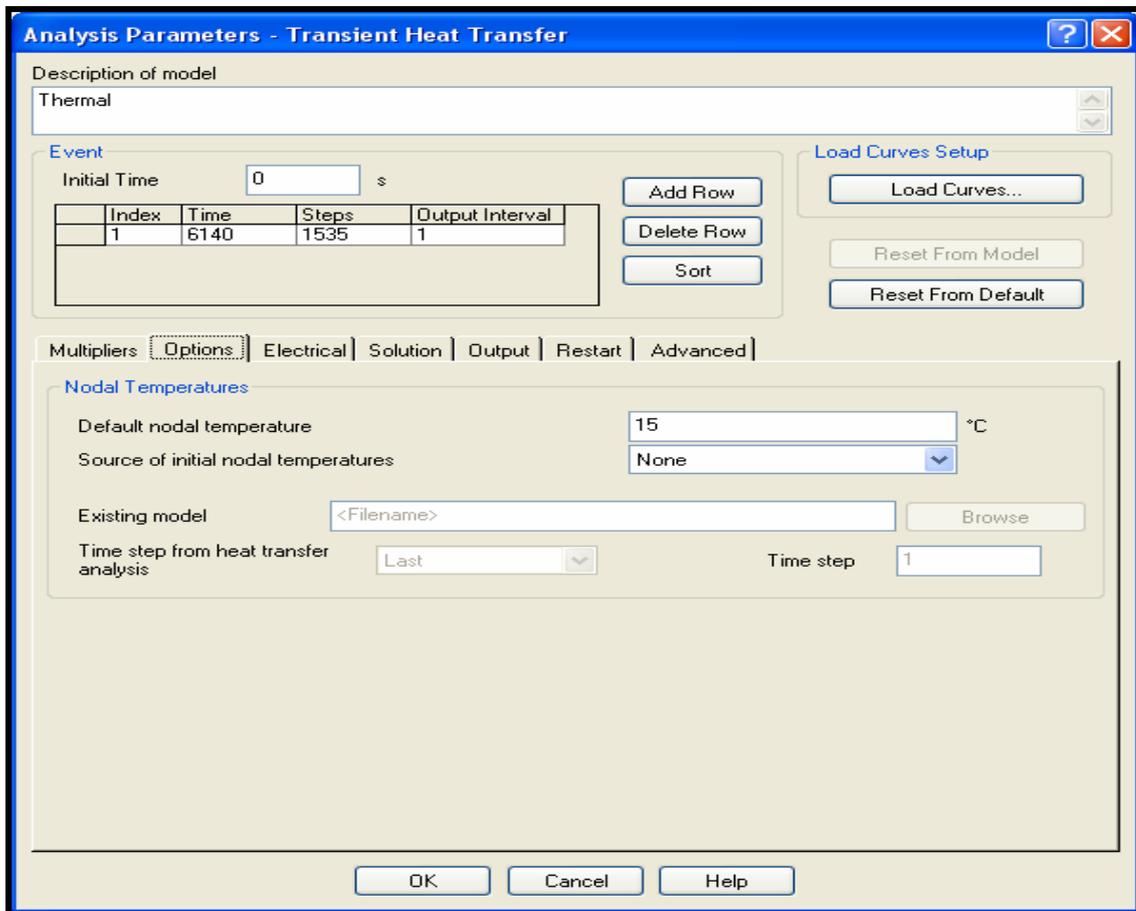


FIGURA 38. Ingreso de parámetros de tiempo y temperatura nodal.

3.4.3.5 Curvas de carga de superficie. Se selecciona las superficies donde se realiza la transferencia de calor por convección. Experimentalmente la bolsa esterilizable es sometida en todas sus superficies a la acción del vapor saturado y finalmente a la acción del agua fría, por lo tanto en el modelo, se seleccionaran todas aquellas superficies que estén en contacto con el medio de calentamiento y/o enfriamiento.

Finalmente se asignaron la curva de coeficiente global de transferencia de calor (U) en función del tiempo, además de otra curva de carga de temperatura del medio de calentamiento y enfriamiento en función del tiempo (FIGURA 39 a 42).

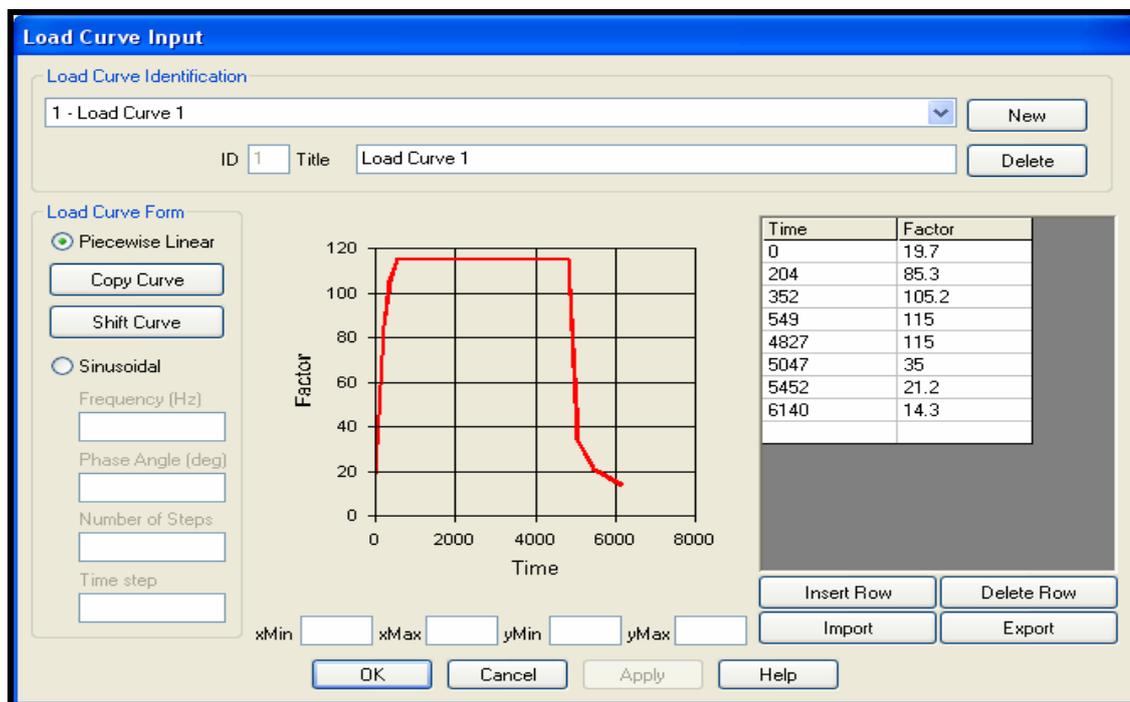


FIGURA 39. Especificación de las curvas de carga de superficie de temperatura del medio.

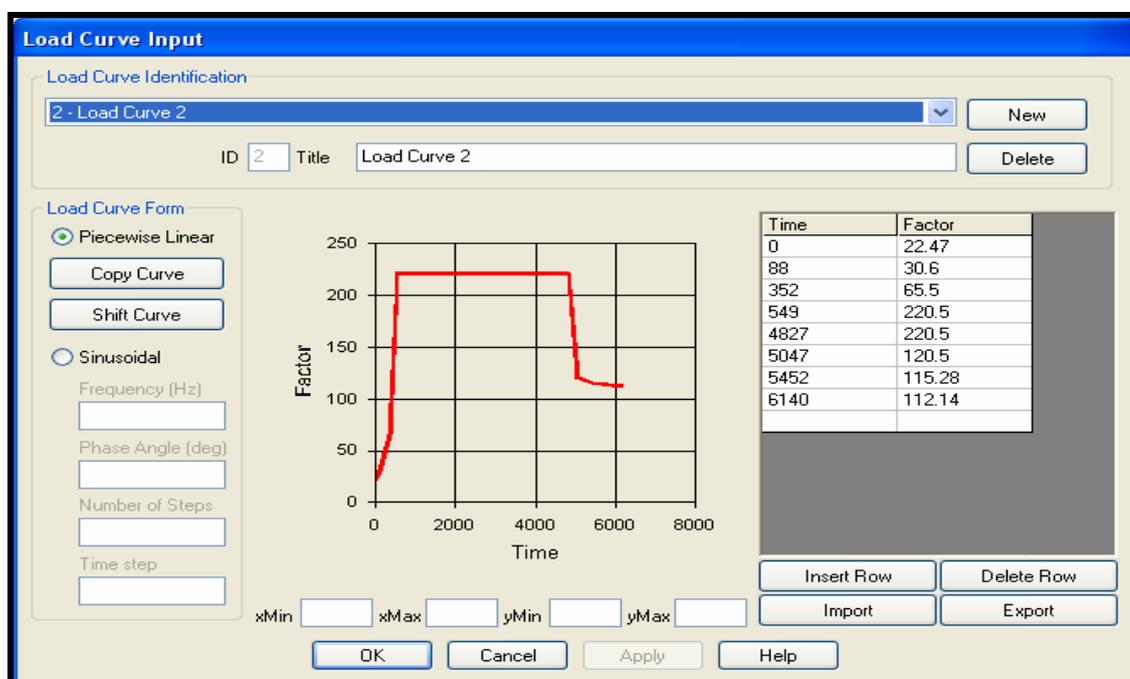


FIGURA 40. Especificación de las curvas de carga de superficie del coeficiente global de transferencia de calor (U).

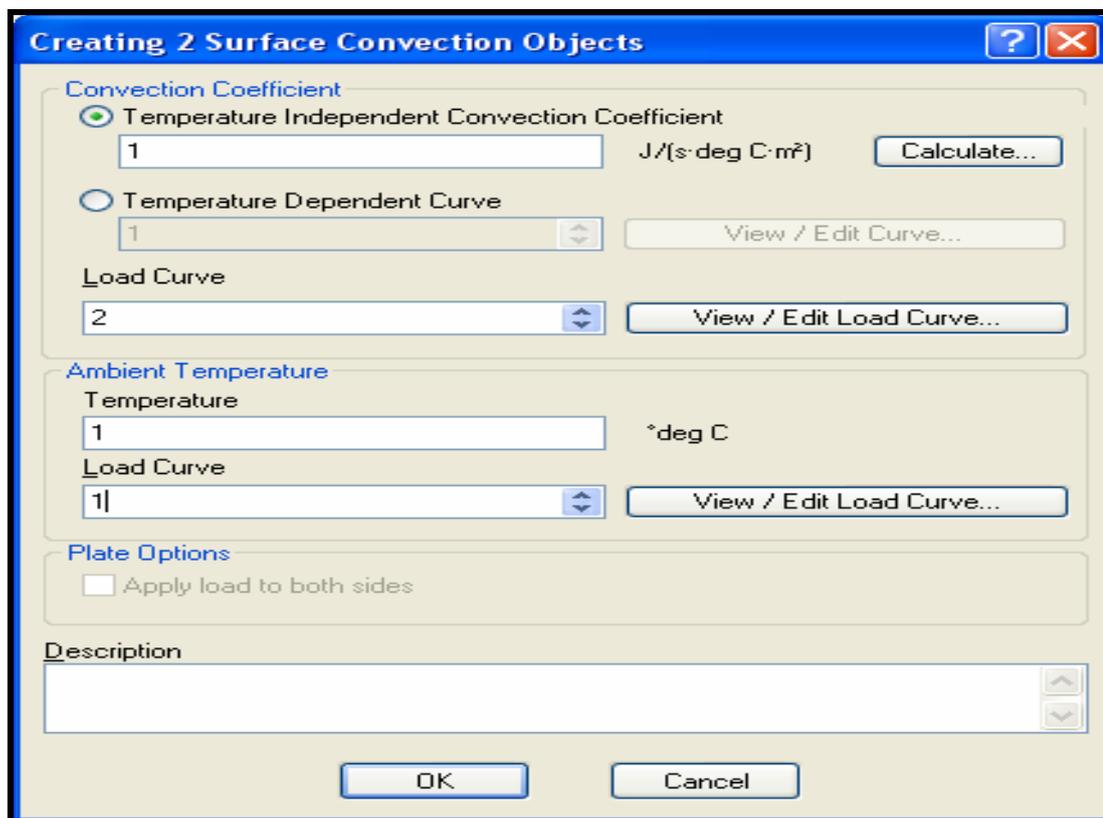


FIGURA 41. Asignación de curvas de carga a superficies.

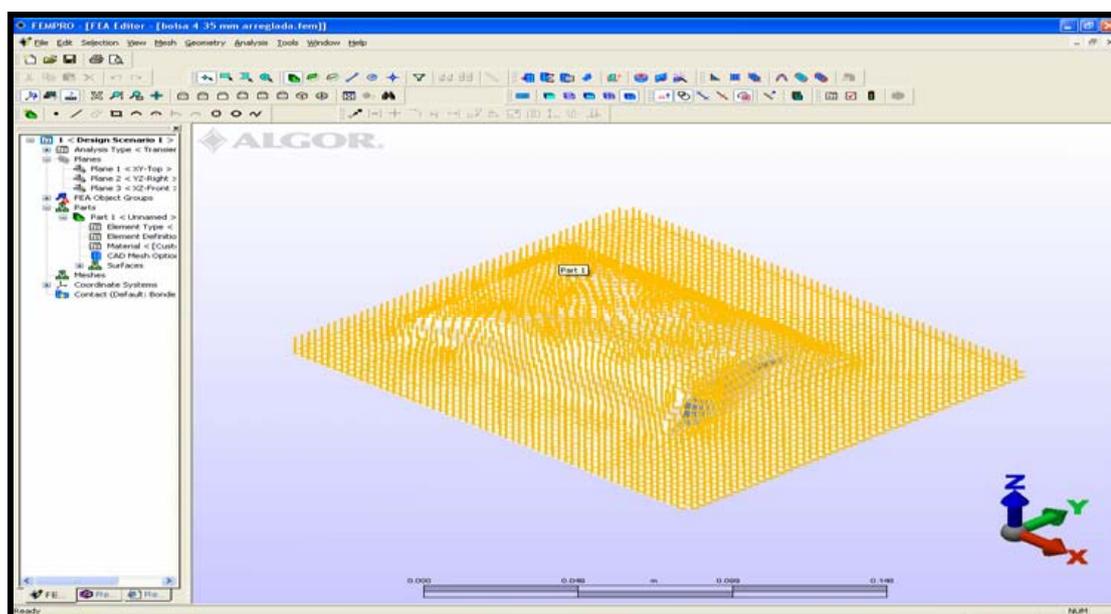


FIGURA 42. Modelo en ALGOR con cargas de superficie añadidas.

3.4.3.6 Análisis. Una vez que empieza el análisis ALGOR comienza a mostrar el número de pasos, el tiempo transcurrido. Además del gasto computacional etc. (FIGURA 43).

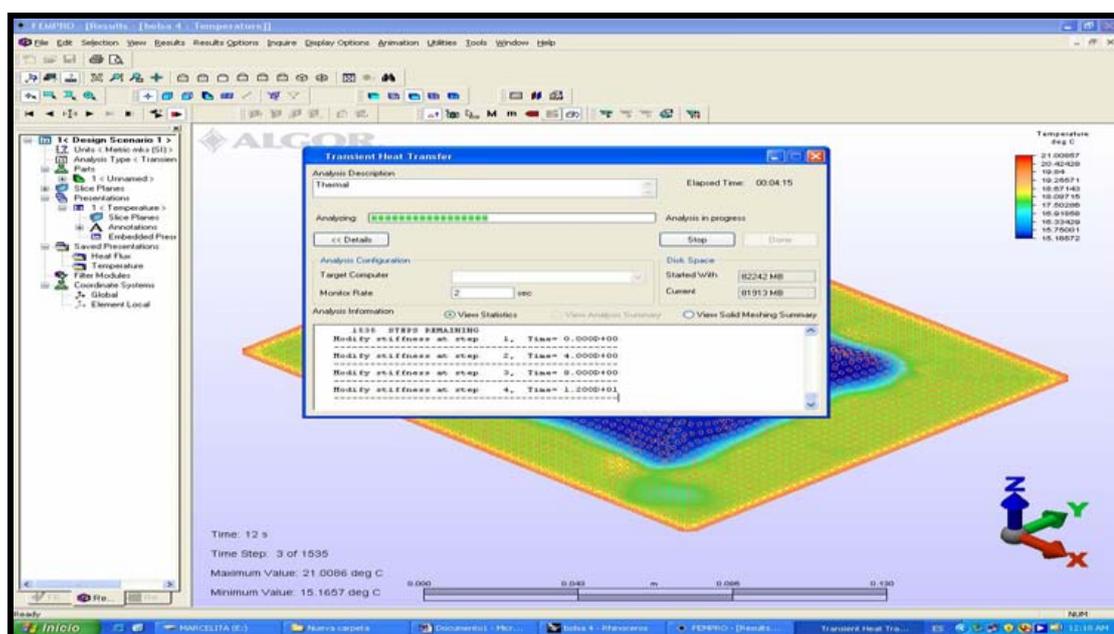


FIGURA 43. Ventana de análisis.

3.4.4 Resultados. Una vez finalizado el análisis se pudieron obtener los siguientes resultados:

- Búsqueda nodo termocupla. Con una paso exportado del análisis y con las coordenadas del alimento (x, y, z) obtenidas por radiografía se pudieron obtener los posibles nodos más cercanos a las coordenadas del modelo digital analizado y se supo cual era el nodo correcto cuando sus curvas elaboradas con los datos tiempo temperatura se superpongan.
- Búsqueda de los nodos del capilar. Igual que en la búsqueda del nodo de la termocupla se buscaron los nodos para cada punto evaluado en cada capilar (P1, P2, P3), pero como no existe un historial

tiempo/temperatura experimental para cada punto del capilar, se supo que el nodo es el correcto cuando al ubicar las coordenadas de los nodos elegidos en el modelo digital de Rhinoceros® se encontró una tendencia lineal respectiva para cada una de las bolsas, tanto para plano XY como para el plano XZ, además de encontrarse dentro de los límites respectivos del capilar.

- Búsqueda del nodo más frío. Para la obtención del punto más frío de la etapa de calentamiento se exportaron los datos obtenidos del análisis, desde ALGOR® hasta el software Microsoft® Excel. Exportando a intervalos de tiempo desde el tiempo inicial de calentamiento hasta el tiempo final de calentamiento según la cantidad de intervalos que se estimó conveniente, una vez exportados se determinó cual era el nodo que más se repetía durante estos intervalos. A modo de comprobación, se pudo buscar en la etapa de enfriamiento bajo el mismo procedimiento, el nodo más caliente, el cual deberá ser el mismo nodo obtenido en la etapa de calentamiento.
- Obtención del perfil de temperatura del nodo. Una vez determinado el nodo más frío, el de la termocupla y los nodos de los capilares se exporta desde ALGOR® a Microsoft® Excel, los datos de tiempo temperatura de la etapa de calentamiento y enfriamiento de cada nodo.

3.5 Validación y evaluación de los tratamientos térmicos

Consistió básicamente en; primero verificar el ajuste de curvas experimentales y simuladas de la termocupla obtenidas por simulación computacional confirmando de esta forma que el coeficiente global de transferencia de calor (U) es válido para el tratamiento térmico aplicado. Segundo una vez verificado el ajuste y ubicados los 3 puntos del capilar con sus respectivos datos tiempo/temperatura simulados, se calculó las reducciones decimales (S) tanto para los datos simulados como para los experimentales, que permitieron validar

la veracidad de los resultados obtenidos experimentalmente y evaluar finalmente el punto de más lento calentamiento/enfriamiento que indicó la letalidad del proceso.

3.5.1 Ajuste de perfiles de temperatura simulados y experimentales. El ajuste entre las curvas obtenidas a través de procedimientos experimentales y las curvas simuladas fue expresado mediante el valor RMSE (Root Mean Square Error, Raíz Cuadrada del Error Cuadrático Medio), el cual fue presentado en forma absoluta (°C) y en porcentaje (%):

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_i^n (T_i - T_i^*)^2}{N}} \quad (3.10)$$

$$\% RMSE = \sqrt{\frac{\sum_i^N \left[\frac{(T_i - T_i^*)}{T_i} \right]^2}{N}} \quad (3.11)$$

Donde N es el número total de puntos o número total de temperaturas experimentales, T_i son las temperaturas experimentales y T_i^* son las temperaturas obtenidas mediante las simulaciones.

En todos los casos los valores RMSE (°C) y RMSE (%) para la etapa de calentamiento fueron determinados hasta el momento en que el producto comienza a enfriarse con agua y para la etapa de enfriamiento hasta el final del proceso. Además se adoptó un criterio de un valor máximo de 5% para el valor de RMSE (%) (CALIFANO, 1981; CLELAND y EARLE, 1984; ZHANG y CAVALERI, 1991; MORALES – BLANCAS et al., 1999).

3.5.2 Comparación datos simulados y experimentales del capilar. En base a lo expuesto en la sección 2.5.2.2.4 se pudo evaluar el efecto esterilizante logrado en los puntos del capilar, que se utilizó para validar la veracidad de los datos obtenidos experimentalmente.

Para la obtención del número de reducciones decimales experimentales ($S_{\text{experimental}}$) se utilizó la ecuación (2.14) de la sección 2.5.2.2.4, y para la obtención del número de reducciones decimales estimadas (S_{estimado}) se utilizó la ecuación (2.15) de la misma sección.

Es de esperarse que las reducciones alcanzadas por el tratamiento térmico en el capilar tienda a ser iguales las reducciones estimadas por simulación computacional en el capilar para cada bolsa evaluada.

$$S_{\text{experimental}} \approx S_{\text{estimado}} \quad (3.12)$$

Una vez comparados y validados los resultados obtenidos experimentalmente, se pudo obtener la efecto esterilizante esperado del proceso en el punto más frío, que corresponde al de mayor importancia en la esterilización de alimentos, al momento de evaluar la eficiencia de un tratamiento térmico determinado.

3.5.3 Evaluación del tratamiento térmico. Se calculará la letalidad del proceso basado en el microorganismo con esporulamiento económico es decir se calculará en base a la probabilidad de esporulamiento de microorganismos no patógenos que no causan daño a la salud si son consumido y que frecuentemente tiene una mayor resistencia al térmica que el *C. botulinum* (PFLUG, 1987).

Se calculó finalmente el valor F_0 del proceso a partir del punto más frío del alimento para lo cual se utilizaron los datos tiempo temperatura obtenidos de la simulación del tratamiento térmico para la inactivación de esporas de *B. stearothermophilus*, responsable del esporulamiento económico.

El valor F_0 de proceso se calculará a partir de la siguiente ecuación (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003b)

$$\left(F_{Tref}^z \right)_{\text{proceso}} = \int_{t_0}^t \frac{dt}{10^{(T_{ref} - T(t))/z}} \quad (3.13)$$

Se utilizará el método de integración numérica del trapecio para calcular el F_0 de proceso para lo cual será necesario encontrar un tiempo de proceso para una letalidad pre establecida.

$$\left(F_{Tref}^z \right)_{\text{requerido}} \approx \left(F_{Tref}^z \right)_{\text{proceso}} \quad (3.14)$$

En base a lo anterior y utilizando los conceptos de la sección 2.5.2.2.4 se podría evaluar la letalidad del proceso en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento de la siguiente forma:

$$\text{Letalidad} = \frac{F_{\text{proceso}}}{F_{\text{requerido}}} = \frac{S_{\text{proceso}}}{S_{\text{requerido}}} \quad (3.15)$$

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentarán y discutirán los resultados obtenidos tanto para los experimentos realizados en laboratorio como los realizados en planta, para el proceso de esterilización de conos de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables. Se realizaron dos experimentos (A y B) de $71 \pm 0,5$ min de tiempo de operador, en cada uno de ellos se procesaron 3 muestras que contenían conos de jurel de características similares en cuanto a; forma, tamaño, humedad etc. Cada una de las bolsas contenía un capilar con esporas de *B. stearothermophilus* que se insertaron con la finalidad de que por medio de estos se pudiera validar el proceso térmico.

4.1 Concentración de la solución madre y cantidad inicial del capilar

La concentración de esporas de *Bacillus stearothermophilus* de la solución madre arrojó un promedio de $2,6 \times 10^8 \pm 0,25 \times 10^8$ esporas/ml ($\log 8,41 \pm 0,04$). Por lo que se determinó que era necesario extraer 0,04 ml de la solución madre para tener aproximadamente 10^6 esporas en cada 0,01 ml de suspensión. La población inicial utilizada en cada capilar es mucho más alta que la que establece comúnmente PFLUG (1987) y WARNE (1988) de (N_0) 10^2 para una reducción de 4 ciclos logarítmicos ($N_F: 10^{-2}$), ya que, si se utilizara la población inicial recomendada, la población final sería imposible de cuantificar.

Los recuentos obtenidos de la solución madre, utilizados para calcular el promedio, se detallan en el ANEXO 2.

El recuento inicial de los capilares se utilizó para confirmar que la solución madre fue correctamente homogeneizada antes de la confección de los

capilares, los recuentos obtenidos indicaron un promedio de $2,4 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$ esporas en 0,01 ml ($\log 6,38 \pm 0,07$), para el cálculo de reducciones decimales (S) se utilizó un valor de $2,4 \times 10^6$ esporas en 0,01 ml se suspensión.

Los recuentos iniciales obtenidos, utilizados para calcular el promedio, se detallan en el ANEXO 2.

4.2 Evaluación de la influencia de los rayos X sobre la cantidad final de *Bacillus stearothermophilus*

En general las bacterias Gram negativas son más sensibles a las radiaciones que las Gram positivas y todas ellas mas sensibles que las formas esporuladas de bacterias mohos y virus, sin embargo, no se puede generalizar los efectos de las radiaciones ionizantes si no se especifican las dosis y las condiciones del producto a tratar. La gama de factores que influye en la sensibilidad de bacterias y esporas bacterianas son muchas, entre ellas, tamaño del inóculo, tipo de organismo, tratamiento pre-irradiación, presencia o ausencia de oxígeno, medio de suspensión de las esporas, temperatura, etc., que pueden hacerlas más o menos susceptible a la radiación aplicada por poca que sea.

En el CUADRO 11 se presentan los recuentos obtenidos para cada una de las muestras expuestas y también los recuentos obtenidos para los blancos. Se evaluó la exposición a dos tipos de dosis aplicadas, la primera denominada “normal” que es la que habitualmente se aplica a las bolsas de este tamaño al tomar las radiografías y la otra dosis denominada “máxima” que excede a la dosis habitual aplicada y que es la dosis máxima que se utiliza en la toma de radiografías.

Para determinar si hay diferencias estadísticamente significativas en los recuentos obtenidos se realizó un Análisis de Varianza con el software

STATGRAPHICS plus 5.1. Puesto que el p-valor es inferior a 0,05 (ANEXO 3), existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los recuentos entre una muestra y otra para un nivel de confianza del 95%. Para determinar cuáles muestras son significativamente diferentes unas de otras, se realizó el Test de Rangos Múltiples (Test de Tukey) a un nivel de confianza del 95%. Dentro de cada columna, las muestras que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuáles no hay diferencias estadísticamente significativas tal como se muestra en el ANEXO 3. Este test de rangos múltiples indica que sólo la muestra 6 presenta diferencias estadísticamente significativa en comparación con el resto de las muestras. Sin embargo, de las cuatro muestras tratadas ninguna presentó una disminución significativa en el número de esporas recuperadas después de la exposición, a pesar de que la muestra 6 indica diferencia significativa esta no se debe a una disminución de la población sino a recuentos mayores a los esperados. Esto último puede ser causa de que no fue bien homogenizada antes de su siembra obteniéndose recuentos errados.

CUADRO 11. Recuentos obtenidos después de la exposición a rayos X.

Blancos (UFC/0,01 ml)			
Muestras / repeticiones	1	2	3
Conos bolsa 2	2,58 x10 ⁶	2,8 x10 ⁶	2,51 x10 ⁶
Conos bolsa 5	2,6 x10 ⁶	2,63 x10 ⁶	2,3 x10 ⁶
Muestras tratadas (UFC/0,01 ml)			
Muestras / repeticiones	1	2	3
Conos bolsa 1 (normal)	2,22 x10 ⁶	2,6 x10 ⁶	2,4 x10 ⁶
Conos bolsa 3 (máxima)	2,64 x10 ⁶	2,28 x10 ⁶	2,15 x10 ⁶
Conos bolsa 4 (normal)	2,8 x10 ⁶	2,48 x10 ⁶	3,02 x10 ⁶
Conos bolsa 6 (máxima)	3,45 x10 ⁶	2,8 x10 ⁶	3,4 x10 ⁶

En el CUADRO 12 se presentan las dosis de radiación absorbidas (kGy) para cada una de las muestras expuestas. La cantidad de energía absorbida no sobrepasa los límites establecidos de radiación para la esterilización de microorganismos resistentes (25 kGy) ni tampoco la dosis máxima permitida por la Comisión FAO/OMS de 10 kGy. Esto ratifica aun más que la población de esporas expuestas no sufrió cambio alguno en su población, ya que la dosis de radiación absorbida está por debajo de los límites establecidos.

CUADRO 12. Dosis absorbida de energía ionizante en cada muestra evaluada.

Muestra	Energía absorbida (kGy) plano XY	Energía absorbida (kGy) plano ZX	Total de energía absorbida (kGy)
Conos bolsa 1 (normal)	0,574	0,711	1,285
Conos bolsa 3 (máxima)	3,994	3,994	7,988
Conos bolsa 4 (normal)	0,566	0,701	1,267
Conos bolsa 6 (máxima)	3,760	3,760	7,52

4.3 Influencia del capilar en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico

Los resultados obtenidos se observan en el CUADRO 13 donde se presentan los valores F_0 calculados en base a los datos tiempo temperatura de cada una de las muestras tratadas térmicamente.

Como se aprecia en el CUADRO 13 los valores F_0 obtenidos para las termocuplas de una misma muestra, presentan un error relativo máximo de

3,026% en la muestra I, el resto de las muestras se encuentran por debajo de este valor.

En las FIGURAS 44, 45 y 46 se presentan las curvas experimentales para cada muestra con la superposición de la curva de la termocupla ubicada al exterior del capilar y la termocupla ubicada al interior del capilar. Esto confirma que el material del capilar en este caso vidrio no actúa como barrera o no opone ninguna resistencia a la penetración de calor durante el tratamiento térmico, es decir, se descarta la posibilidad de que la suspensión de esporas insertada en el alimento, alcance una letalidad menor a la esperada, ya que la diferencia de F_0 entre la termocupla ubicada al interior del capilar y fuera de éste es prácticamente despreciable.

CUADRO 13. Valores F_0 obtenidos para las muestras tratadas térmicamente.

Etapa	Conos de jurel					
	I		II		III	
Ubicación con respecto al capilar	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior
Tiempo cal. (min)	1,119	1,22	1,622	1,633	1,781	1,68
Tiempo enf. (min)	1,178	1,149	1,044	1,019	0,887	1,053
Tiempo total (min)	2,307	2,379	2,677	2,663	2,679	2,733
Error relativo %	3,026		0,523		1,976	

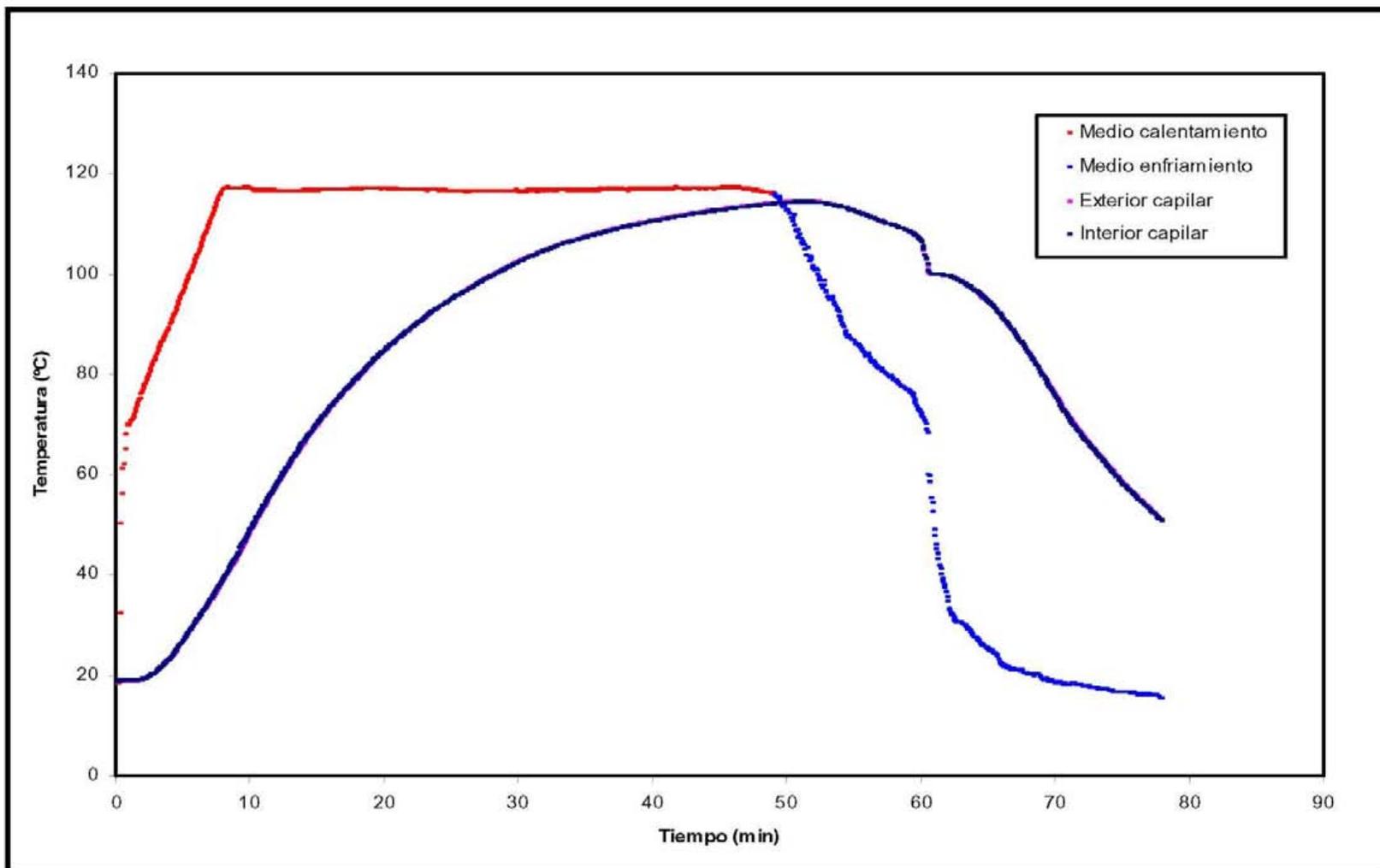


FIGURA 44. Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra I.

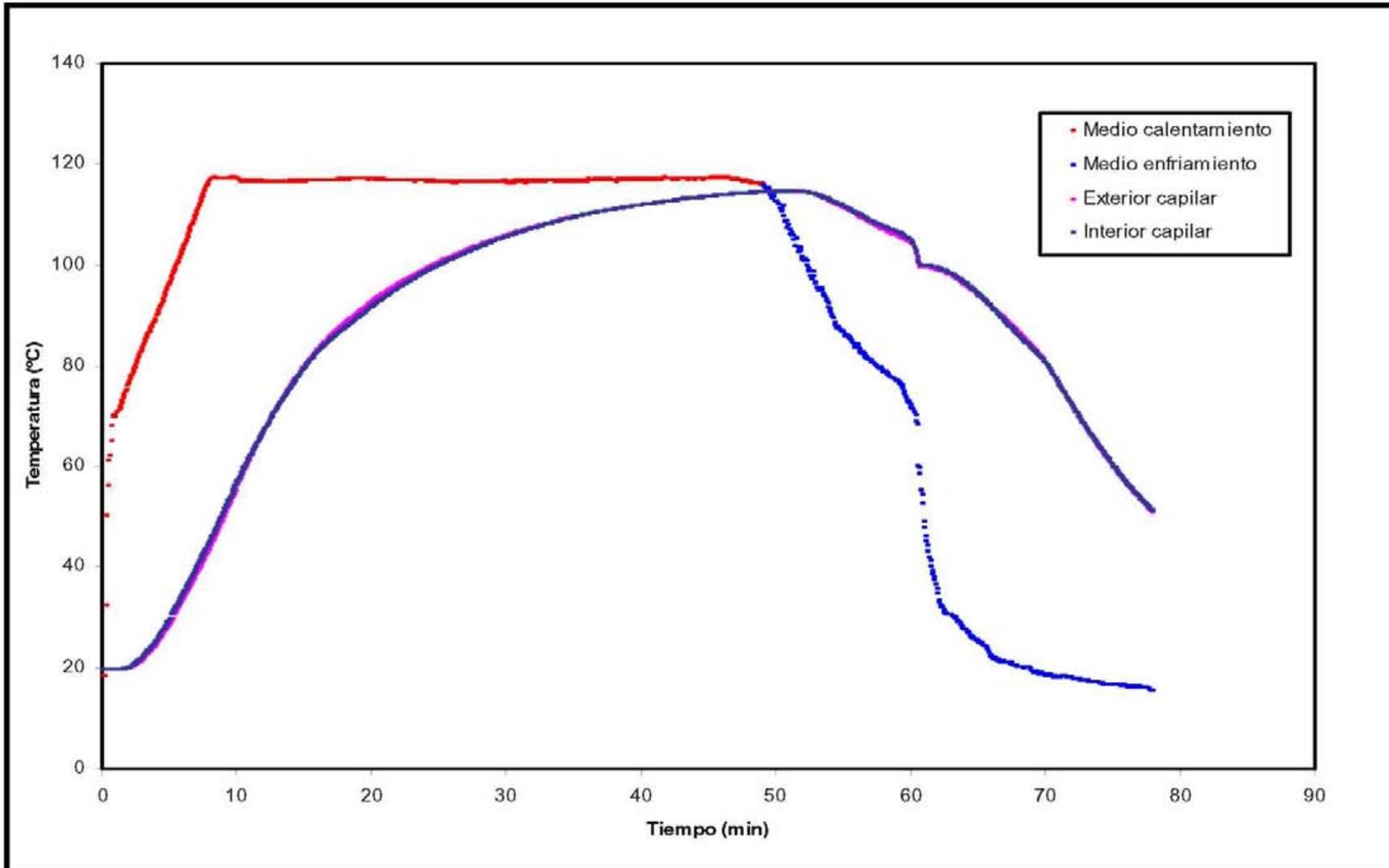


FIGURA 45. Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra II.

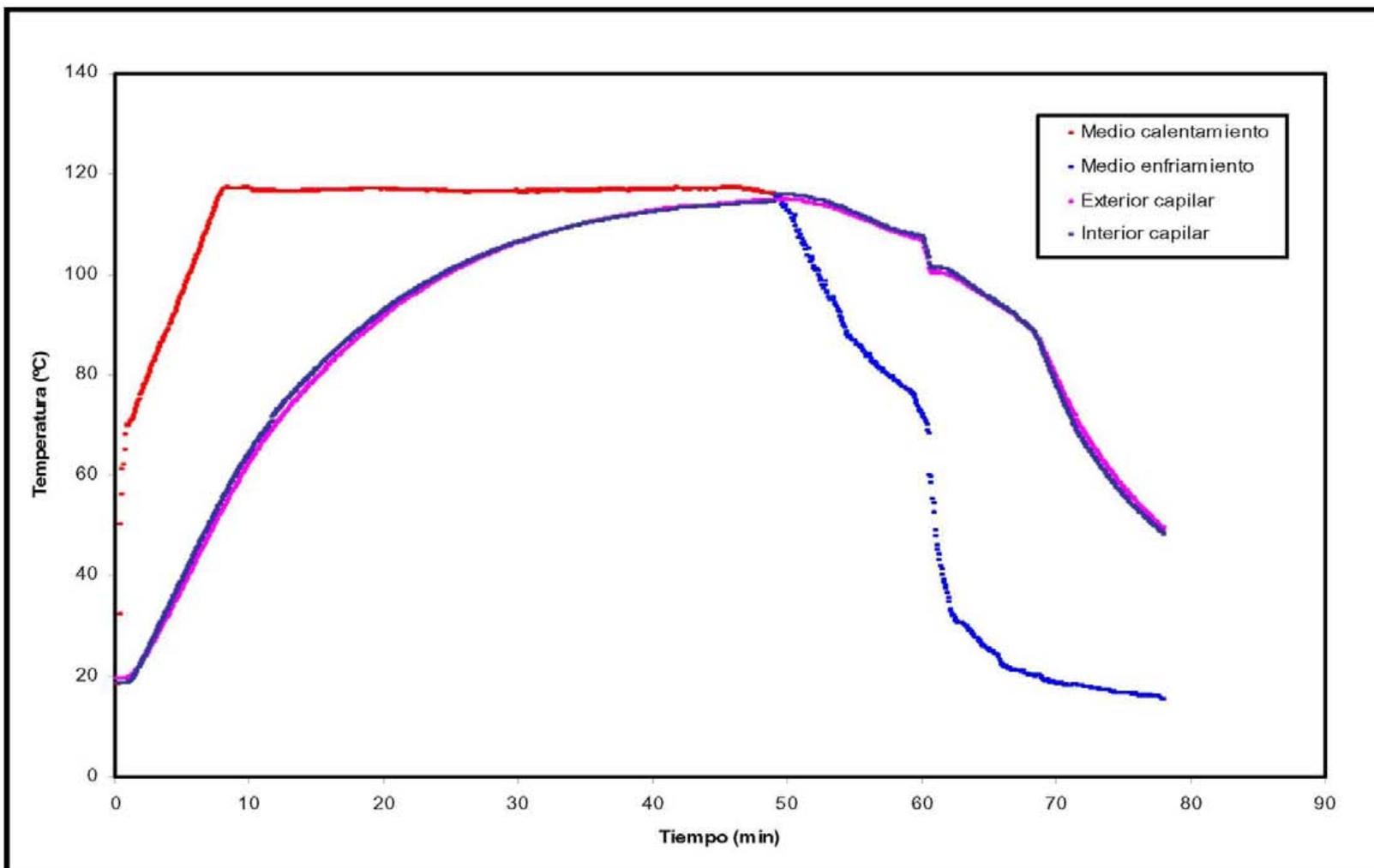


FIGURA 46. Curvas experimentales de la termocupla ubicada al interior y al exterior del capilar de la muestra III.

4.4 Curvas experimentales de los tratamientos térmicos aplicados

En la FIGURA 47 se muestran las curvas experimentales para las muestras sometidas al proceso de esterilización A de 71 min y en la FIGURA 48 se pueden observar las curvas experimentales para las muestras sometidas al proceso de esterilización B de 71 min, como se puede apreciar la curva experimental de la muestra B-8 es más cercana al centro térmico del producto, mientras que las curvas de las muestras B-6 y B-7 se encontraban más cerca de la superficie del alimento.

4.5 Ubicación coordenadas físicas de la termocupla y capilar

Para la ubicación del nodo correspondiente a la termocupla, se buscaron las coordenadas (x, y, z) de la termocupla en el producto, por medio radiografías en dos planos; XY y ZX . Para la obtención de la ubicación física (x, y, z) del capilar se siguió la misma metodología que se utilizó para la ubicación del extremo sensible de la termocupla. Pero en este caso se buscó la ubicación de 3 puntos del capilar (de izquierda a derecha de las figuras siempre P1, P2 y P3) para cada una de las muestras tratadas. Los puntos evaluados corresponden a un punto ubicado en cada extremo del capilar (P1 y P3) y otro en el punto central del capilar (P2) a una misma distancia para todos. La ubicación de las coordenadas (x, y, z) para las termocuplas y cada punto del capilar en la radiografía para ambos planos (XY y ZX) se puede observar en las FIGURAS 49, 50 y 51 para las muestras A-3, A-4 y B-7 respectivamente. Las demás muestras se pueden encontrar en el ANEXO 4.

Las coordenadas (x, y, z) encontradas tanto para las termocuplas como para cada punto del capilar evaluado, se presentan en los CUADROS 14 y 15 respectivamente.

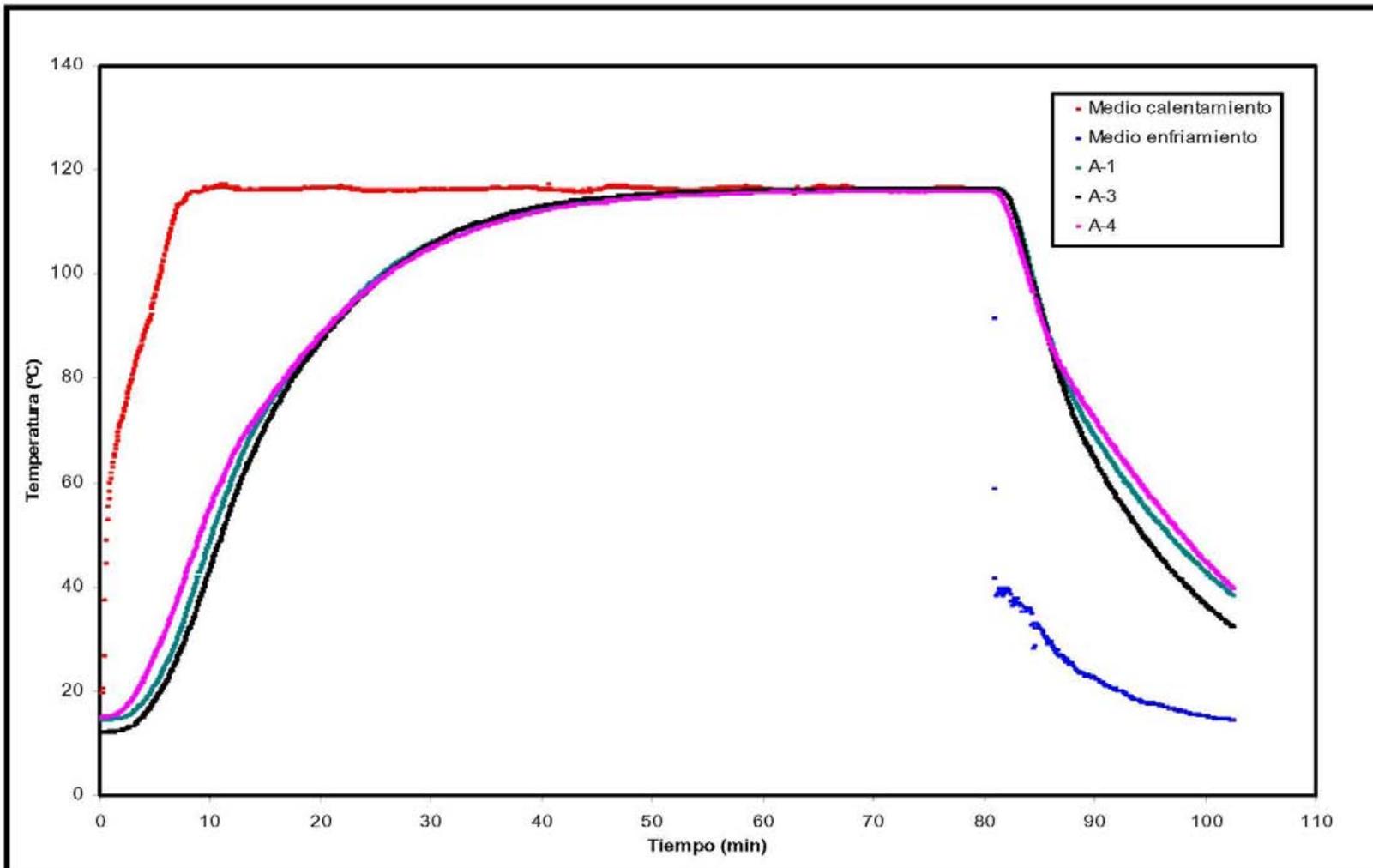


FIGURA 47. Curvas experimentales del tratamiento térmico A aplicado a conos de jurel envasados en bolsas esterilizables.

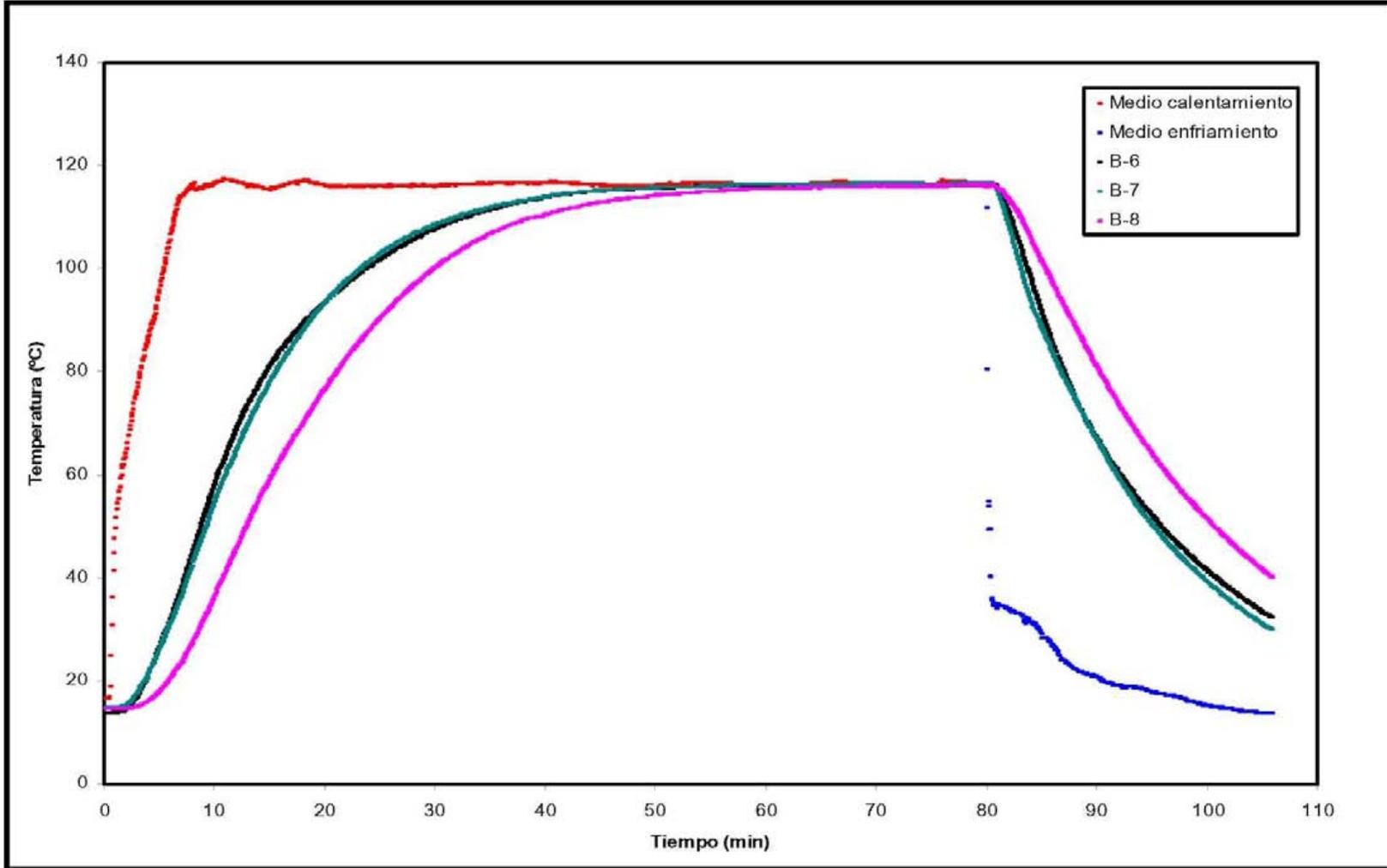


FIGURA 48. Curvas experimentales del tratamiento térmico B aplicado a conos de jurel envasados en bolsas esterilizables.

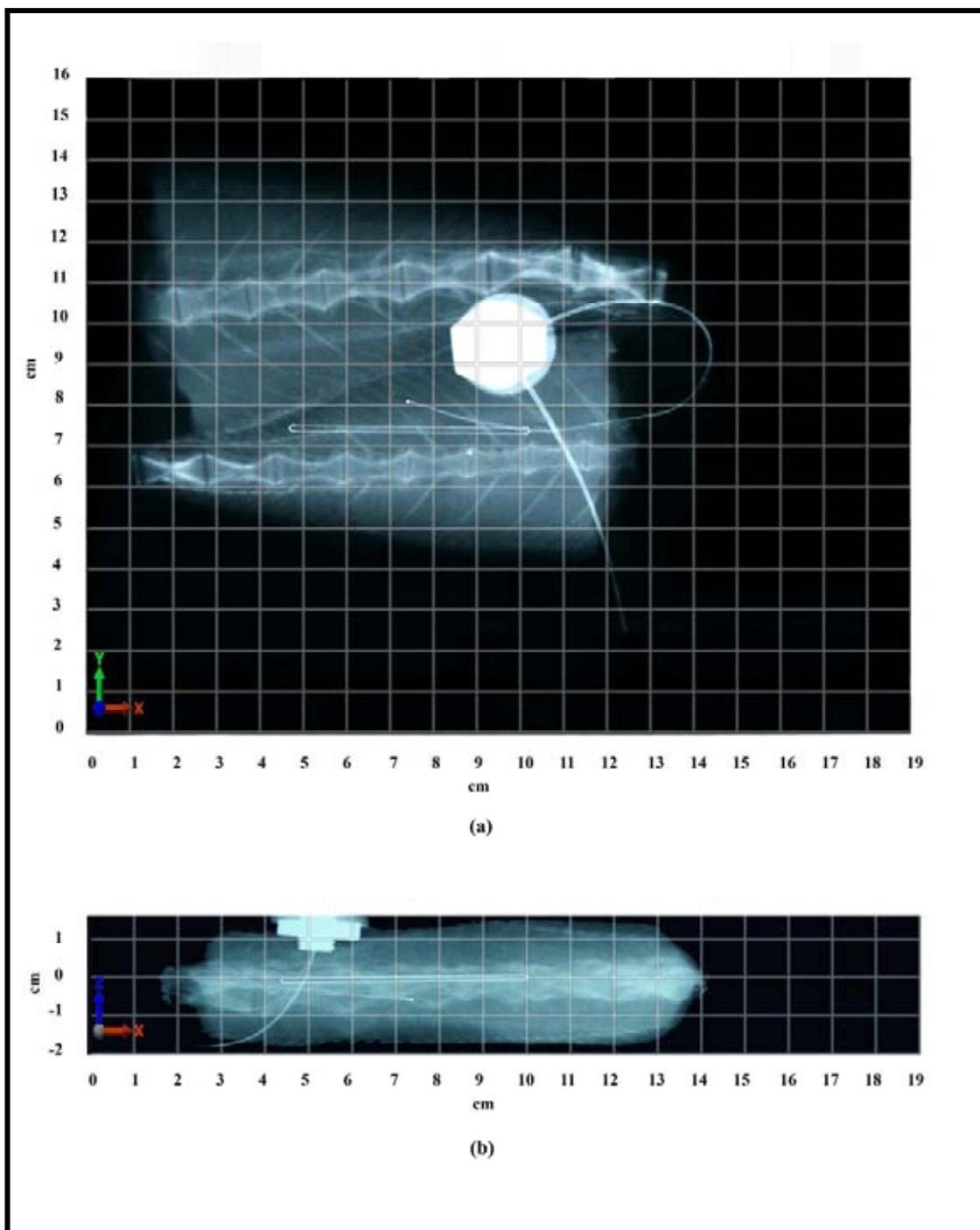


FIGURA 49. Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra A-3. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.

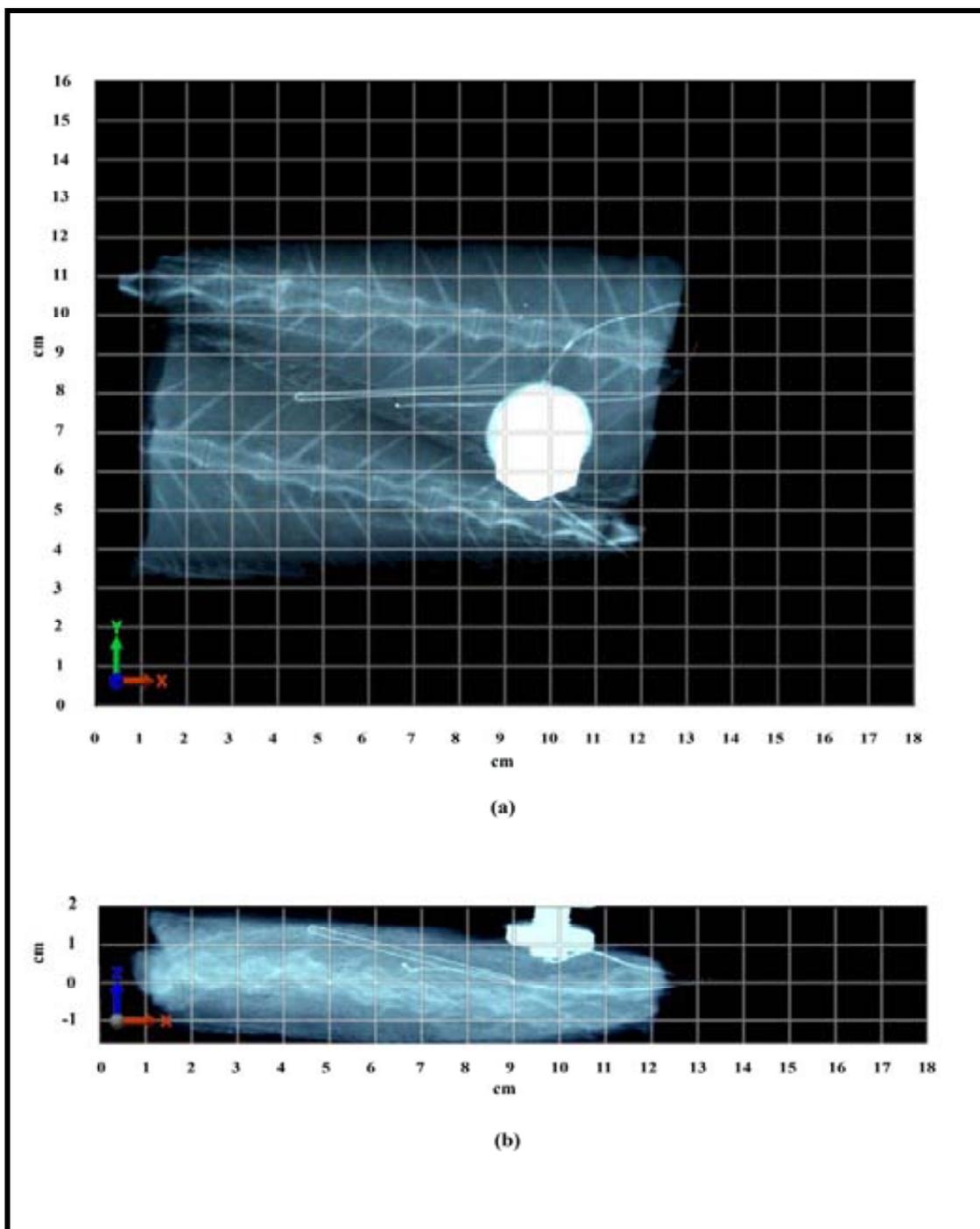


FIGURA 50. Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra A-4. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.

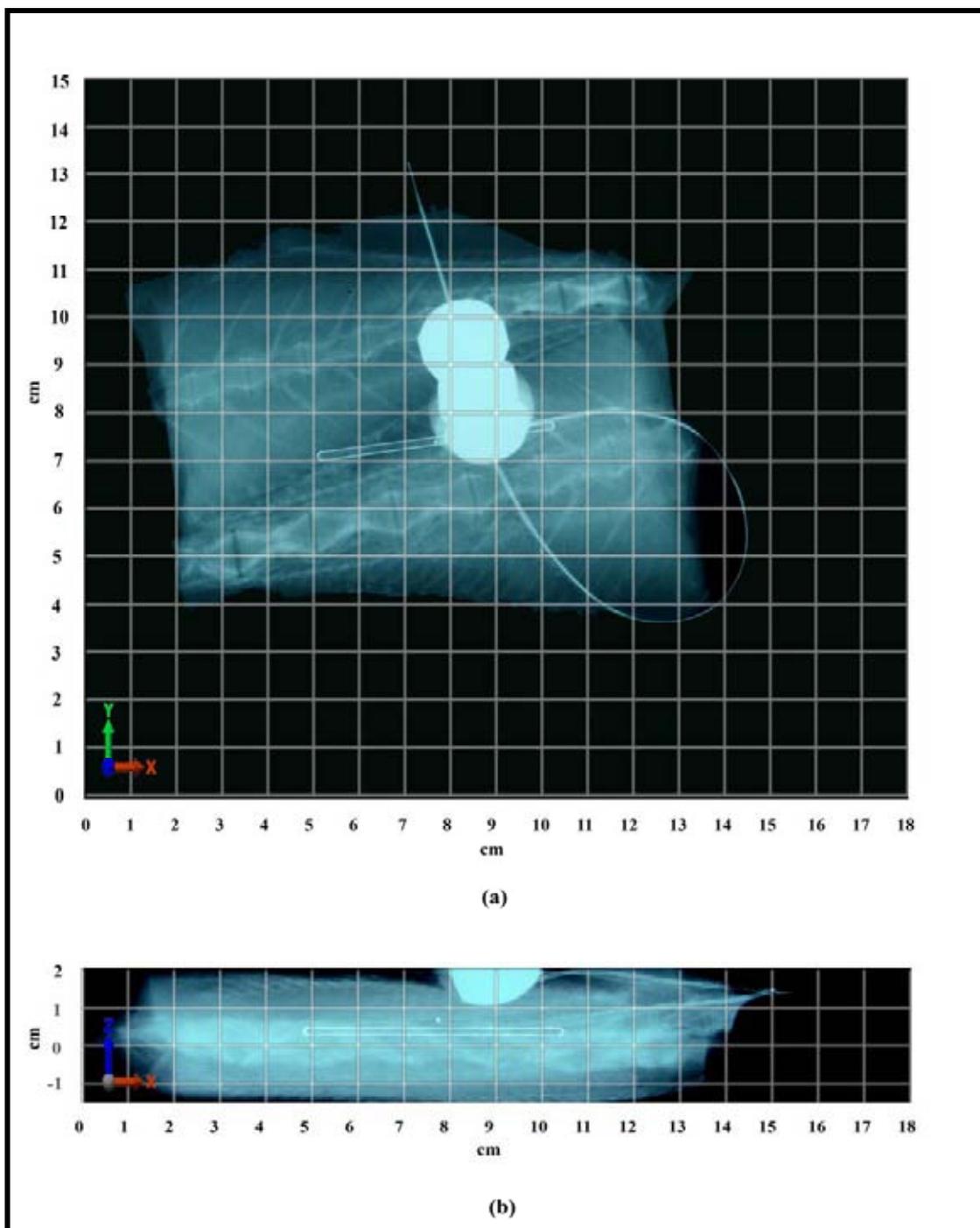


FIGURA 51. Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra B-7. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.

CUADRO 14. Coordenadas (x, y, z) de la termocupla para las muestras evaluadas.

Muestra	Coordenadas nodo (m)		
	x	y	z
A-1	0,103114	0,0843657	0,00831716
A-3	0,0737857	0,0806848	0,0070364
A4	0,0664183	0,0778679	0,00540558
B-6	0,0933438	0,0542628	0,0109417
B-7	0,0773538	0,0748399	0,00799327
B-8	0,0811649	0,0927598	0,00631129

CUADRO 15. Coordenadas (x, y, z) correspondientes al capilar ubicado en cada una de las muestras evaluadas.

Muestra	Ubicación capilar	Coordenadas nodo (m)		
		x	y	z
A-1	P1	0,0624931	0,081241	0,00052829
	P2	0,0749917	0,0874903	0,00052829
	P3	0,0937396	0,0874903	0,0067776
A-3	P1	0,06117	0,067378	0,00178193
	P2	0,0807876	0,0666174	-0,00010303
	P3	0,0976281	0,0671193	0,0001257
A-4	P1	0,055847	0,0810822	0,0111886
	P2	0,0728107	0,0805209	0,00563734
	P3	0,0898881	0,0811637	0,0039549
B-6	P1	0,0598227	0,057247	0,00089483
	P2	0,0817989	0,0529058	0,00192557
	P3	0,101021	0,049272	0,00556948
B-7	P1	0,0607383	0,0780921	-0,00156887
	P2	0,0809844	0,0809844	-2,78E-05
	P3	0,101231	0,0838767	-0,00156887
B-8	P1	0,0579749	0,110152	0,0005138
	P2	0,0811649	0,0985573	0,0005138
	P3	0,0985573	0,0927598	0,0005138

4.6 Simulación de los tratamientos térmicos aplicados

4.6.1 Modelos digitales 3D. En la FIGURA 52, 53 y 54 se muestran los modelos digitales 3D de las bolsas A-3 y A-4 del primer tratamiento térmico y la muestra B-7 del segundo tratamiento térmico aplicado, estos modelos fueron obtenidos a partir del modelo real por medio de digitalización 3D y posterior modelado. En algunas bolsas como la muestra B-6 (ANEXO 5) del tratamiento térmico A se logró capturar claramente la forma de los dos conos envasados al vacío debido a que los conos quedaron un poco más separados y el vacío logrado fue mejor, mientras que en otras como la muestra B-7 adquirió la forma casi de un filete sin diferenciarse muy claramente donde empiezan y terminan ambos conos, por encontrarse más juntos. Los modelos digitales de las bolsas A-1, B-6 y B-8 serán presentados en el ANEXO 5.

4.6.2 Modelos mallados FEA. Para obtener una solución lo más exacta posible se debe dividir el modelo geométrico en elementos lo más pequeños posible, el número de elementos que se requieran dependerán de la estructura del modelo en estudio. En este caso como se tratan de geometrías irregulares complejas el número de elementos será mayor y el tamaño de los elementos generados será mucho menor que si se tratase de una figura regular.

Al realizarse la malla, si bien hay en partes que se necesita una generación de elementos más pequeños por la irregularidad del modelo hay en otras donde se generaron elementos de mayor tamaño, sin embargo esta generación de elementos más grandes entorpece al momento de ubicar el punto de más lento calentamiento en el modelo analizado, ya que se ubicará el nodo que concuerde en su mayor grado con las coordenadas encontradas en

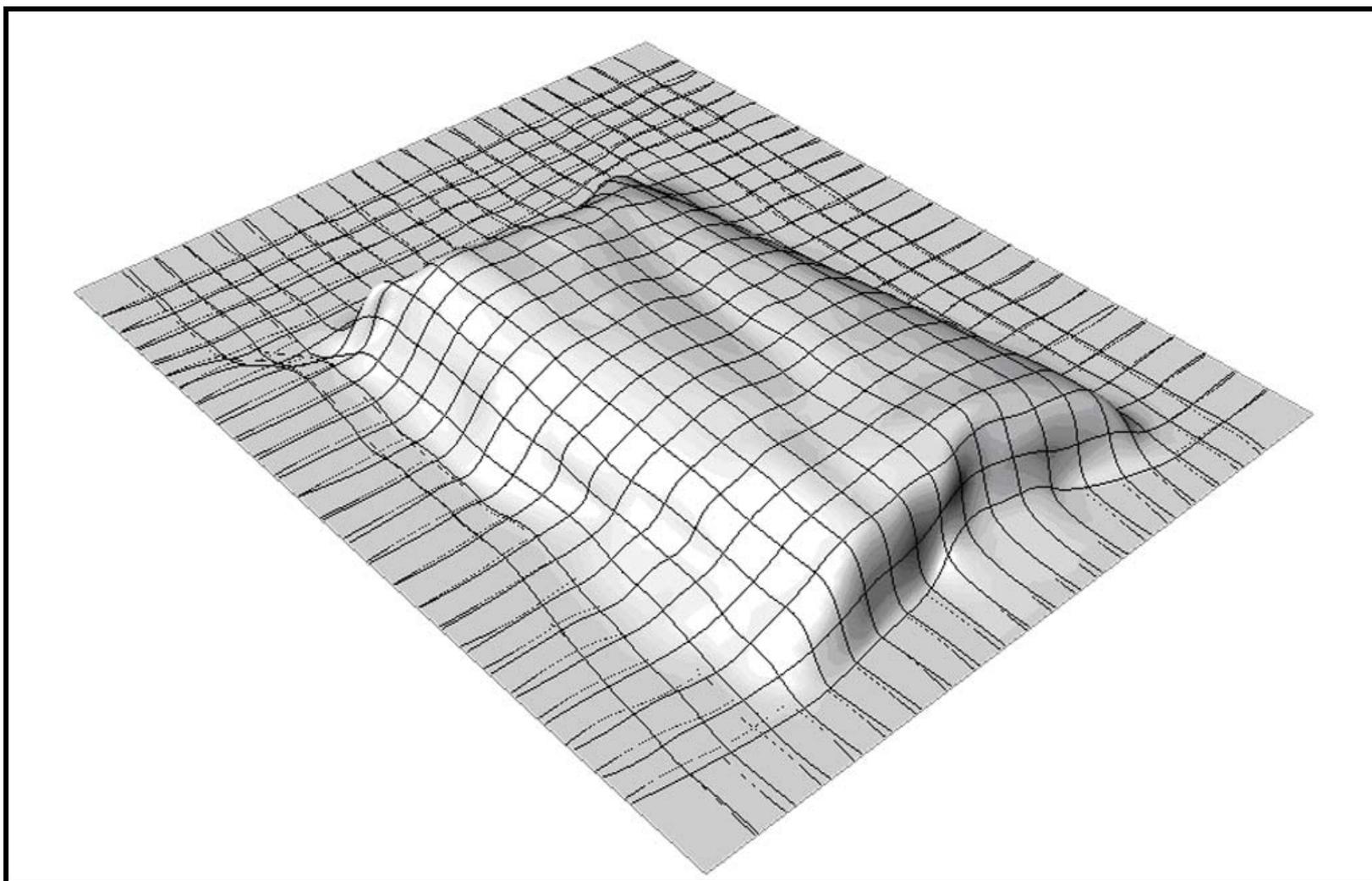


FIGURA 52. Modelo digital 3D de la muestra A-3.

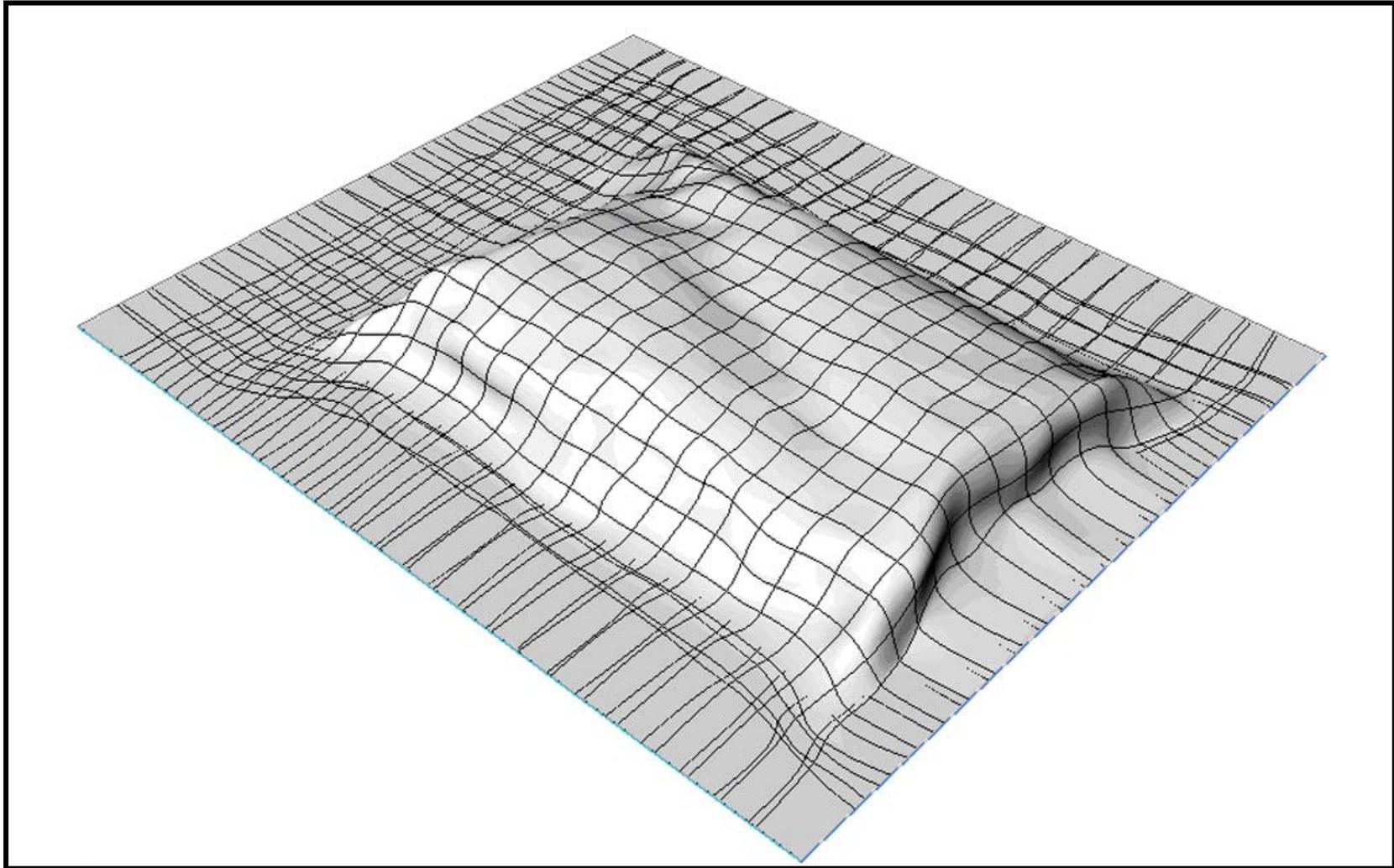


FIGURA 53. Modelo digital 3D de la muestra A-4.

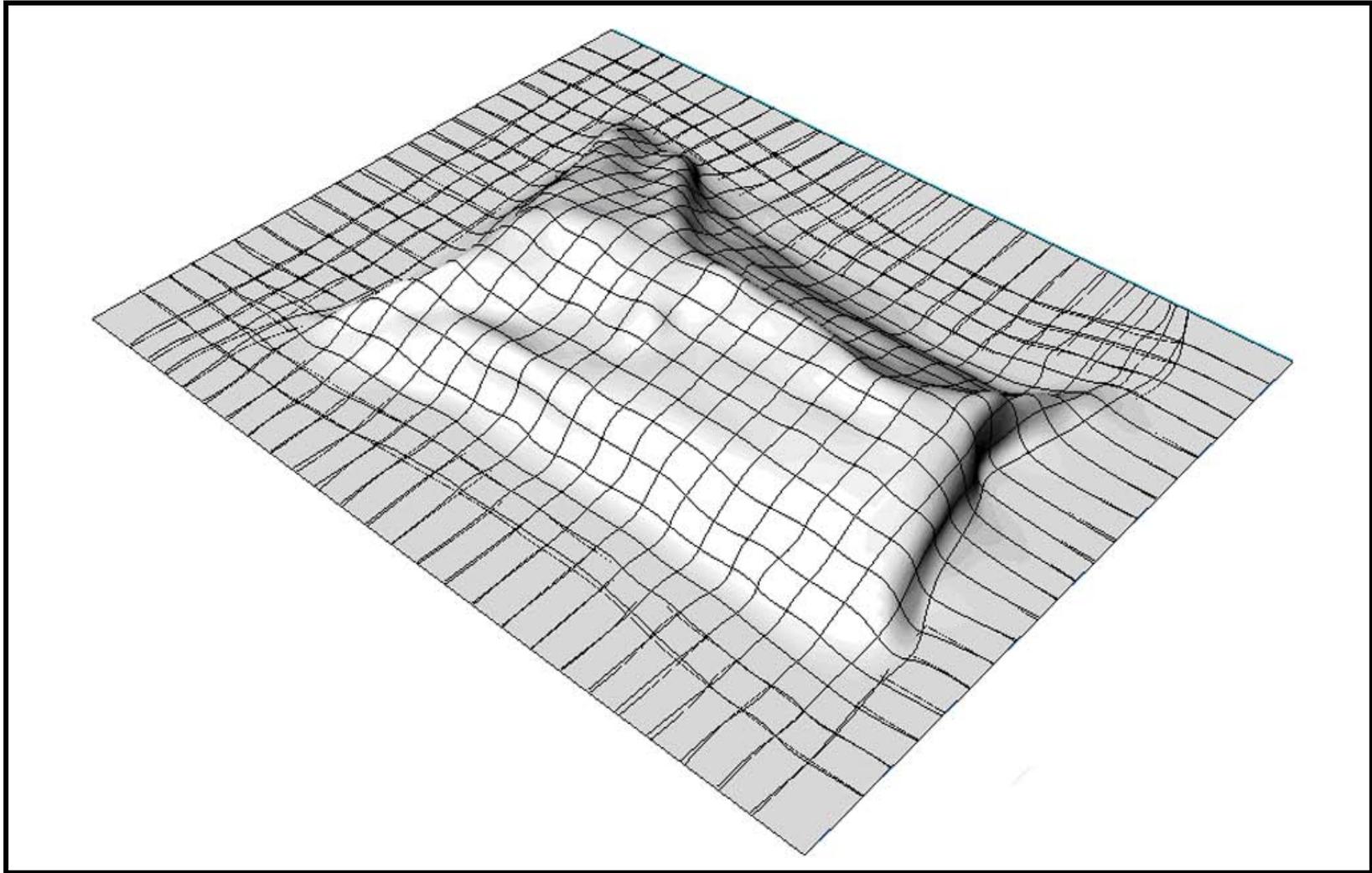


FIGURA 54. Modelo digital 3D de la muestra B-7.

Rhinoceros®, este punto puede variar bastante debido al mayor tamaño del elemento y por ende ubicar otro nodo mucho más lejano. Este fenómeno de generación de malla con elementos más grandes se ve claramente en las figuras de la sección 4.7.

En el CUADRO 16 se muestran las estadísticas para los modelos analizados en ALGOR® y en la FIGURA 55, 56 y 57 se muestran los modelos mallados de muestras A-3, A-4 y B-4 respectivamente el resto de los muestras se presentaran el ANEXO 6.

4.6.3 Diagrama de contorno. Este diagrama permite ver paso a paso como va ocurriendo el desarrollo del proceso térmico es decir permite tener un análisis visual del proceso de transferencia de calor en los conos de jurel envasados al vacío. En las FIGURAS 58, 59 y 60 se presenta el estudio visual de distribución de calor para los cortes longitudinales (plano ZX) de las muestras A-3, A-4 y B-7, los cortes longitudinales para cada muestra, se realizaron exactamente donde se ubica el nodo más frío, para así tener una mejor apreciación del análisis. Los diagramas de contorno de las muestras restantes se presentaran en el ANEXO 7.

CUADRO 16. Estadísticas de los modelos digitales de las 6 muestras evaluadas.

	Conos de jurel					
	A-1	A-3	A-4	B-6	B-7	B-8
Número de nodos	13230	21376	13518	14811	13743	18447
Número de elementos	40106	52294	30617	45357	39118	41268
Volumen (m³)	0,000243	0,000255	0,000227	0,000245	0,000213	0,000236
HDD total (Gb)	6,04	8,44	5,08	7,03	6,20	6,68
Tiempo simulación (h)	26,54	30,84	15,81	25,57	19,77	26,36

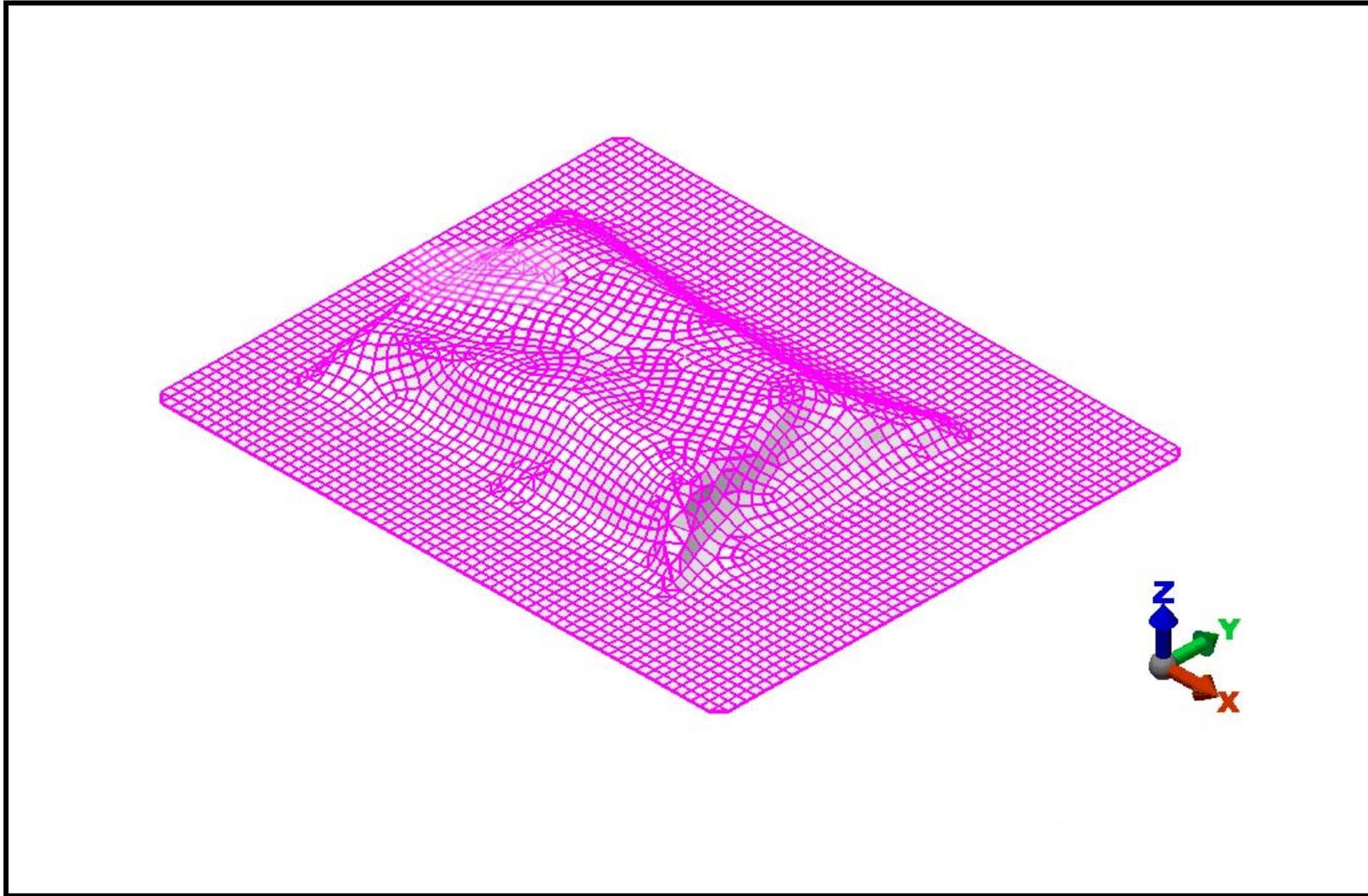


FIGURA 55. Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra A-3.

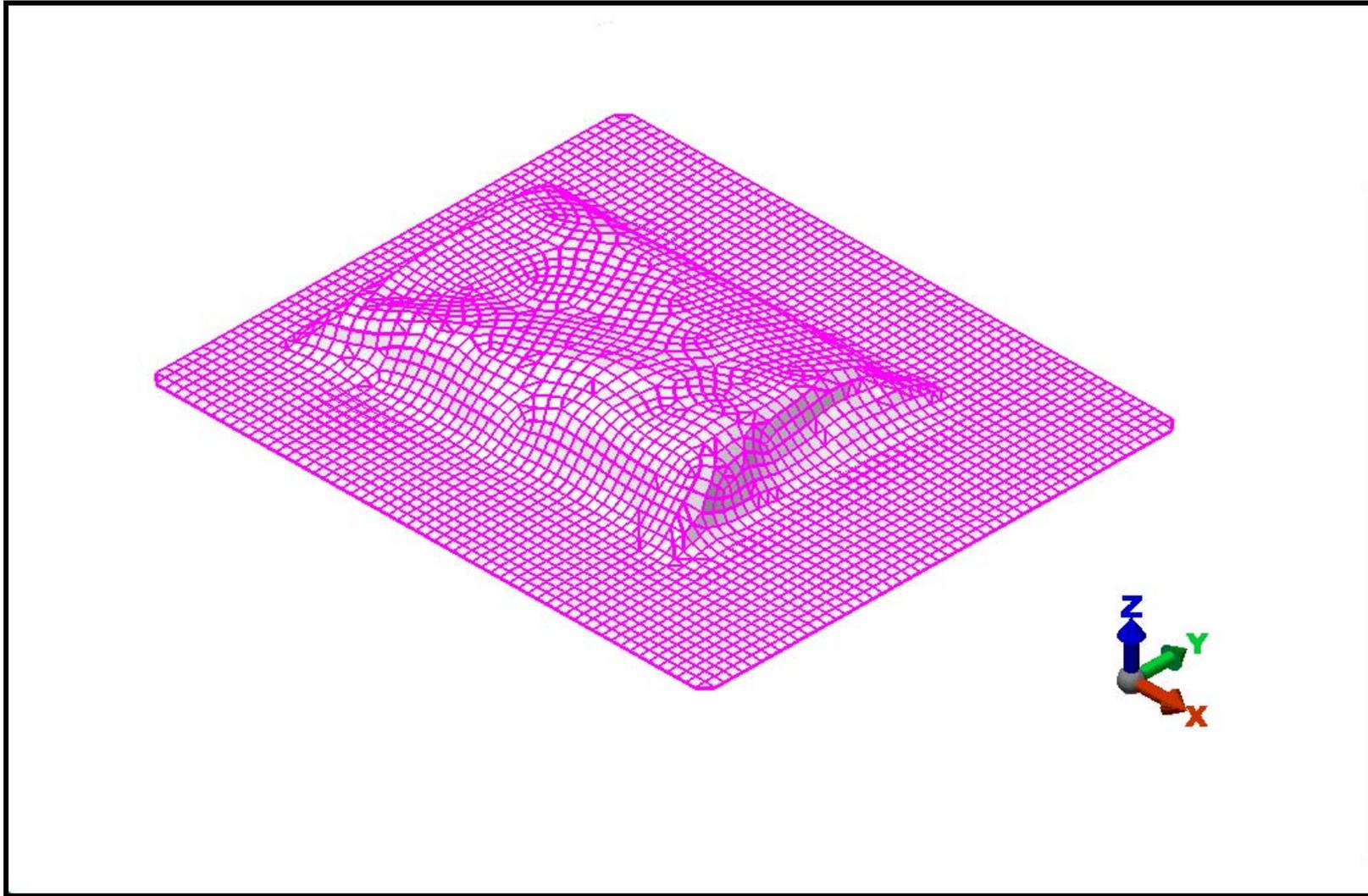


FIGURA 56. Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra A-4.

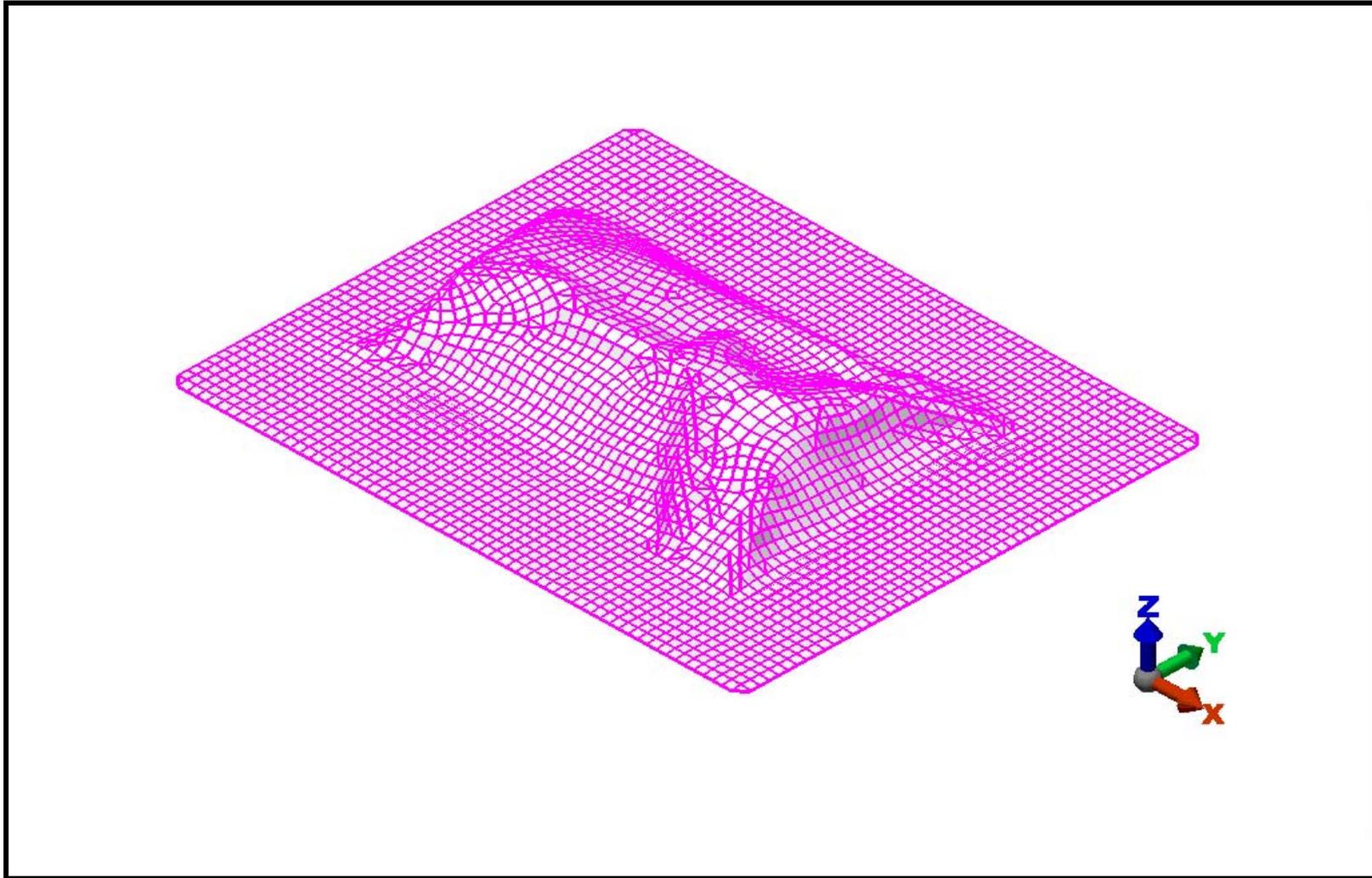


FIGURA 57. Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra B-7.

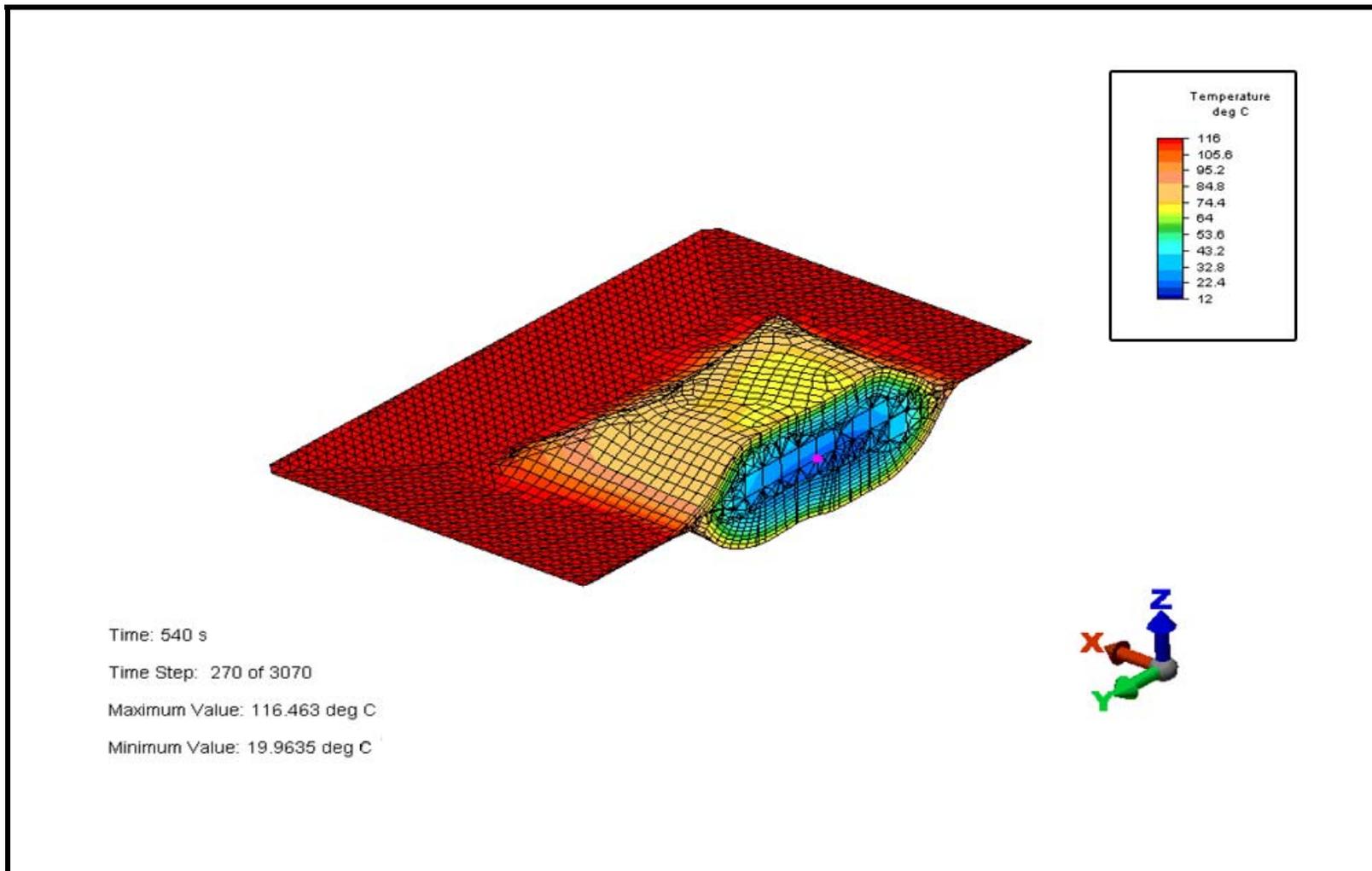


FIGURA 58. Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra A-3.

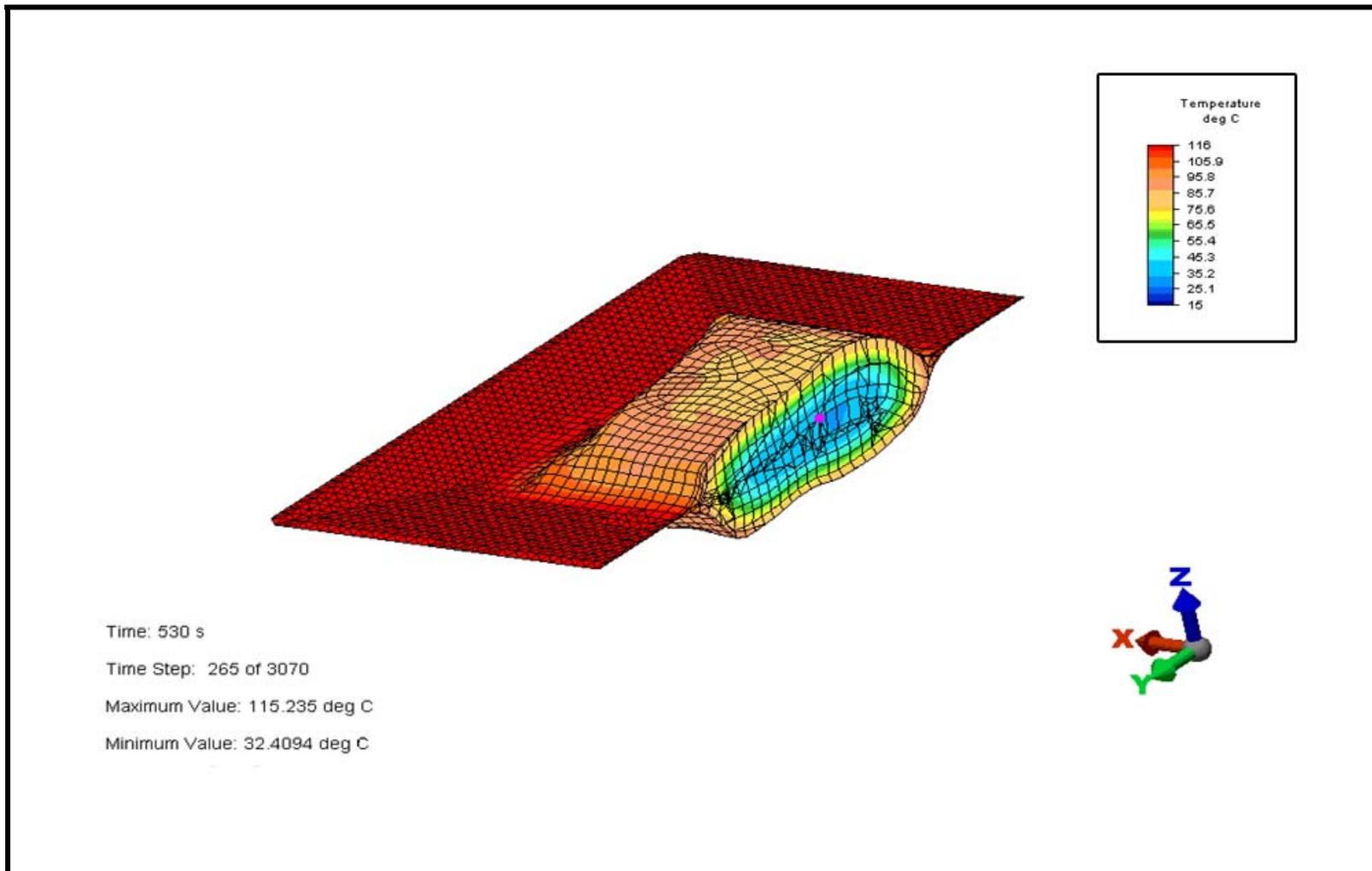


FIGURA 59. Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra A-4.

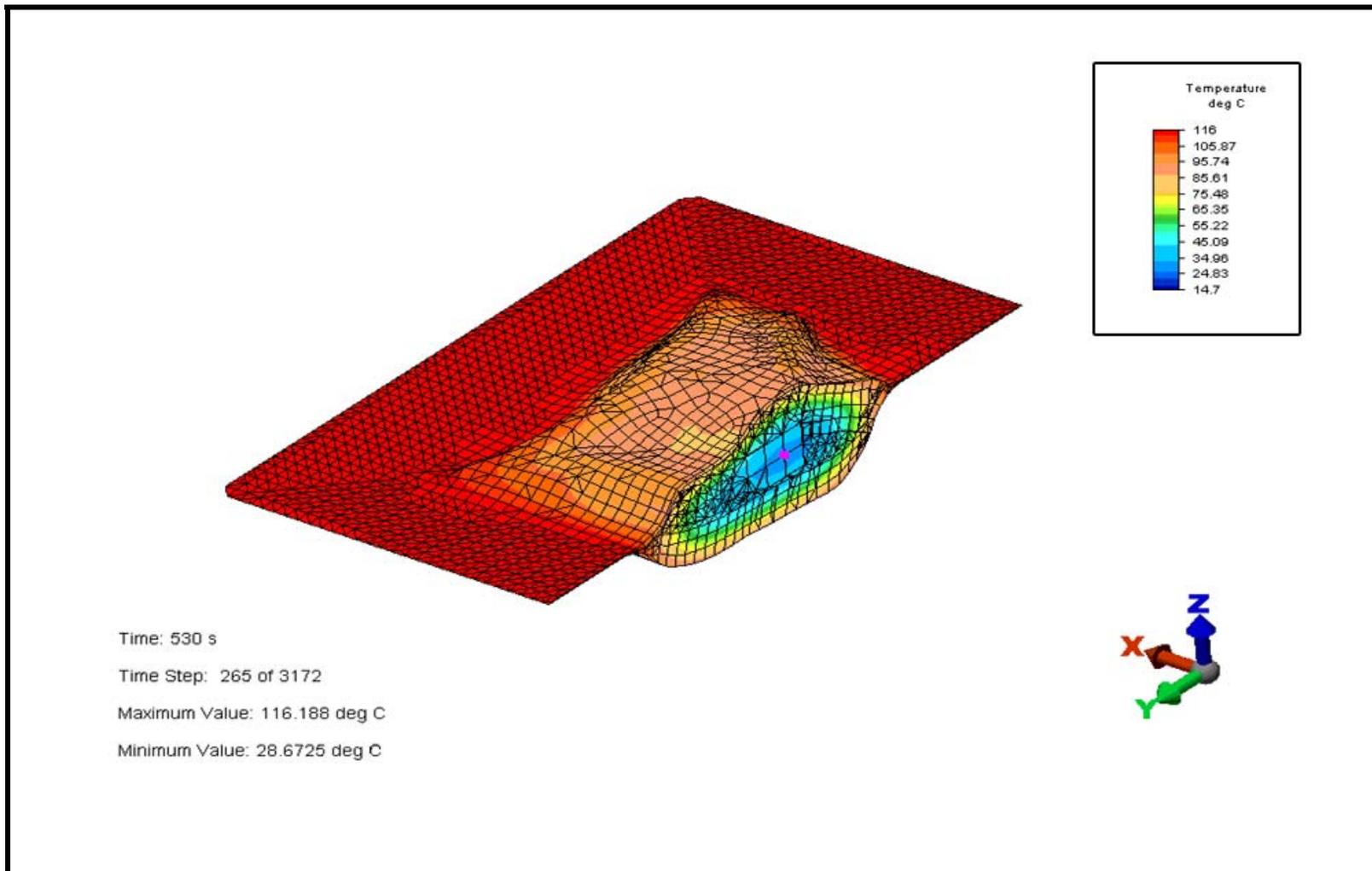


FIGURA 60. Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra B-7.

4.7 Recuento de la población sobreviviente al tratamiento térmico

Después del tratamiento térmico aplicado para las 6 muestras evaluadas, se sembraron por triplicado sobre agar dextrosa peptona para el recuento de esporas. En el CUADRO 17 se muestran los recuentos obtenidos para las 6 muestras evaluadas donde las muestras A-1, A-3 y A-4 corresponden al primer tratamiento y las muestras B-6, B-7 y B-8 al segundo tratamiento. En las FIGURAS 61, 62, 63 se muestran las unidades formadoras de colonias (UFC) de suspensión obtenidas para las muestras A-3, A-4 y B-7 respectivamente y los recuentos obtenidos para las muestras A-1, B-6 y B-8 se incluyen en el ANEXO 8.

CUADRO 17. Cuantificación de esporas de *B. stearothermophilus* recuperadas después de los tratamientos térmicos aplicados.

Recuento primer tratamiento (UFC/0,01 ml)			
Muestras / repeticiones	1	2	3
A-1	9 x 10	2,7 x 10	3,2 x 10 ²
A-3	3.5 x 10 ²	2,6 x 10 ²	2,6 x 10 ²
A-4	1,3 x 10 ²	1,5 x 10 ²	1,6 x 10 ²
Recuento segundo tratamiento (UFC/0,01 ml)			
Muestras/ repeticiones	1	2	3
B-6	1,2 x 10 ²	1,6 x 10 ²	1,8 x 10 ²
B-7	6,3 x 10	8,8 x 10	4,5 x 10
B-8	3,2 x 10 ²	4,2 x 10 ²	4 x 10 ²

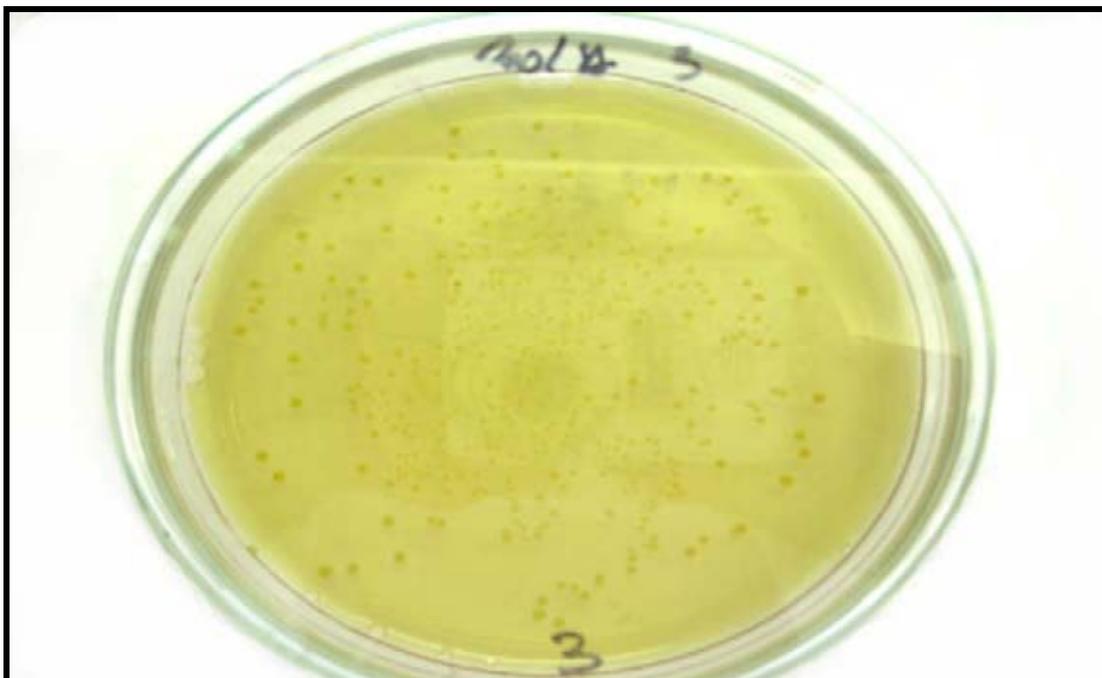


FIGURA 61. UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra A-3 después del tratamiento térmico.



FIGURA 62. UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra A-4 después del tratamiento térmico.

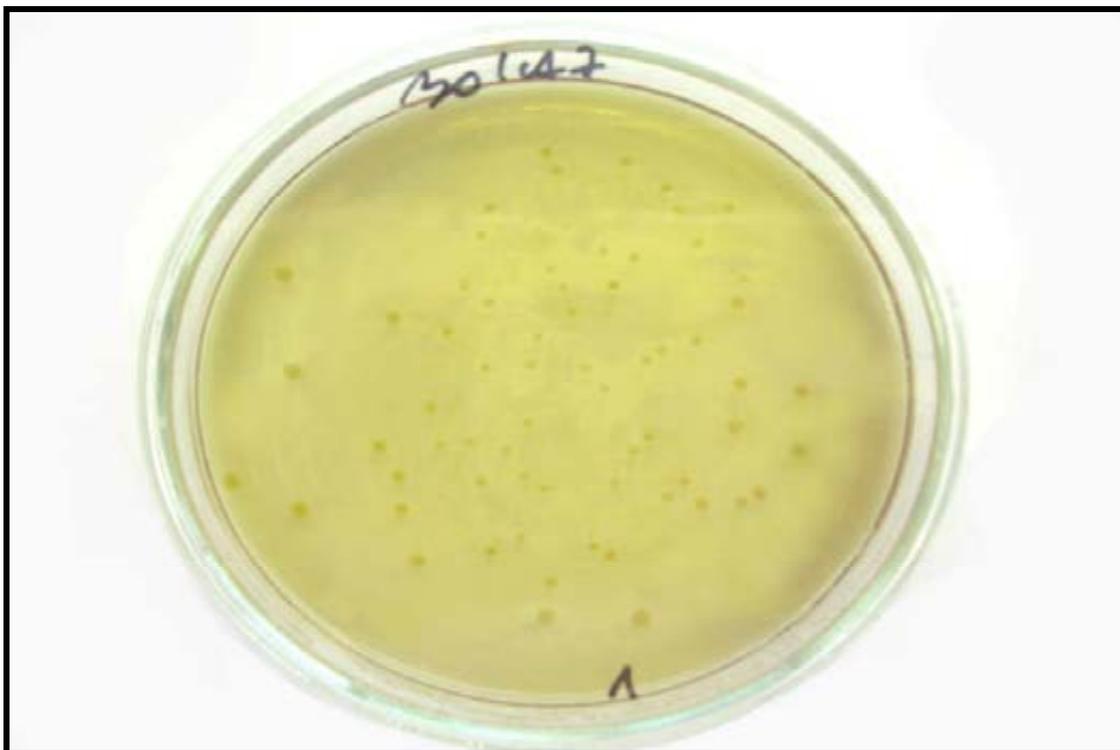


FIGURA 63. UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra B-7 después del tratamiento térmico.

4.8 Validación de los datos obtenidos por simulación

La validación del tratamiento térmico por métodos microbiológicos se realizó en conjunto con la técnica ya implementada de uso de termocuplas con ajuste de perfiles simulados y experimentales, solo con la finalidad, de apoyar la teoría de que esta técnica será implementada en forma individual en un futuro para el mismo tipo de producto con la misma forma y el mismo tipo de bolsas, es decir, para verificar que el coeficiente global de transferencia de calor U usado para este tipo de envases es el adecuado.

4.8.1 Ubicación nodo de la termocupla y ajuste de perfiles de temperatura experimentales y simulados. Una vez encontradas las coordenadas se exportó un paso cualquiera de la simulación correspondiente y se buscó el nodo

que concuerde en su mayor grado con las coordenadas (x, y, z) halladas en el producto, es posible no encontrar las mismas coordenadas ubicadas en el modelo físico ya que la malla fue generada cada 3 mm. De esta manera se pudo identificar el nodo correspondiente a la ubicación de la termocupla en modelo digital analizado en ALGOR® como se observa en la FIGURA 64, 65 y 66. En el CUADRO 18 se presentan los nodos correspondientes a las termocuplas de cada muestra como también los nodos correspondientes a cada punto del capilar evaluado.

En el CUADRO 19 se presenta el ajuste entre las curvas simuladas y experimentales expresada mediante el estadístico RMSE tanto en términos absolutos ($^{\circ}\text{C}$) como en términos relativos (%). De las 6 muestras tratadas la que presenta el mayor valor de RMSE en la etapa de calentamiento es la muestra B-7 con un valor de 2,08 % (0,66 $^{\circ}\text{C}$) y en la etapa de enfriamiento la muestra A-3 con un valor 3,86 % (2,53 $^{\circ}\text{C}$). Ahora si analizamos los valores de RMSE del proceso completo, la muestra que presenta el mayor valor es la muestra B-7 con un valor de 2,17 % (1.12 $^{\circ}\text{C}$). De los resultados mostrados se puede inferir que no existen diferencias entre los perfiles simulados y experimentales de las muestras del tratamiento A ni del tratamiento B ya que los valores de RMSE absolutos y relativos indican un buen ajuste al encontrarse muy por debajo del criterio ingenieril adoptado (<5%).

En la FIGURA 67, 68 y 69 se muestra el perfil de temperatura experimentales y simulados para las muestras A-3, A-4 y B-7 respectivamente. El resto de ubicación de los nodos en los modelos analizados y perfiles de temperatura de las muestras A-1, B-6 y B-8, se incluyen en el ANEXO 9 y 10, respectivamente

4.8.2 Ubicación nodo y comparación de los datos experimentales y simulados del capilar. Posterior a la ubicación de la coordenadas se ubicó el nodo correspondiente a cada punto del capilar en modelo digital analizado en ALGOR® en base a los limites del capilar y una tendencia lo mas lineal posible entre los 3 puntos, como se explica en la sección 3.5.5 se pudo identificar el nodo correspondiente en el modelo digital como se observa en la FIGURA 64, 65 y 66. Para las muestras A-3, A-4 y B-7 respectivamente. Las demás muestras evaluadas se incluirán en el ANEXO 9.

En CUADRO 20 se presentan las reducciones decimales (S) obtenidos de cada muestra a partir de los recuentos realizados después del tratamiento térmico, y también una tabla de comparación de los valores S promedio estimados ($\bar{S}_{\text{estimado}}$) y S promedio experimentales ($\bar{S}_{\text{experimental}}$) que permitieron validar los resultados obtenidos como se aprecia en CUADRO 21, los valores S que validan los resultados, presentan un error relativo mas alto de 7,35% en cuanto a promedios para la muestra A-6 con un $\bar{S}_{\text{experimental}}$ de 4,216 y un $\bar{S}_{\text{estimado}}$ de 4,526, mientras que el error relativo mas bajo lo presentó la muestra A-3 con un error relativo de 0,13% para un $\bar{S}_{\text{experimental}}$ de 3,928 y un $\bar{S}_{\text{estimado}}$ de 3,933 respectivamente. En el ANEXO 11 se puede apreciar en detalle como fueron obtenidos los valores $\bar{S}_{\text{estimado}}$.

Los resultados simulados se obtuvieron en 3 puntos distintos del capilar tratando de abarcar siempre toda la posible gama de reducciones decimales que se pudiesen dar debido al largo del capilar y por ultimo los recuentos obtenidos experimentalmente se realizaron en triplicado asegurándose que los resultados utilizados para validar biológicamente el proceso térmico son de completa fidelidad. En alguna oportunidad los recuentos obtenidos por triplicado en una bolsa no fueron tan parejos (tal como lo indica la desviación asociada al

promedio), esto pudo ser causado por una homogenización insuficiente del contenido del capilar debido a su reducido tamaño. Sin embargo el rango de desviación de los resultados experimentales siempre se encuentra dentro del rango obtenido por simulación que era lo esperado.

Era de esperarse que el rango de desviación de los S experimentales se encuentre dentro del rango de desviación de los S estimados. Debido a que, si bien, se alcanza diferentes valores letales en cada punto del capilar tratado térmicamente, al realizar el recuento esta cantidad de esporas recuperadas se distribuye en partes iguales al ser homogenizada la suspensión. Por lo que, los recuentos obtenidos a partir de cada triplicado serán siempre muy parecidos y por ende sus S calculados también. Esto no ocurre al obtener los S estimados obtenidos por simulación ya que en cada punto del capilar se pueden obtener los valores letales puntuales, por lo tanto, su rango de desviación es mayor pero siempre abarca el rango de desviación de los S experimentales.

Una vez comparados los resultados experimentales de los capilares con los estimados como se muestra en el CUADRO 21 y confirmado el ajuste de curvas se puede afirmar que el nodo mas frío obtenido del modelo digital por simulación corresponde al nodo mas frío del alimento.

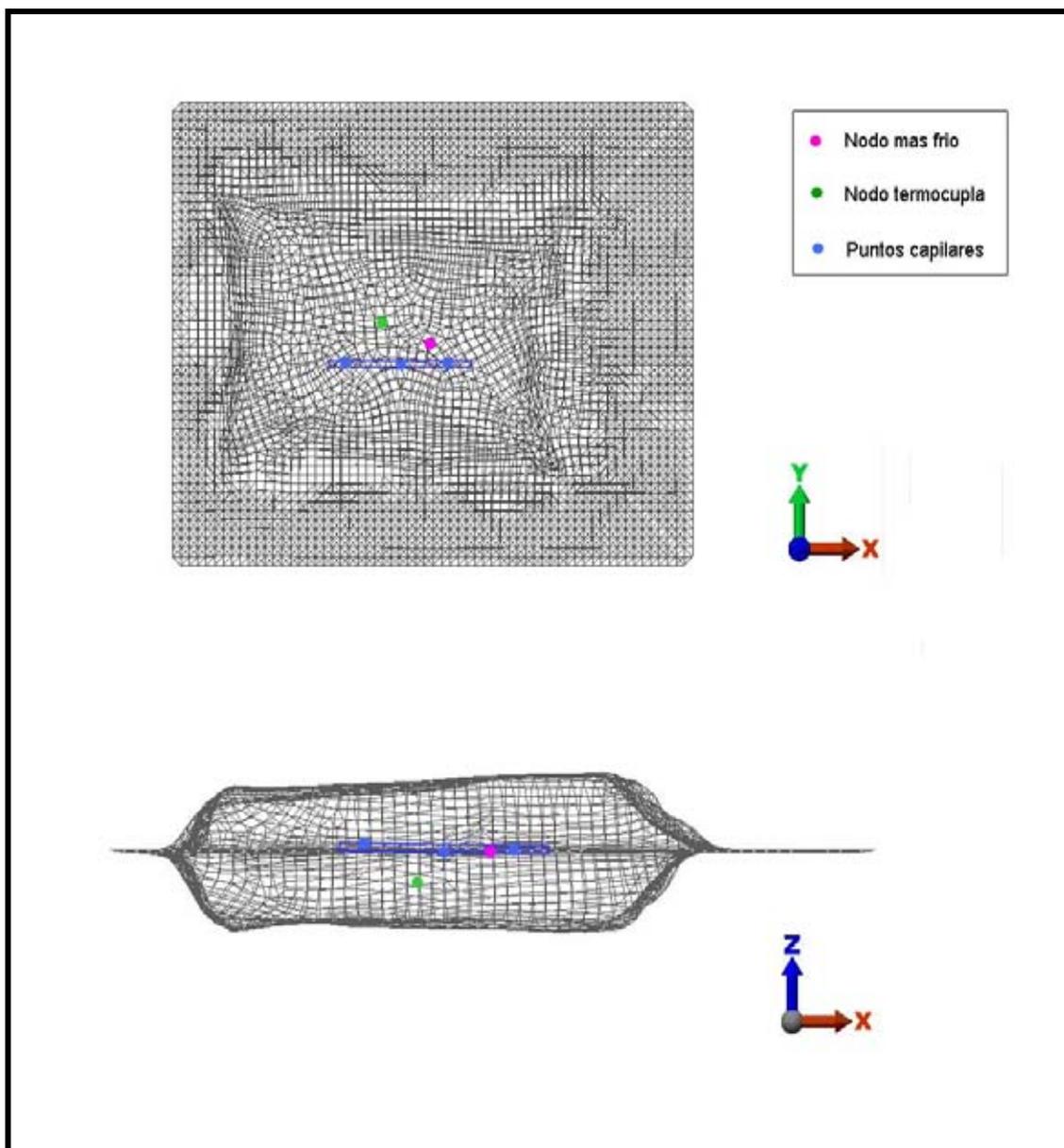


FIGURA 64. Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra A-3.

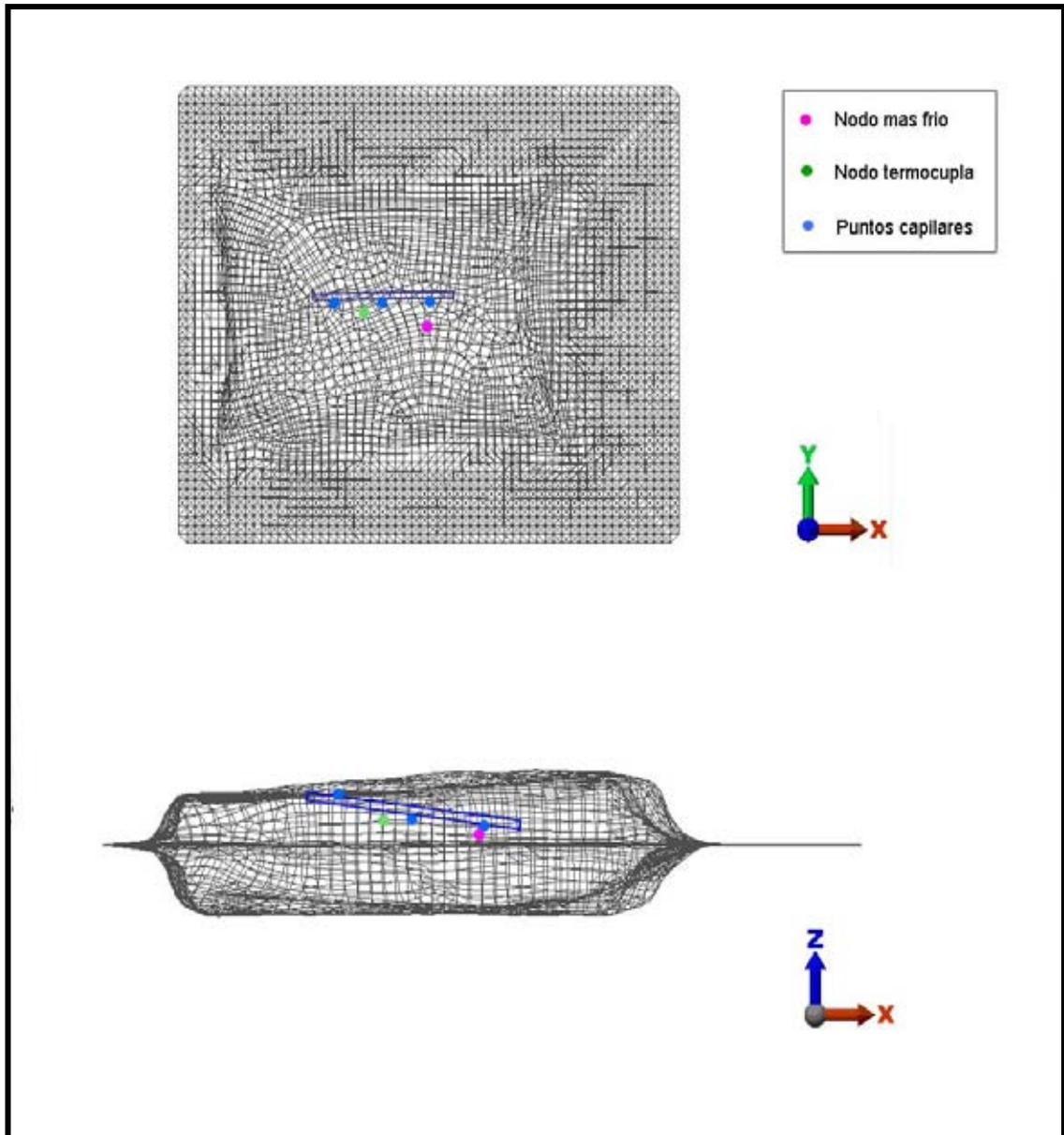


FIGURA 65. Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra A-4.

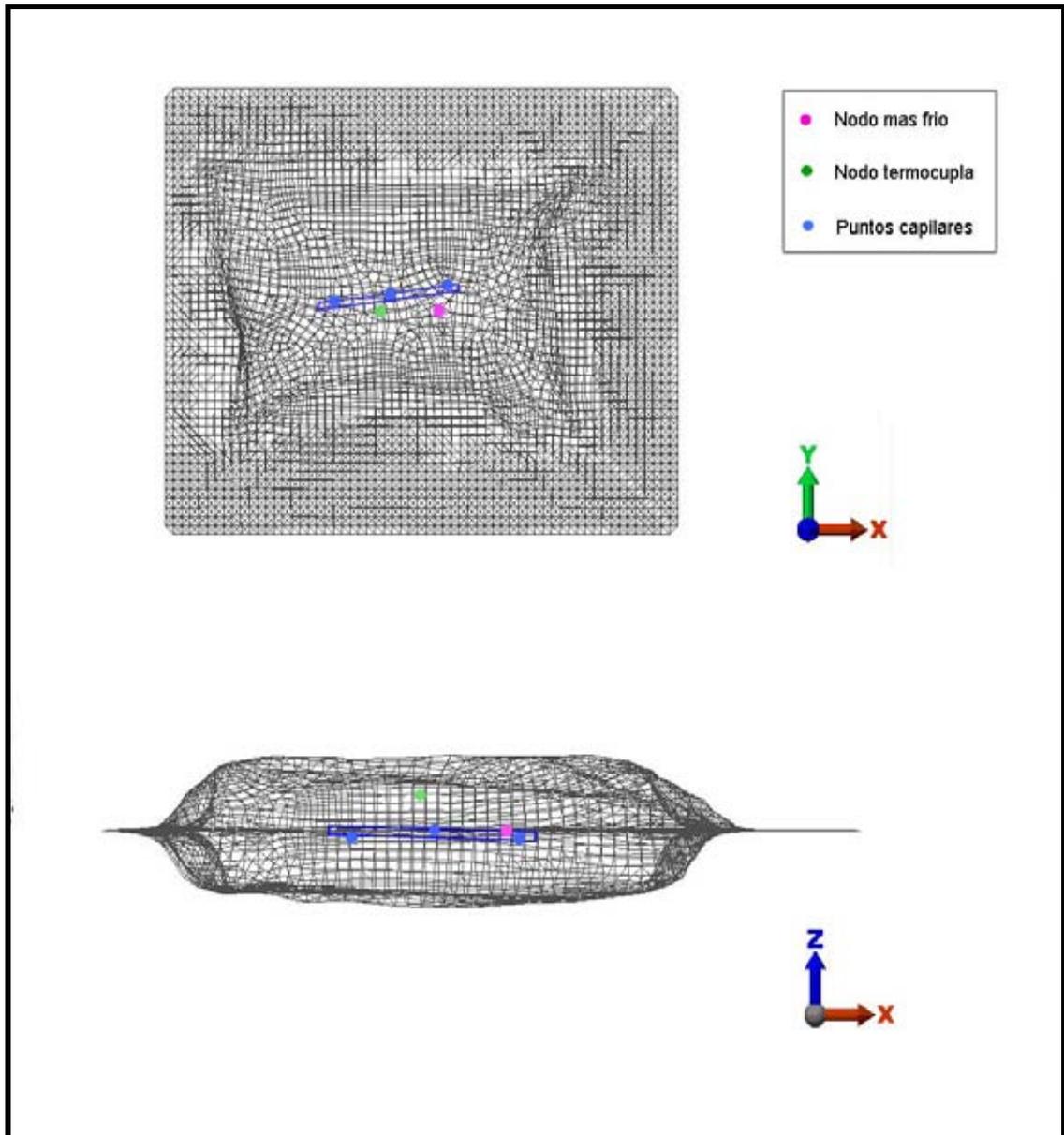


FIGURA 66. Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra B-7.

CUADRO 18. Nodos de la termocupla y del capilar ubicado en cada una de las muestras evaluadas.

Muestra	Ubicación capilar	Nodo capilar	Nodo termocupla
A-1	P1	9813	11425
	P2	9850	
	P3	9966	
A-3	P1	20300	16641
	P2	21292	
	P3	17709	
A-4	P1	6054	6668
	P2	6666	
	P3	8994	
B-6	P1	13868	9163
	P2	12644	
	P3	14477	
B-7	P1	12121	12686
	P2	10855	
	P3	12067	
B-8	P1	12791	12942
	P2	12735	
	P3	12709	

CUADRO 19. Valores de RMSE para las etapas de calentamiento, enfriamiento y proceso completo.

Muestras	Etapa calentamiento		Etapa enfriamiento		Proceso completo	
	RMSE (°C)	RMSE (%)	RMSE (°C)	RMSE (%)	RMSE (°C)	RMSE (%)
A-1	0,675	1,452	2,859	3,55	1,119	2,084
A-3	0,466	1,121	2,525	3,864	1,236	2,042
A-4	0,303	0,448	2,311	2,760	1,099	1,334
B-6	0,559	1,281	1,434	2,103	0,833	1,500
B-7	0,658	2,076	2,055	2,488	1,124	2,173
B-8	0,279	0,481	2,132	2,708	1,028	1,336

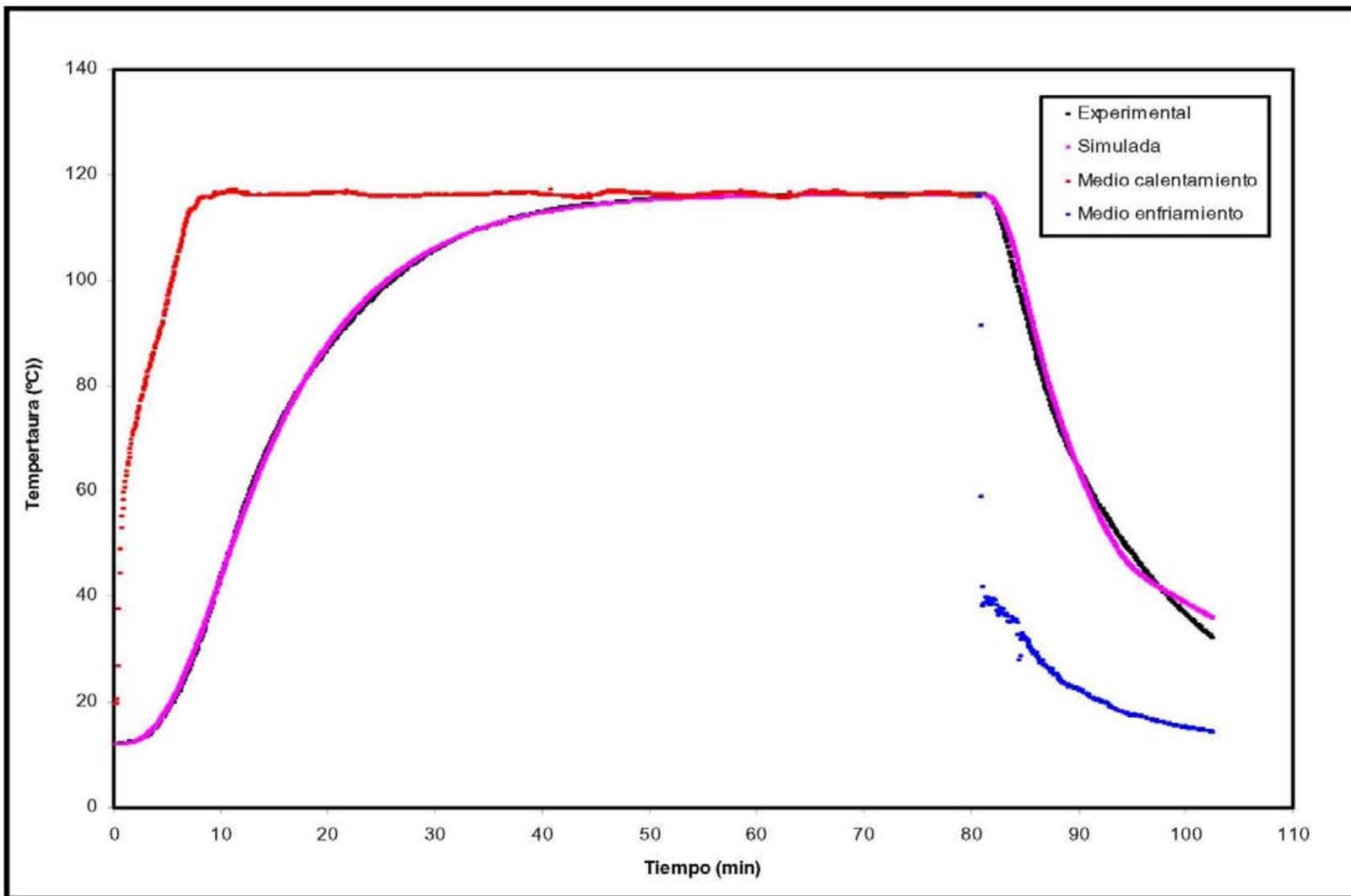


FIGURA 67. Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra A-3.

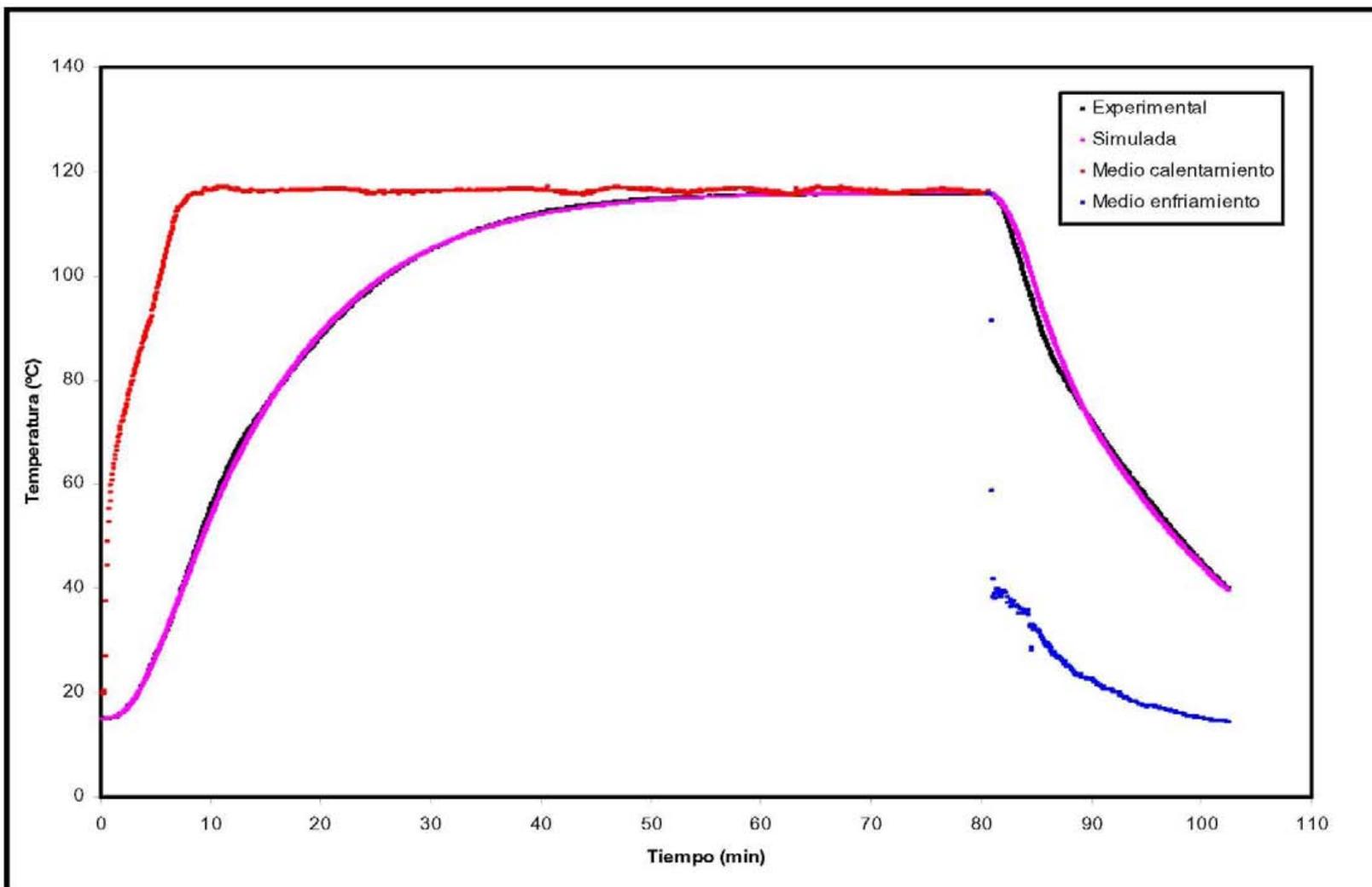


FIGURA 68. Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra A-4.

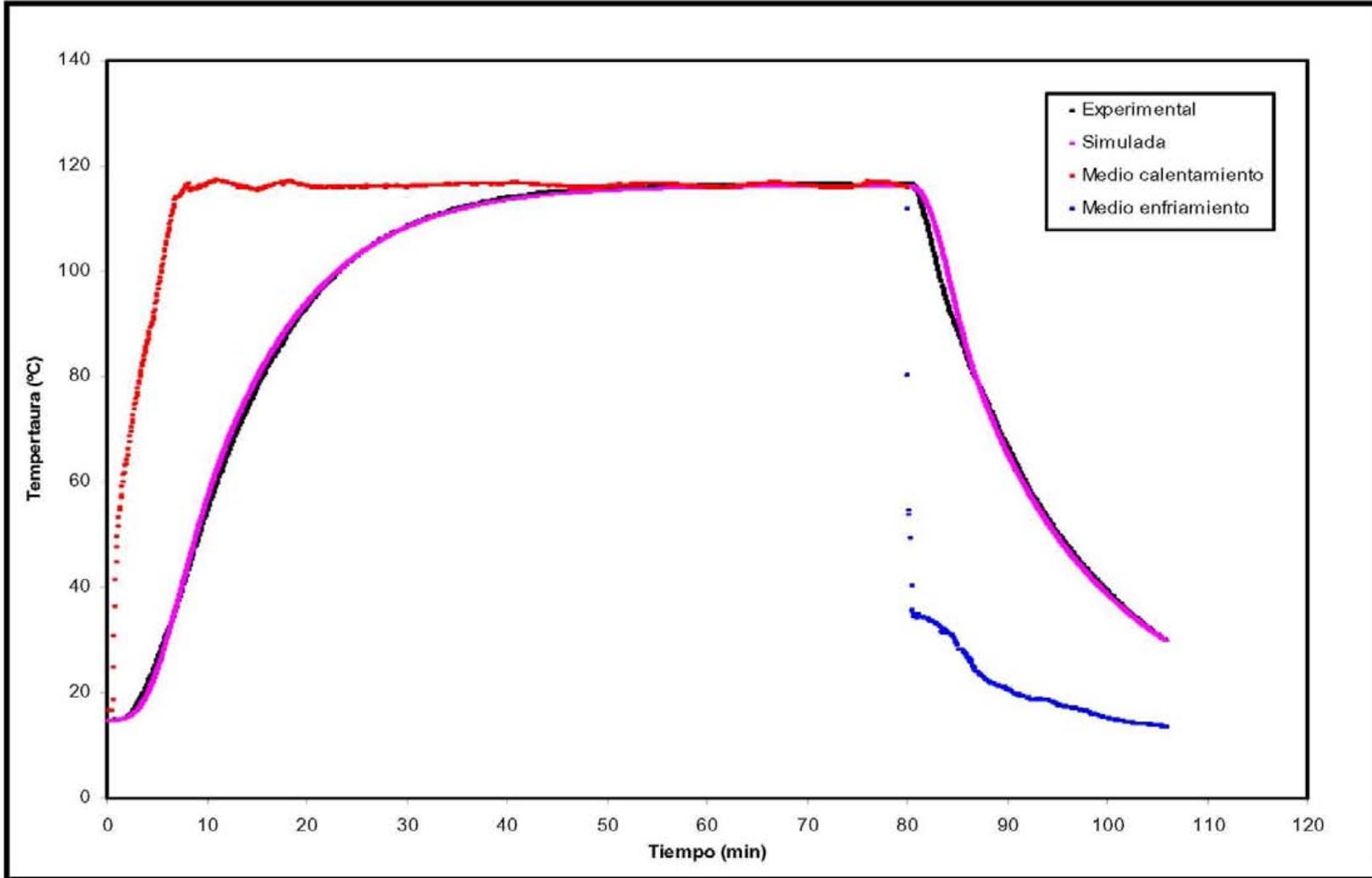


FIGURA 69. Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra B-7.

CUADRO 20. Reducciones decimales experimentales ($S_{\text{experimental}}$) obtenidas a partir de los recuentos de las muestra evaluadas.

Muestra	Nº de recuento	$S_{\text{experimental}}$	$\bar{S}_{\text{experimental}}$	$\sigma^{(5)}$
A-1	1	4,433	4,090	$\pm 0,299$
	2	3,956		
	3	3,882		
A-3	1	3,842	3,928	$\pm 0,074$
	2	3,974		
	3	3,967		
A-4	1	4,270	4,229	$\pm 0,037$
	2	4,220		
	3	4,197		
B-6	1	4,327	4,216	$\pm 0,099$
	2	4,186		
	3	4,135		
B-7	1	4,588	4,588	$\pm 0,146$
	2	4,443		
	3	4,734		
B-8	1	3,882	3,810	$\pm 0,063$
	2	3,764		
	3	3,785		

⁵ Desviación estándar.

CUADRO 21. Comparación \bar{S} promedio experimental con \bar{S} promedio estimado del capilar.

Muestra	Experimental		Estimado		Error relativo %
	$\bar{S}_{\text{experimental}}$	σ	$\bar{S}_{\text{estimado}}$	σ	
A-1	4,090	$\pm 0,299$	4,155	$\pm 0,154$	1,589
A-3	3,928	$\pm 0,074$	3,933	$\pm 0,182$	0,127
A-4	4,229	$\pm 0,037$	4,483	$\pm 0,740$	6,006
B-6	4,216	$\pm 0,099$	4,526	$\pm 0,154$	7.353
B-7	4,588	$\pm 0,146$	4,754	$\pm 0,152$	3.618
B-8	3,810	$\pm 0,063$	4,097	$\pm 0,336$	0.075

4.9 Evaluación microbiológica de la letalidad de los tratamientos térmicos aplicados

El basar un tratamiento térmico en la ubicación exacta del punto mas frío no se logra en su gran mayoría con buen éxito, debido a la forma irregular del producto y además de lo extremadamente difícil que es ubicar el extremo sensible de la termocupla en un punto fijo del producto con total exactitud, sin evitar su desplazamiento durante esta maniobra. Es por esto que una vez validados los resultados experimentales con los simulados, se procedió a obtener el nodo correspondiente al punto de más lento calentamiento/enfriamiento en cada muestra tratada para poder evaluar la letalidad del proceso térmico. En el CUADRO 22 se presentan el nodo más frío

correspondiente a cada muestra tratada, con su respectivas coordenadas tridimensionales (x, y, z).

Una vez validado los resultados y con el nodo más frío ya ubicado se obtuvo el historial tiempo/temperatura de cada una de las muestras simuladas. A partir de estos se calculó la letalidad del proceso considerando los parámetros cinéticos del *Bacillus stearothermophilus*, para lograr un valor esterilizante de 8.4 min (4 ciclos) que se puede observar en el CUADRO 23. El mayor aporte a la letalidad del proceso completo lo otorga en su mayor grado el tiempo del operador, sin ser despreciable el valor que otorga la parte de enfriamiento.

Por otro lado de las 6 muestras evaluadas, solo las muestras B-6 y B-7 cumplen con las reducciones decimales previamente establecidas de 4 ciclos logarítmicos (8,4 min) o superior, el resto de las muestras evaluadas se concentran por debajo del valor esterilizante requerido. Esto era de esperarse, porque si bien, se utilizó una bolsa tipo para establecer el tiempo de procesamiento la bolsa tipo utilizada no se eligió en base a la peor condición (la de mayor diámetro), sino más bien a la de menor diámetro, esto último con la finalidad de obtener apromidamente 4 reducciones decimales como máximo en las de menor diámetro y en las de mayor diámetro valores esterilizantes más bajos, es decir, obtener siempre recuentos cuantificables.

Las ventajas del uso de capilares se atribuye específicamente a lo demostrado en el CUADRO 24 donde podemos observar que las letalidades alcanzadas en cada una de las bolsas son muy similares, por lo que se podría establecer que sería necesario aproximadamente una letalidad de 1,15 en los capilares, para lograr el valor esterilizante previamente establecido de 4 en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento. Entonces, podríamos basar nuestro proceso en el valor esterilizante obtenido para la ubicación del capilar e indirectamente alcanzar la letalidad requerida en el punto más frío con un factor de seguridad

del 15% el cual sería notoriamente más bajo que el factor que actualmente se utiliza en las industrias conserveras de aproximadamente el 50%.

En el CUADRO 25 se presenta una comparación de los valores esterilizantes obtenidos por simulación para el nodo más frío, el nodo de la termocupla y los 3 puntos de los capilares para cada muestra tratada térmicamente. Como se puede observar la termocupla de la muestra B-8 con el nodo más frío se encuentra bastante cerca con valores S muy cercanos (3,724 y 3,838) en comparación con el resto de las muestras, esto se puede confirmar en forma física en el ANEXO 9.

En el CUADRO 25 se observa que las termocuplas de las muestras A-4, B-7 y B-8 son las que se encuentran más cercanas al capilar por la similitud en sus S . El punto P2 con la termocupla de la muestra A-4, el punto P1 con la termocupla de la muestra B-7 y el punto P2 con la termocupla de la muestra B-8 respectivamente. Mientras que el punto P3 de la muestra A-3 se encuentran lo bastante cercano a su nodo más frío respectivo.

La concordancia de los datos simulados obtenidos en cuanto a valores esterilizantes concuerda con lo esperado experimentalmente según la ubicación del capilar en las radiografías o la cercanía de éste con el nodo de la termocupla y nodo más frío, confirmando la veracidad de los datos obtenidos. Además en el CUADRO 25 se puede observar que los valores esterilizantes de cada bolsa, obtenidos en cualquier otro punto (como son el nodo de la termocupla y los nodos del capilar) que no sea el nodo más frío son superiores al valor esterilizante logrado en el punto más frío, lo que muestra, que en ninguna bolsa se logró ubicar con exactitud el punto de más lento calentamiento/enfriamiento por lo que se hace necesario utilizar factores de seguridad para incluir las incertidumbres del método. De acuerdo a los

resultados obtenidos se recomienda utilizar un factor de seguridad del 15% (letalidad = 1,15).

Finalmente, el siguiente paso para futuras investigaciones debería estar enmarcada en la posibilidad de complementar la metodología propuesta mediante el uso de capilares confeccionados a partir de BIUs (Biological Indicator Units) disponibles comercialmente en la actualidad cuyo fundamento es el viraje de color para indicar la supervivencia de las esporas microbianas.

Por lo general las industrias conserveras enfocan sus tratamientos térmicos hacia el microorganismo que causa daño a la salud, es decir, realizan sus tratamientos térmicos en base a la destrucción de patógenos como el *Clostridium botulinum*. Esto conlleva a otra de las ventajas del uso de capilares, que a pesar de no utilizar esporas de este microorganismo, permite calcular y conocer los ciclos que serían necesarios reducir de esporas de *B. stearothermophilus* para alcanzar el efecto esterilizante deseado para las esporas de *Clostridium botulinum* y de esta forma evitar correr riesgos con la manipulación de capilares con esporas de microorganismos patógenos. Sin embargo al considerar esta ventaja en el desarrollo de los BIUs (Biological Indicator Units) se debe tomar en cuenta, que la población inicial a utilizar estaría enfocada a la cantidad de esporas que logre después del tratamiento térmico a una reducción tal que no implique cambio de color confirmando la ausencia de las esporas de este microorganismo. Por lo tanto si se quisiera lograr una reducción de 4 ciclos la población a utilizar debería ser mucho más baja ($N_0 = 10^3 / 0.04$ ml) para lograr la reducción total en el capilar ($N_f = 10^{-1} / 0.04$ ml). En el ANEXO 12 se incluyen algunos valores referenciales calculados en base a la destrucción de capilares con esporas de *B. stearothermophilus*. Además de ejemplos de cálculo.

CUADRO 22. Coordenadas (x, y, z) correspondientes al nodo más frío en las muestras evaluadas.

Muestra	Nodo más frío	Coordenadas nodo (m)		
		x	y	z
A-1	9790	0,0874903	0,0749917	0,00052829
A-3	17851	0,0915264	0,0732211	0,0001257
A-4	10622	0,0889098	0,0729465	0,00229458
B-6	13055	0,0625479	0,0738377	-0,00023494
B-7	10778	0,0983382	0,0751998	-2,78E-05
B-8	12675	0,0811649	0,0869624	0,0005138

CUADRO 23. Valores de F_0 y S estimados en el punto más frío para las 6 muestras evaluadas.

Etapa	Muestras tratadas					
	A-1	A-3	A-4	B-6	B-7	B-8
CUT	7,62E-12	3,331E-12	5,913E-12	8,047E-12	1,460E-11	6,480E-12
Tiempo operador	6,908	6,811	7,390	7,768	8,605	6,848
Enfriamiento	1,020	1,081	0,880	1,098	1,030	0,696
Proceso total	7,937	7,900	8,270	8,874	9,643	7,821
S estimado nodo más frío	3,781	3,762	3.938	4,224	4,590	3,724

CUADRO 24. Letalidad obtenida para cada una de las muestras tratadas.

Muestra	Capilar		Letalidad ($S_{\text{requerido}} = 4$)
	$\bar{S}_{\text{experimental}}$	σ	
A-1	4,090	$\pm 0,299$	1,08
A-3	3,928	$\pm 0,079$	1,02
A-4	4,229	$\pm 0,037$	1,06
B-6	4,216	$\pm 0,099$	1,07
B-7	4,588	$\pm 0,146$	1,15
B-8	3,810	$\pm 0,063$	1,01

CUADRO 25. Comparación S nodo más frío, termocupla y puntos del capilar obtenidos por simulación.

PRIMER PROCESO					
Muestra	S estimado nodo más frío	S estimado nodo termocupla	S estimado capilar		
			P1	P2	P3
A-1	3,781	4,229	4,330	4,038	4,097
A-3	3,762	4,838	4,141	3,849	3,808
A-4	3.938	4,171	5,334	4,112	4,003
SEGUNDO PROCESO					
B-6	4,224	4,810	4,473	4,405	4,700
B-7	4,590	4,914	4,930	4,670	4,662
B-8	3,724	3,838	4,482	3,859	3,952

5. CONCLUSIONES

- A partir de una suspensión de esporas de *Bacillus stearothermophilus* disponible comercialmente, es posible elaborar capilares de tamaño definido para ser expuestos a un proceso de esterilización.
- Con la ayuda de las herramientas de digitalización y modelado 3D en conjunto con la tecnología CAD/CAE es posible capturar la geometría y simular el tratamiento térmico de una bolsa tipo que será utilizada para estimar el tiempo de procesamiento térmico de conos de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.
- En cuanto a la validación, los perfiles de temperatura experimentales y simulados obtenidos en la ubicación física de la termocupla, demostró un buen ajuste con valores de RMSE por debajo del criterio ingenieril establecido del 5%. Con un máximo valor de RMSE de 2,17% (1,12 °C) y un valor mínimo de 1,33% (1,1 °C).
- En cuanto a la validación, los valores esterilizantes (S) experimentales y estimados obtenidos en la ubicación del capilar, son bastante cercanos, con un diferencia mínima de 0,13% y una máxima de 7,35% entre todas las muestras procesadas térmicamente. Además, el rango de desviación de los resultados experimentales se encuentra dentro del rango de desviación de los resultados estimados
- Los capilares que contienen microorganismos indicadores pueden ser utilizados para evaluar la letalidad del proceso con un factor de seguridad del 15%. Así, el siguiente paso debería estar enmarcado en el desarrollo

de capilares BIU (Biological Indicador Unit) para ser utilizadas en forma masiva en la industria conservera.

- La metodología propuesta donde se utilizan capilares con esporas de *Bacillus stearothermophilus* y que utiliza los principios de ingeniería reversa y como herramientas la tecnología CAD/CAE y el método de elementos finitos (FEM), se puede utilizar para validar microbiológicamente el tratamiento térmico de otros tipos de producto que varíen en cuanto a tamaño, forma, composición e inclusive envase.

- Si bien existen trabajos en el área, que se enfocan principalmente a la optimización de proceso térmicos en alimentos y vagamente al uso de capilares, no existen en la actualidad investigaciones que propongan y desarrollen un método biológico de evaluación de tratamientos térmicos a un nivel práctico en las industrias conserveras, que además valide y respalde el desarrollo futuro de capilares BIU que puedan ser obtenidos de forma masiva comercialmente. Dándole un uso más rápido y fácil de implementar.

6. RESUMEN

El principal objetivo de la presente investigación fue validar microbiológicamente el tratamiento térmico de esterilización de conos truncados de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, mediante la confección de capilares con esporas de *Bacillus stearothermophilus*. Por medio de la Ingeniería Reversa y de la tecnología CAD/CAE fue posible capturar la forma irregular compleja de las muestras evaluadas y simular los tratamientos térmicos de esterilización. La ubicación física (coordenadas x , y , z) de los capilares en las muestras se obtuvieron mediante Rayos X. Las reducciones decimales estimadas (S_{estimado}) de cada tratamiento térmico obtenidas en la ubicación física del capilar fueron determinadas previamente mediante simulación 3D. Las reducciones decimales logradas experimentalmente ($S_{\text{experimental}}$) en el capilar para cada tratamiento térmico y muestra, fueron calculadas en base a la cantidad de esporas inicial y residual determinada por recuento en placas. Los valores S promedio experimentales y estimados mostraron una buena concordancia con un error relativo que osciló en el rango de 0,13% y 7,35%. Además, el rango de desviación de los datos S experimentales confirma la concordancia con los valores S estimados al encontrarse dentro del rango de desviación de éstos. Los resultados obtenidos demostraron que es posible evaluar el tratamiento térmico de esterilización de conos de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables mediante el uso de capilares biológicos con un factor de seguridad del 15%, equivalente a una letalidad de 1,15. La metodología propuesta puede utilizarse para evaluar microbiológicamente la letalidad de un tratamiento térmico de cualquier producto que requiera ser esterilizado y para desarrollar unidades de indicadores biológicos.

SUMMARY

The main objective of this research was to validate microbiologically the thermal treatment of sterilization of Jack Mackerel cone frustum shape vacuum-packed in retortable pouches, by manufacturing capillaries with *Bacillus stearothermophilus* spores. By using Engineering Reverse principles and CAD/CAE technology was possible to capture irregular odd shape of evaluated samples and to simulate the thermal treatments of sterilization. Physical location (coordinates x, y, z) of capillaries inside pouches were obtained by means of X-rays. The estimated decimal reduction values (S_{estimado}) of each thermal treatment obtained for the capillary physical location were previously determined by using simulation 3D. The decimal reductions achieved experimentally ($S_{\text{experimental}}$) in the capillary for each thermal treatment and samples were calculated on the basis of the initial and residual quantity of spores determined by recount in plates. The S average experimental and estimated values showed a good agreement with a relative error ranged between 0,13 % and 7,35 %. In addition, the deviation range of S average experimental data confirms agreement with S average estimated values since they fell inside the deviation range of the latter. The obtained results demonstrated that it is possible to evaluate sterilization processes of jack mackerel frustum cones vacuum-packed in retortable pouches by using *Bacillus stearothermophilus* capillaries with a safety factor of 15%, equivalent to a lethality of 1,15. The proposed methodology can be used to validate microbiologically thermal treatments of other food products that need to be sterilized and to develop biological indicator unit.

7. BIBLIOGRAFIA

ALGOR, 2007. ALGOR User's Guide. Algor, Inc

ALUSA. 2007. Alusa S.A. <<http://www.alusa.cl>> (30 sep 2007)

BELLIDO. E. 2004. Jurel. Aldea Global. La Nación. Ago. 23. Santiago (Chile)

BLAKISTONE, B. 2003. Retortable Pouches. In: Encyclopedia of Agricultural and food Engineering. Ed Marcel Dekker Inc. New York. 6p.

CAGE, J. K. y CLARK, W. L. 1980. Opportunities and Constraints for Flexible Packaging of Foods. Food Technology (USA) 34(9): 28 – 31.

CALIFANO, A. N. 1981. Transferencia de Calor y Materia Durante el Escaldado de Papas. Tesis de Ph. D. La Plata, Argentina. Universidad Nacional de la Plata

CAMBIANO y VON DER BECKE, 2000. Fundamentos de la esterilización HTST y UHT. < <http://www.geocities.com/ohcop/cambiano.html>> (25 Nov 2007)

CASP, A. y ABRIL, J. 1999. Procesos de Conservación de Alimentos. A. Madrid Vicente/Mundi Prensa. Madrid. 494 p.

CATALA, R. 1982. Bolsas Flexibles Esterilizables. Características y usos específicos. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (España) 22 (2): 163-177.

- CERVANTES M. (ed). S.f. Biblioteca Virtual Miguel Cervantes. (On line). <descargas.cervantesvirtual.com/servlet/SirveObras/01937418762368296320035/006219_4.pdf>. (21 Ago. 2006)
- CHILE. SUBSECRETARIA DE PESCA (SUBPESCA). 2007. Informes sectoriales. Informe Sectorial mes de abril 2007. On line. <<http://www.subpesca.cl>> (10 mar. 2007)
- CLELAND; A.C. y EARLE, R.L. 1984. Assessment of Freezing Time Prediction Methods. J. Food Science 49: 1034-1042.
- CRISTIANINI, M. y RODRIGUES, P. 2002. Thermal Process Evaluation of Retortables Pouches Filled with Conduction Heated Food. Journal of Food Process Engineering. (25): 395 – 405.
- DATTA, A.K. 1998. Computer-Aided Engineering in Food Process and Product Design. Food Technology 52(10): 44-52.
- DE PAULA, C. y RODRIGUEZ, P. 2005. Biological Validation of Tomato Pulp Continuous Heat Process. Journal of food process engineering. 27(6): 449-463.
- DÍAZ, C. 2000. Análisis Teórico Experimental del Coeficiente Convectivo de Transferencia de Calor durante los Procesos de Hidrocalentamiento e Hidroenfriamiento de Alimentos. Tesis Lic. Ing. Alimentos Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.
- FEEHERRY, F.; MUNSEY, D y ROWLEY, D. 1986. Thermal Inactivation and Injury of *Bacillus stearothermophilus* Spore. Applied and Environmental Microbiology 53(2): 365 – 370.

- FERRER, M. 2007. Desde cero: el CAD (On line) <<http://www.arquitectura.com/cad/artic/elcad.asp>> (10 may 2007)
- FLAHERTY, J. 2000. Finite Element Analysis. Rensselaer Polytechnic Institute. New Cork, USA. 316 p.
- FOODDIGICAEELAB, 2007. Laboratorio de Digitalización 3D e ingeniería Asistida por Computador para el Procesamiento y Preservación de Alimentos. (On Line): <<http://fooddigicaelab.uach.cl>> (7 Jul 2007)
- GALLEANO. M. 2006. Radiación. Efectos Biológicos de la Radiación. Esterilización por Radiación. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- GAVIN, A. y WEDDIG, L. 1995. Alimentos Enlatados: Principios de Control del Proceso Térmico, Acidificación y Evaluación del Cierre de los Envases (Sexta edición). The Food Processors Institute. Washington. 267p.
- HAYES, P. R. 1993. Microbiología e Higiene de los Alimentos. Acribia. Zaragoza. España. 369p
- HEINTZ, D. 1980. Marketing Opportunities for the Retort Pouch. Food Technology. 34(9): 33 – 38.
- HELDMAN, D. y HARTEL, R. 1997. Principles of Food Processing. Chapman y Hall. New York. 288p.
- HERSON, A. C. y HULLAND, E. D. 1995. Conservas Alimenticias; Procesado térmico y microbiología. Acribia. Zaragoza. España. 451p.

- HU, K. H., NELSON, A. I., LEGAULT, R. R. y STEINBERG, M. P. 1955. Feasibility of Using Plastic Film Packages for Heat Processes Foods. Food Technology. 236.
- IBAÑEZ, C. 2004. Instituto Tecnológico de Aragón (On Line) <www.ita.es/ITA/imagen.asp?t=Binarios_Noticias&id=231> (16 jun 2007)
- INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP). 2007. Recursos Pesqueros "Jurel". (On line). <<http://www.ifop.cl/jurel.html>> (10 abril 2007).
- INSTITUTO TECNOLOGICO DEL PERU (ITP). 2005. Investigación y Desarrollo de Productos Pesqueros "Conservas de pescado en envases retortables". (On line). <www.itp.org.pe> (15 abril 2007).
- JAY, J. 2002. Microbiología Moderna de los Alimentos (Cuarta edición). Acribia. Zaragoza. España. 615p.
- LAMPI, R. A. 1977. Flexible Packaging for Thermoprocessed Foods. Advances Food Research. 23: 305-428.
- LAROUSSE, J. y BROWN. B. 1997. Food Canning Technology. Wiley- Vch. New York. 719 p.
- LOPEZ, A. 2006. Nuevas Tendencias de Envases y Antecedentes en la Utilización de Envases Plásticos Retortables. Valencia. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC).
- MAFART, P. 1991. Ingeniería Industrial Alimentaria. Volumen 1: Procesos físicos de conservación. Acribia. Zaragoza. España. 285p.

- MAROULIS, Z. B.; SARAVACOS, G. D. 2003. Food Process Design. CRC press. 536p.
- MERCK. 2000. In Microbiology Manual. Version 5.00.1641.1 (cd-room). Darmstadt / Germany, Laboratory Reagents Information Management.
- MERSON, R. L.; SINGH, R. P.; CARROAD, P. A. 1978. An Evaluation of Ball's Formula Method of Thermal Process Calculations. Food Technology. 32(3): 66 -71.
- MICHIELS, L. 1972. Méthode Biologique de Détermination de la Valeur Stérilisatrice des Conserves Appertisées, Ind. Alim. Agri. 89: 1349-1356.
- MITCHELL, M. 2002. Modelación Matemática como Herramienta para el Desarrollo de Productos y Procesos: Aplicación a la Esterilización Comercial del Jurel en Bolsas Esterilizables. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valparaíso. Universidad Técnica Federico Santa María. Departamento de Procesos Químicos, Biotecnológicos y Ambientales. 28 p.
- MORALES-BLANCAS, E.F., ZUÑIGA, G.M., CARRASCO, E.R. 1999. Predicción de Perfiles de Temperatura Durante el Proceso Combinado Escaldado-Hidrogenofriamiento de productos Vegetales. Caso formas Cilíndricas. XVI Jornadas de Transferencia de Calor y Materia. Santiago, Chile. P. 197.
- MORALES-BLANCAS, E. y TORRES, J. 2003a. Thermal Resistance Constants. In: Encyclopedia of Agricultural and Food Engineering. Heldman, D.R. ed Marcel Dekker Inc. New York. 4 p.

- _____. 2003b. Determination of thermal resistance parameters. In: Encyclopedia of Agricultural and Food Engineering. Heldman, D.R. ed Marcel Dekker Inc. New York. 6 p.
- NAVARRO, R. 2007. Simulación de Procesos Térmicos de Alimentos de Formas Complejas Envasadas al Vacío en Bolsas Esterilizables de Tamaño Institucional. Tesis Lic. En Ciencias de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia. 184 p.
- NELSON, A. I. y STEINBERG, M. P. 1956. Retorting Food in Plastic Bags. Food Eng., 28(1): 92 – 93.
- NICHOLAS, J. V. y WHITE, D. R. 1994. Traceable Temperatures: An Introduction to Temperature Measurement and Calibration. John Wiley & Sons. Chinchester. England. 357 p.
- PEREZ, D. 2007. Simulación de Procesos Térmicos de Alimentos de Formas Complejas Envasadas al Vacío en Bolsas Esterilizables. Tesis Lic. Ing. Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia. 235 p.
- PFLUG, I. 1987. Calculating F_T values for heat preservation of shelf-stable, low-acid canned foods using the straight-line semilogarithmic model. Journal of Food Protection (Minnesota) 50 (7): 608 – 615.
- PINO, F. 2004. Obtención de Modelos Digitales de Alimentos de Formas Irregulares Complejas mediante Digitalización Tridimensional. Tesis Lic. Ing. Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia.

- PLASPAK. 2006. Plaspak, Envases Flexibles (On Line)
<http://www.plaspak.cl/evflexib.htm> (14 Jun 2006)
- PRESCOTT, L.; HARLEY, J.; KLEIN, D. 2004. Microbiología. (Quinta edición).
España. MC Graw Hill. 1240 p.
- RED ALIMENTARIA. 2005. bolsas retortables.
<redalimentaria.com/revista/notas.php?id_articulo=408&tipo=detalles&titulo=Envases%20Retortables%3...> (20 Ago 2007)
- RHINOCEROS. 2001. NURBS Modeling for Windows. User's Guide Version 3.0
Robert McNeel & Associates. USA. 250 p.
- ROBINSON, R.; BATT, C.; PATEL, P.; 2000. *B. stearothermophilus*;
Encyclopedia of food microbiology. London, Paris. V 1. pp:125-129; 1009-1031.
- RODRIGO, M. 1981. Optimización del Proceso de esterilización-Cocción: Bases Científicas. Simposio Internacional. Instituto de Agroquímica y Tecnología de alimentos (C.S.I.C.).Valencia, España.
- RODRIGO, M. y SAFON, J. 1982. Optimización del Proceso de Esterilización-Cocción. Bases Científicas. Revista de Agroquímica y tecnología de Alimentos. 22 (1).
- RODRIGUEZ, C. 2005. Simulación Computacional de Procesos de Conducción de Calor en Alimentos de Formas Irregulares Complejas. Tesis Lic. Ing. Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia. 201 p

CHILE. UNIVERSIDAD DE CHILE, FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, DEPARTAMENTO DE SANIDAD VEGETAL. 2002. Guía de laboratorio, Preparación de Medios de Cultivo para Hongos y Bacterias. (Online). <http://agronomia.uchile.cl/webcursos/microbiologiagr/pagina%20microbiologia1/word/Guia_Lab_02_y_03.doc>. (8 ene. 2007).

SCHMIDT- HEBBEL, H., PENNACCHIOTTI, M., MASSON, L., MELLA, M., ZUCCARELLI, T., CARRASCO, C., JAÑA, W., OLIVER, H., GUZMAN, M. 1985. Tabla de composición química de los alimentos chilenos. 7ª Ed. Fac. De Cs. Químicas y Farm., Universidad de Chile. 57 p.

SENDRA, E., CAPELLAS, M., GUAMIS, B., FELIPE, X., MOR-MUR, M. y PLA, R. 1996. Irradiación de Alimentos-aspectos generales. Food Science and Technology International. 2. 1-11.

SIMPSON, R., ALMONACID, S. y MITCHELL, M. 2004. Mathematical Model Development, Experimental Validation and Process Optimization: Retortable Pouches Packed With Seafood in Cone Frustum Shape. Journal of Food Engineering. 63. 153-162.

TOLEDO, R. T. 1999. Fundamentals of Process Engineering. Kluwer. New York. 602 p.

VALENTAS, K.J., ROTSTEIN, E. y SINGH, R.P. 1997. Handbook of Food Engineering Practice. New York, CRC press. 736 p.

WARNE, D. 1989. Manual Sobre el Envasado de Pescado en Conserva. FAO. Roma. 70p.

ZHANG, Q. y CAVALIERI, R. P. 1991. Thermal Model for Steam Blanching of Green Beans and Determination of Surface Heat Transfer Coefficient. Transactions of the ASAE 34 (1): 182-186.

ZURITZ, C. A. y SASTRY, S. K. 1990. Convective Heat Transfer Coefficients for Irregular Particles Inversed in Non-Newtonian Fluid During Tube Flor. J Food Eng. 11: 159-174.

ANEXOS

ANEXO 1

Propiedades termofísicas del jurel (*Trachurus symmetricus murphyi*) en función de la temperatura generadas en Foodproperty v1.0

Temperatura (°C)	K_x (W/m °C)	K_y (W/m °C)	K_z (W/m °C)	C_p (J/kg °C)
12	0,499	0,499	0,499	3588,1
13	0,5	0,5	0,5	3588,5
14	0,502	0,502	0,502	3588,8
15	0,503	0,503	0,503	3589,2
16	0,504	0,504	0,504	3589,6
17	0,505	0,505	0,505	3590
18	0,507	0,507	0,507	3590,4
19	0,508	0,508	0,508	3590,8
20	0,509	0,509	0,509	3591,2
21	0,51	0,51	0,51	3591,6
22	0,512	0,512	0,512	3592,1
23	0,513	0,513	0,513	3592,5
24	0,514	0,514	0,514	3593
25	0,515	0,515	0,515	3593,4
26	0,516	0,516	0,516	3593,9
27	0,517	0,517	0,517	3594,3
28	0,519	0,519	0,519	3594,8
29	0,52	0,52	0,52	3595,3
30	0,521	0,521	0,521	3595,8
31	0,522	0,522	0,522	3596,2
32	0,523	0,523	0,523	3596,7
33	0,524	0,524	0,524	3597,2
34	0,525	0,525	0,525	3597,8
35	0,526	0,526	0,526	3598,3
36	0,527	0,527	0,527	3598,8
37	0,528	0,528	0,528	3599,3
38	0,529	0,529	0,529	3599,9
39	0,53	0,53	0,53	3600,4
40	0,531	0,531	0,531	3601
41	0,532	0,532	0,532	3601,5
42	0,533	0,533	0,533	3602,1
43	0,534	0,534	0,534	3602,7

44	0,535	0,535	0,535	3603,2
45	0,536	0,536	0,536	3603,8
46	0,537	0,537	0,537	3604,4
47	0,538	0,538	0,538	3605
48	0,539	0,539	0,539	3605,6
49	0,54	0,54	0,54	3606,2
50	0,541	0,541	0,541	3606,9
51	0,542	0,542	0,542	3607,5
52	0,542	0,542	0,542	3608,1
53	0,543	0,543	0,543	3608,8
54	0,544	0,544	0,544	3609,4
55	0,545	0,545	0,545	3610,1
56	0,546	0,546	0,546	3610,7
57	0,547	0,547	0,547	3611,4
58	0,547	0,547	0,547	3612,1
59	0,548	0,548	0,548	3612,8
60	0,549	0,549	0,549	3613,5
61	0,55	0,55	0,55	3614,2
62	0,551	0,551	0,551	3614,9
63	0,551	0,551	0,551	3615,6
64	0,552	0,552	0,552	3616,3
65	0,553	0,553	0,553	3617
66	0,554	0,554	0,554	3617,7
67	0,554	0,554	0,554	3618,5
68	0,555	0,555	0,555	3619,2
69	0,556	0,556	0,556	3620
70	0,556	0,556	0,556	3620,7
71	0,557	0,557	0,557	3621,5
72	0,558	0,558	0,558	3622,3
73	0,558	0,558	0,558	3623,1
74	0,559	0,559	0,559	3623,8
75	0,56	0,56	0,56	3624,6
76	0,56	0,56	0,56	3625,4
77	0,561	0,561	0,561	3626,2
78	0,561	0,561	0,561	3627,1
79	0,562	0,562	0,562	3627,9
80	0,563	0,563	0,563	3628,7
81	0,563	0,563	0,563	3629,5
82	0,564	0,564	0,564	3630,4
83	0,564	0,564	0,564	3631,2
84	0,565	0,565	0,565	3632,1

85	0,565	0,565	0,565	3633
86	0,566	0,566	0,566	3633,8
87	0,566	0,566	0,566	3634,7
88	0,567	0,567	0,567	3635,6
89	0,567	0,567	0,567	3636,5
90	0,568	0,568	0,568	3637,4
91	0,568	0,568	0,568	3638,3
92	0,569	0,569	0,569	3639,2
93	0,569	0,569	0,569	3640,1
94	0,569	0,569	0,569	3641
95	0,57	0,57	0,57	3642
96	0,57	0,57	0,57	3642,9
97	0,571	0,571	0,571	3643,8
98	0,571	0,571	0,571	3644,8
99	0,571	0,571	0,571	3645,8
100	0,572	0,572	0,572	3646,7
101	0,572	0,572	0,572	3647,7
102	0,572	0,572	0,572	3648,7
103	0,573	0,573	0,573	3649,7
104	0,573	0,573	0,573	3650,7
105	0,573	0,573	0,573	3651,7
106	0,574	0,574	0,574	3652,7
107	0,574	0,574	0,574	3653,7
108	0,574	0,574	0,574	3654,7
109	0,574	0,574	0,574	3655,7
110	0,575	0,575	0,575	3656,8
111	0,575	0,575	0,575	3657,8
112	0,575	0,575	0,575	3658,9
113	0,575	0,575	0,575	3659,9
114	0,576	0,576	0,576	3661
115	0,576	0,576	0,576	3662
116	0,576	0,576	0,576	3663,1
117	0,576	0,576	0,576	3664,2

ANEXO 2.

Recuentos obtenidos de la solución madre e inicial.

ANEXO 2.1 Recuento obtenidos de la solución madre.

Repeticiones	1	2	3
UFC/ ml	$2,3 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
Log UFC/ml	8,36	8,45	8,41

ANEXO 2.2 Recuento inicial obtenido en los capilares

Capilar/ repeticiones	UFC/ 0,01ml		
	1	2	3
C1	$2,4 \times 10^6$	$2,43 \times 10^6$	$2,55 \times 10^6$
C2	$1,8 \times 10^6$	2×10^6	$2,15 \times 10^6$
C3	$2,7 \times 10^6$	$2,73 \times 10^6$	$2,95 \times 10^6$
Log UFC/0,01 ml			
C1	6,38	6,39	6,41
C2	6,26	6,3	6,33
C3	6,43	6,44	6,47

ANEXO 3

Análisis Estadístico de los resultados obtenidos en la evaluación de la influencia de rayos X sobre la cantidad final de esporas de *B. stearothermophilus*

ANEXO 3.1 Análisis de varianza obtenido en STATGRAPHICS.

Tabla ANOVA para Recuentos según Muestras					
Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,49984E12	5	2,99969E11	4,98	0,0106
Intra grupos	7,22667E11	12	6,02222E10		
Total (Corr.)	2,22251E12	17			

ANEXO 3.2 Test de rangos múltiples obtenido en STATGRAPHICS.

 Contraste Múltiple de Rango para Recuentos según Muestras

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Muestras	Frec.	Media	Grupos homogéneos
bolsa 3	3	2,35667E6	X
bolsa 1	3	2,40667E6	X
bolsa 5	3	2,51E6	X
bolsa 2	3	2,63E6	XX
bolsa 4	3	2,76667E6	XX
bolsa 6	3	3,21667E6	X

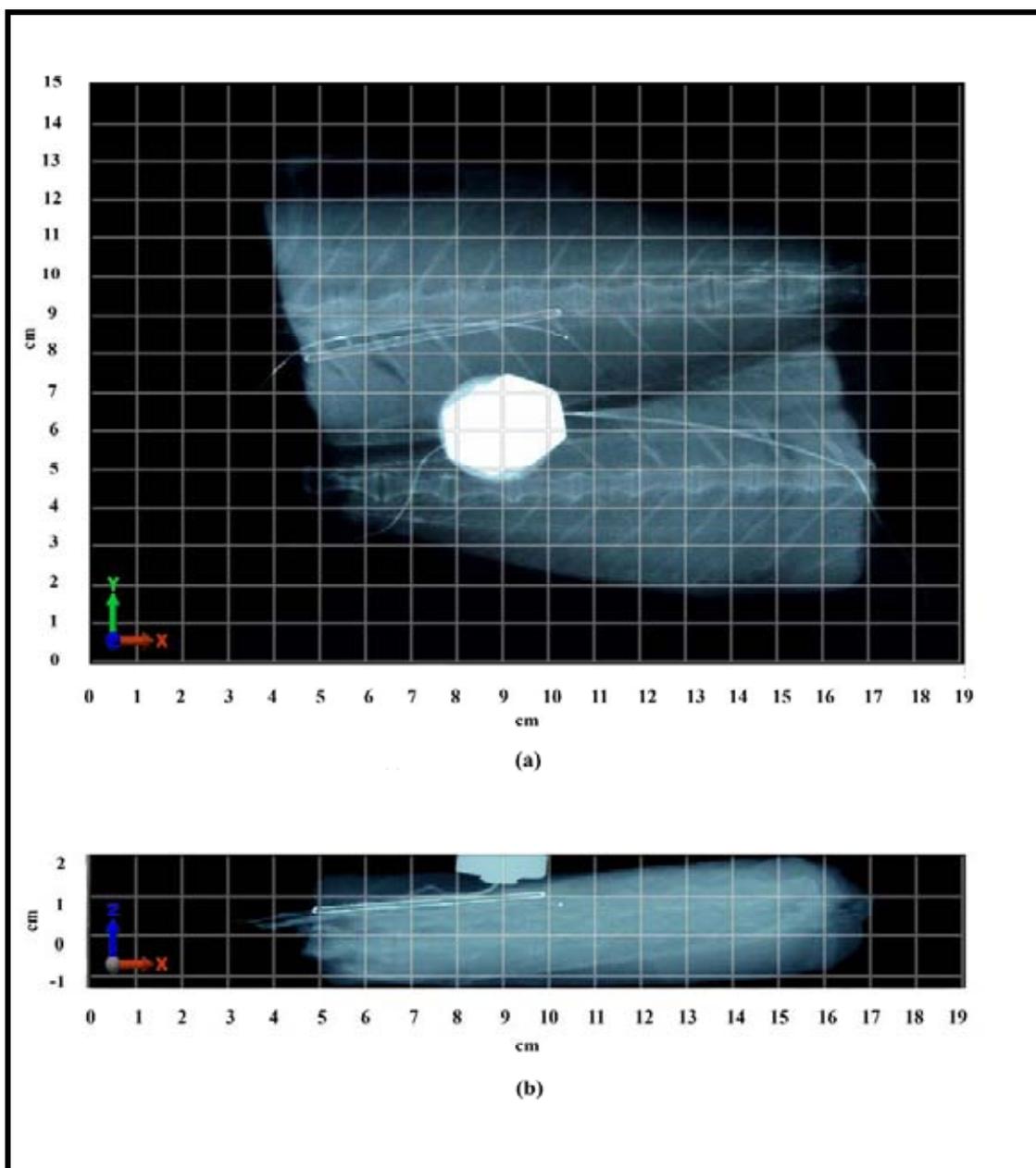
Contraste	Diferencias	+/- Límites
bolsa 1 - bolsa 2	-223333,0	673118,0
bolsa 1 - bolsa 3	50000,0	673118,0
bolsa 1 - bolsa 4	-360000,0	673118,0
bolsa 1 - bolsa 5	-103333,0	673118,0
bolsa 1 - bolsa 6	*-810000,0	673118,0
bolsa 2 - bolsa 3	273333,0	673118,0
bolsa 2 - bolsa 4	-136667,0	673118,0
bolsa 2 - bolsa 5	120000,0	673118,0
bolsa 2 - bolsa 6	-586667,0	673118,0
bolsa 3 - bolsa 4	-410000,0	673118,0
bolsa 3 - bolsa 5	-153333,0	673118,0
bolsa 3 - bolsa 6	*-860000,0	673118,0
bolsa 4 - bolsa 5	256667,0	673118,0
bolsa 4 - bolsa 6	-450000,0	673118,0
bolsa 5 - bolsa 6	*-706667,0	673118,0

* indica una diferencia significativa.

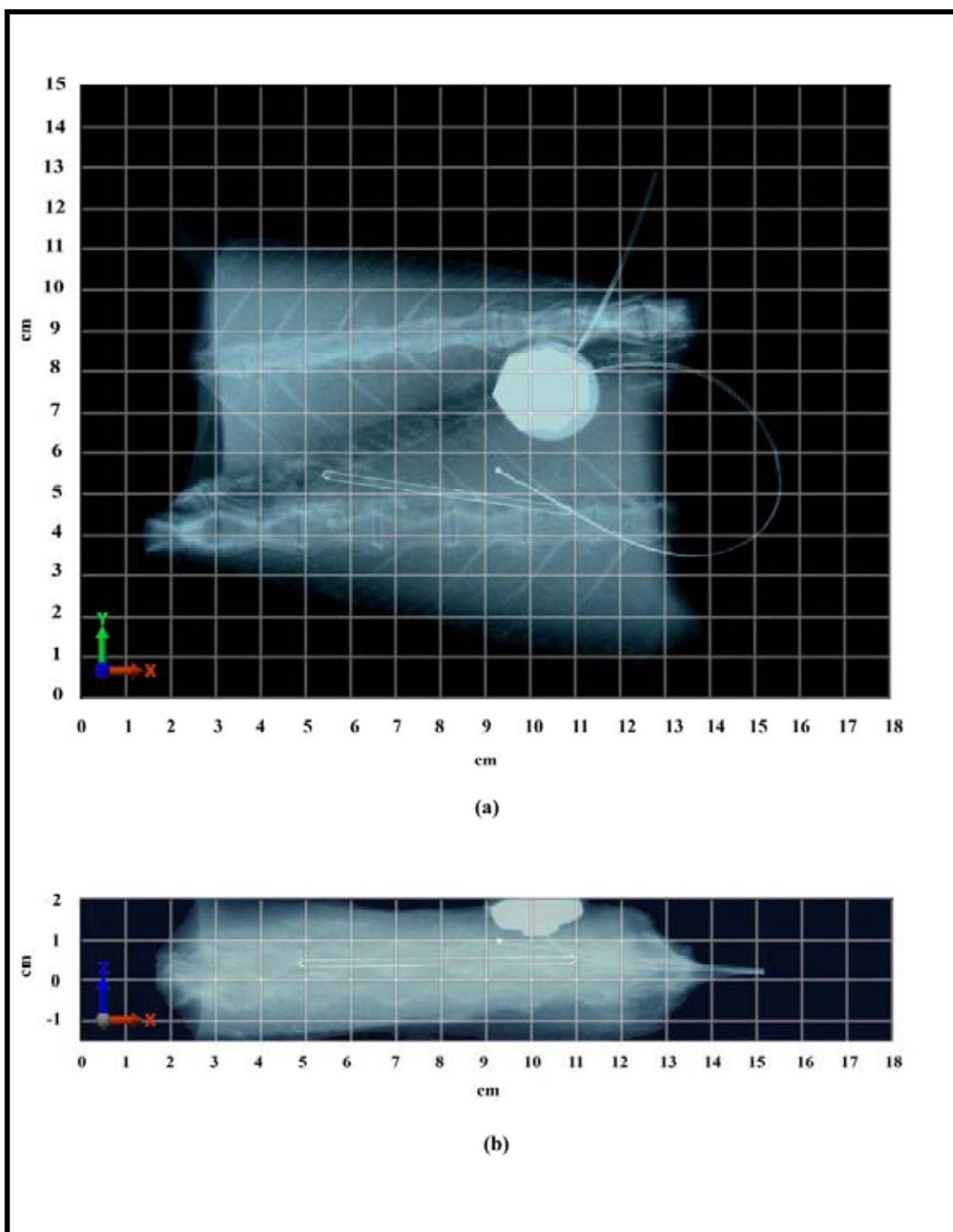
ANEXO 4

Coordenadas capilares y termocuplas por medio de radiografías

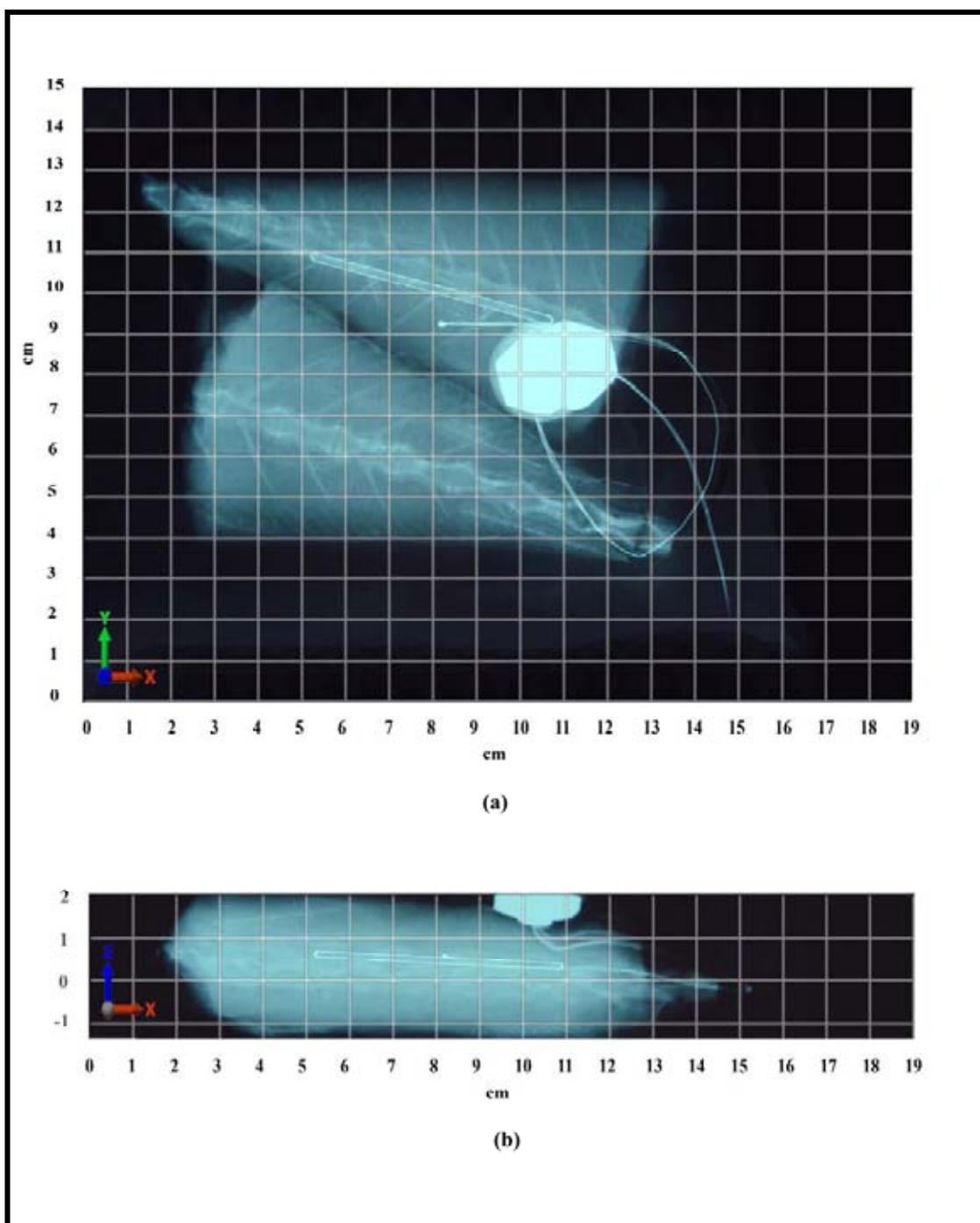
ANEXO 4.1 Ubicación coordenadas (x, y, z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra A-1. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.



ANEXO 4.2 Ubicación coordenadas (x , y , z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra B-6. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.



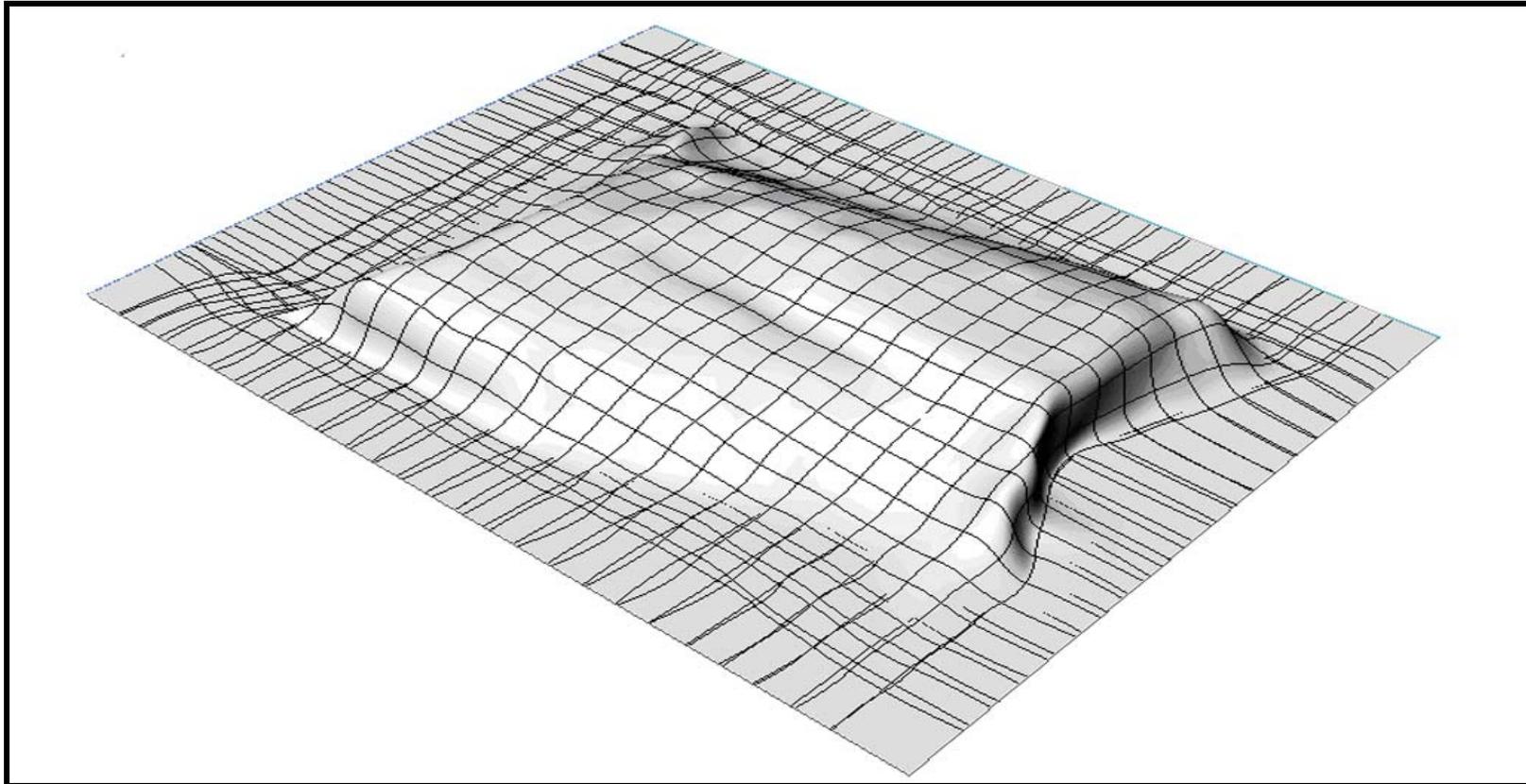
ANEXO 4.3 Ubicación coordenadas (x , y , z) de la termocupla y capilar por medio de radiografía para la muestra B-8. (a) Plano XY. (b) Plano XZ.



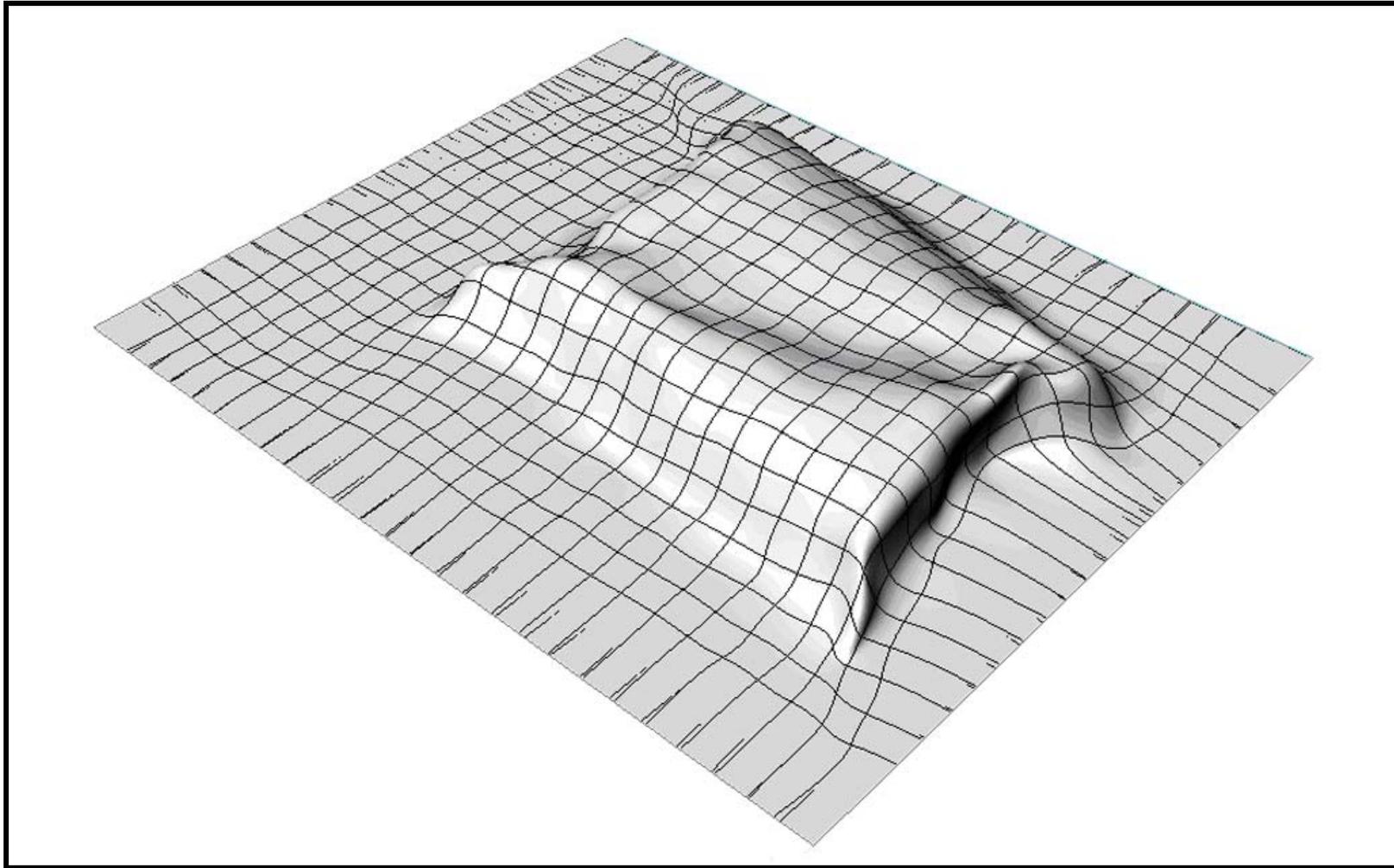
ANEXO 5

Modelos digitales 3D

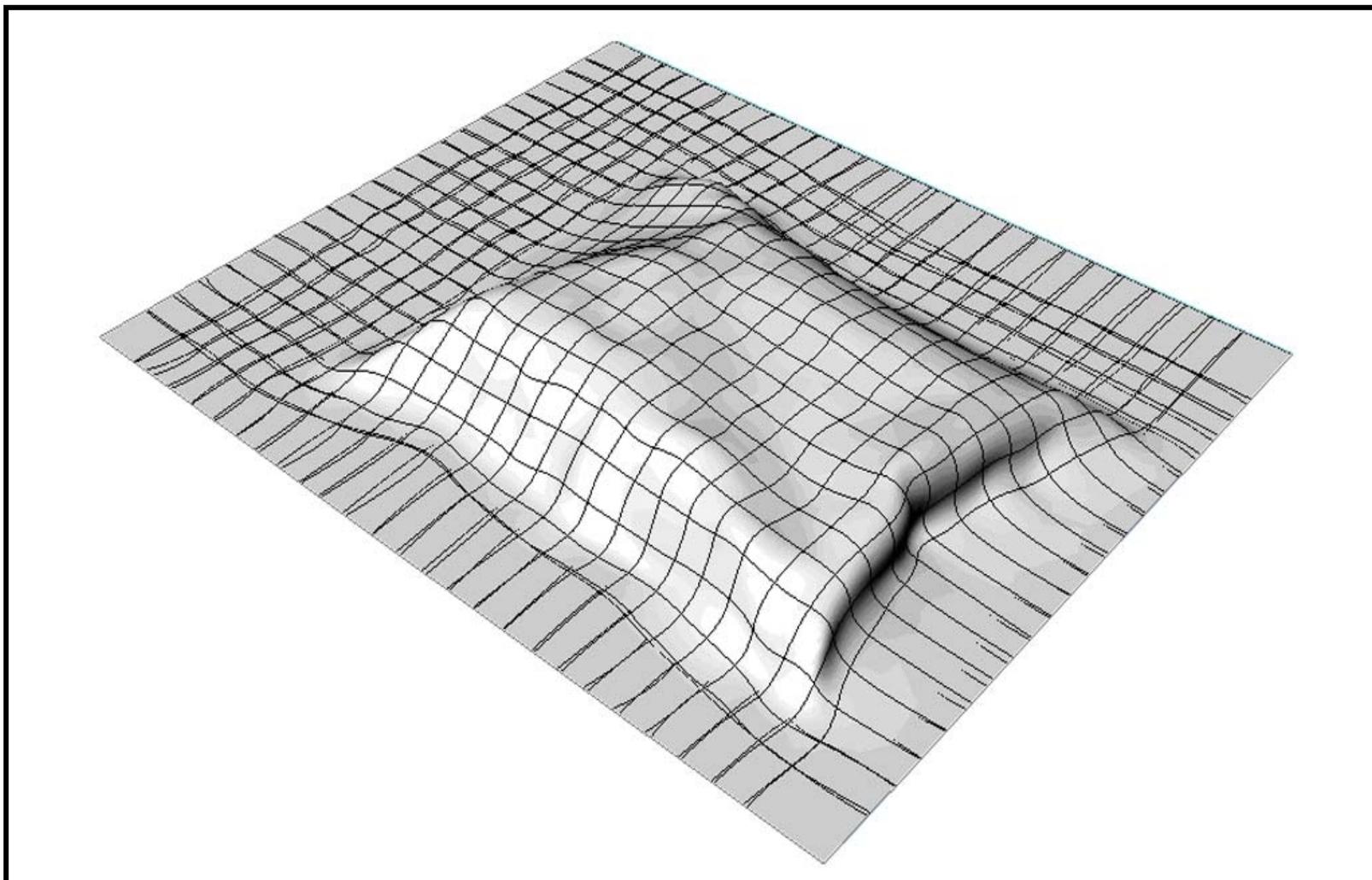
ANEXO 5.1 Modelo digital 3D de la muestra A-1.



ANEXO 5.2 Modelo digital 3D de la muestra B-6.



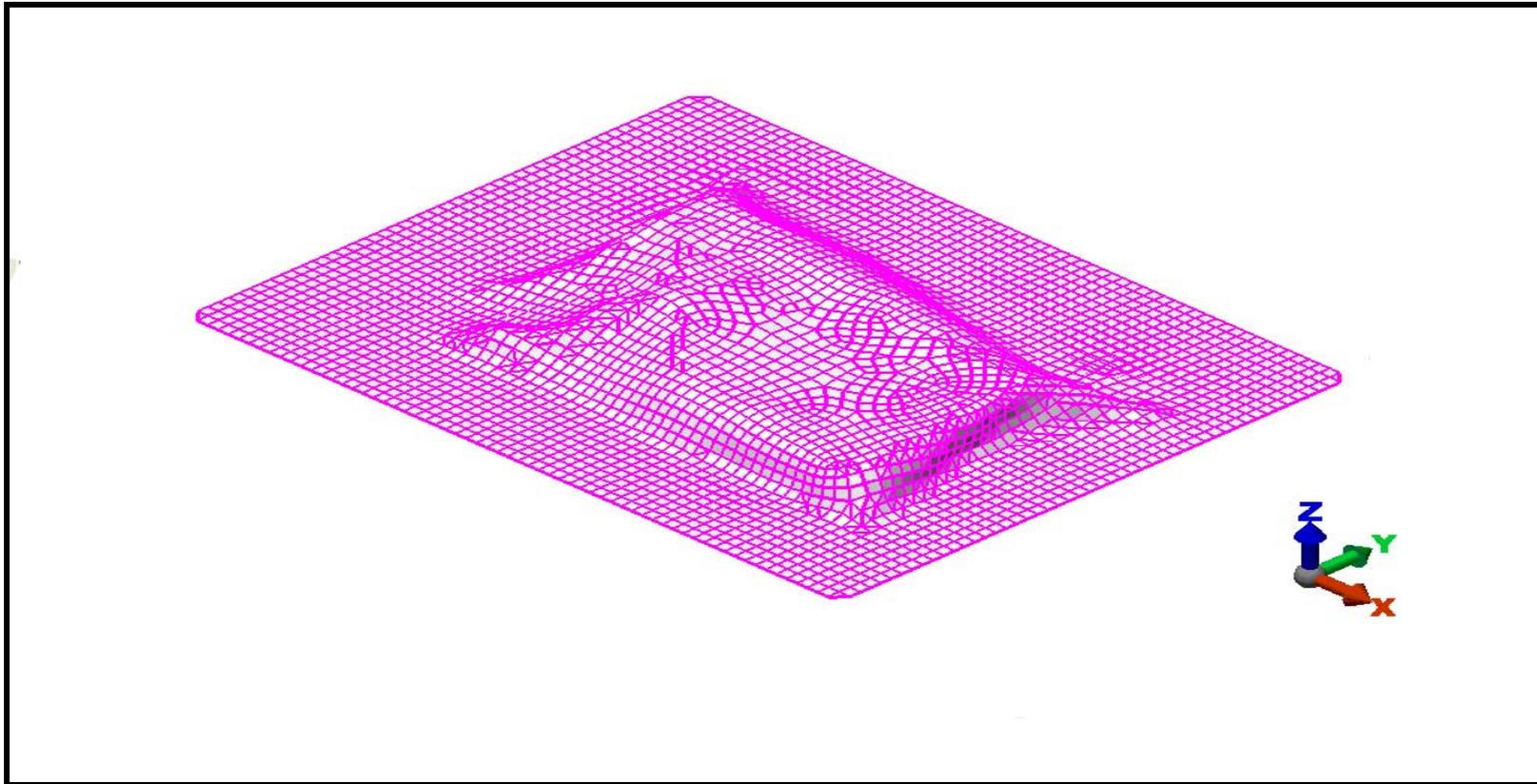
ANEXO 5.3 Modelo digital 3D de la muestra B-8.



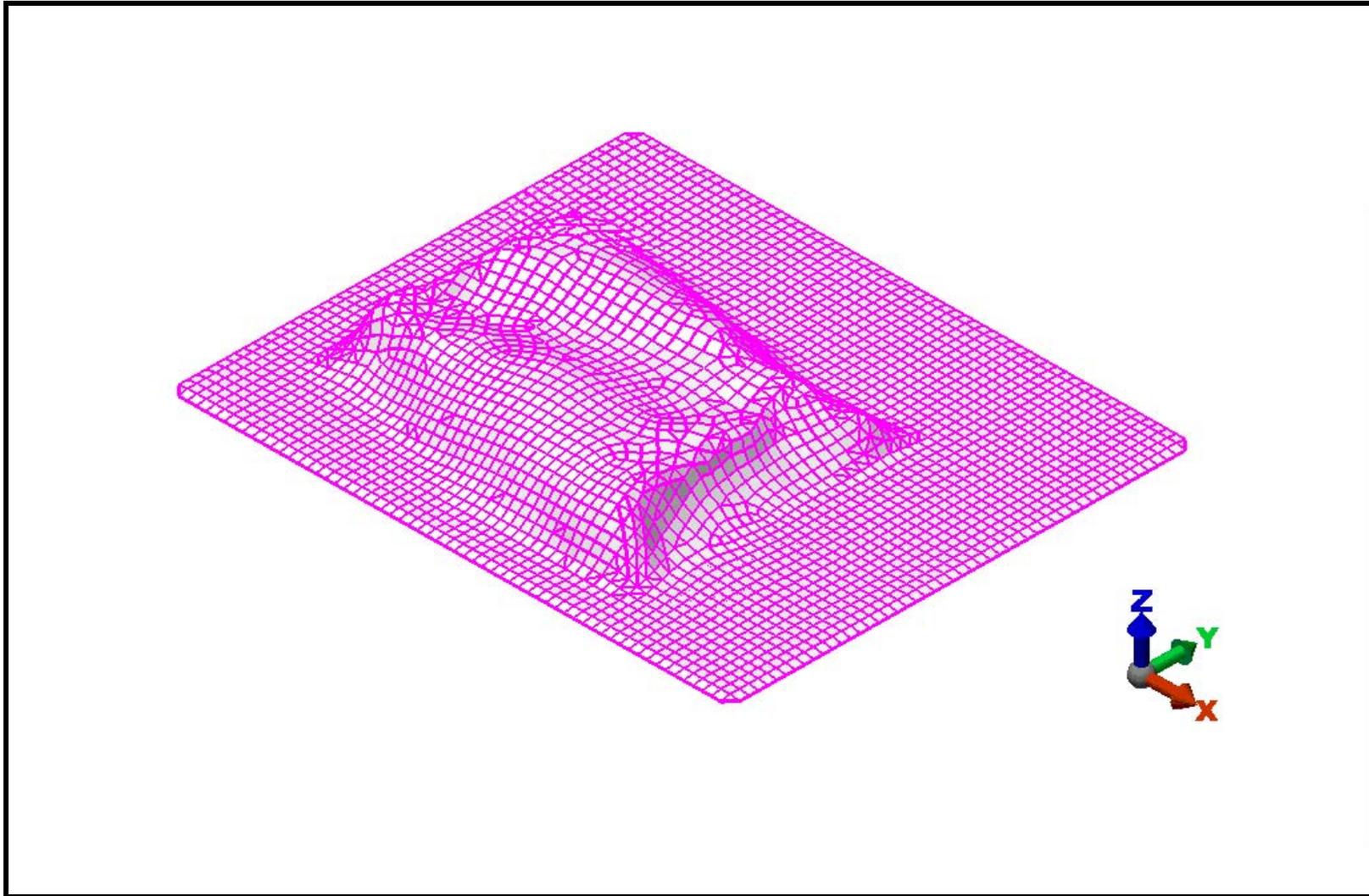
ANEXO 6

Modelos mallados FEA

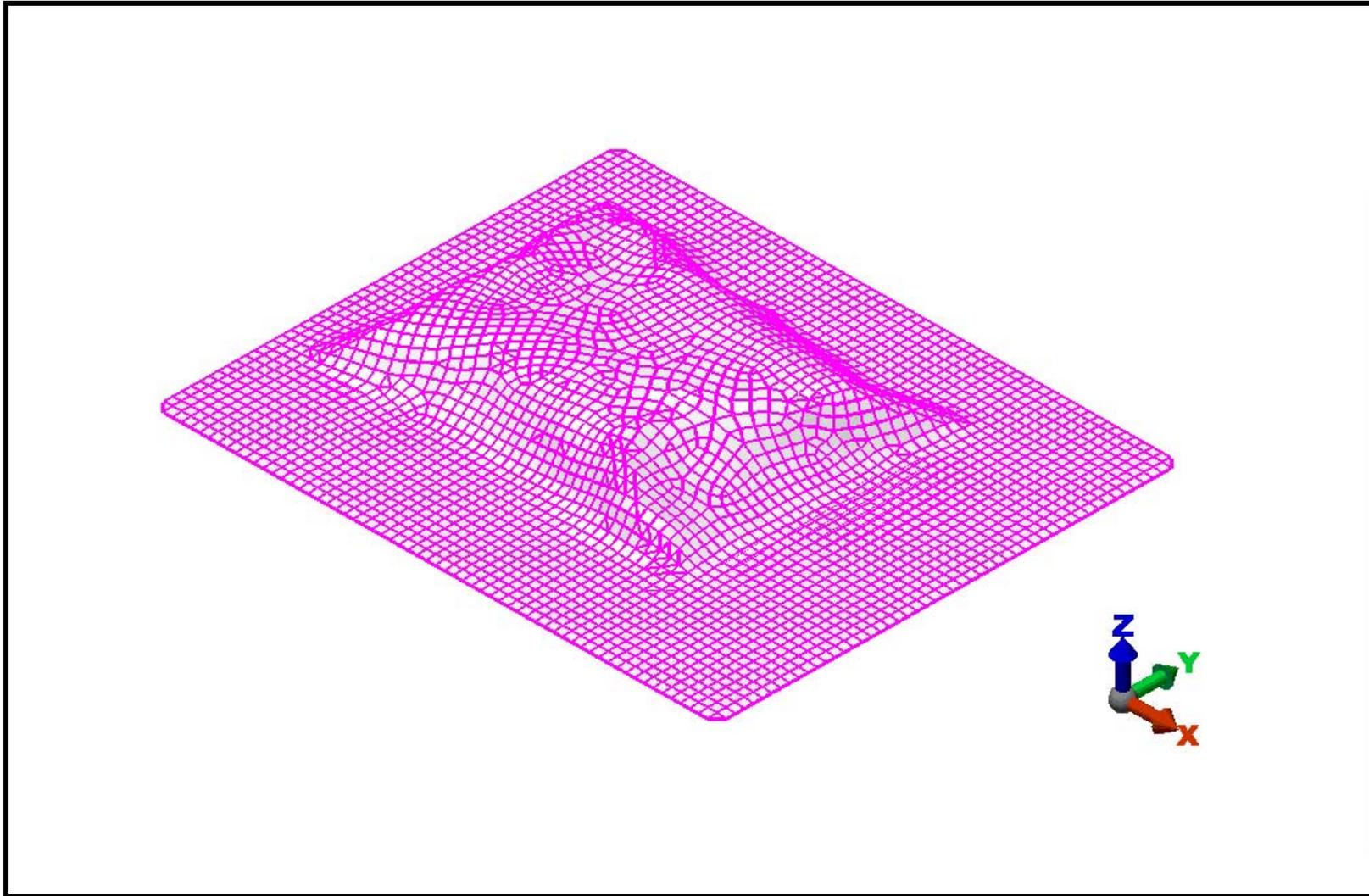
ANEXO 6.1 Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra A-1.



ANEXO 6.2 Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra B-6.



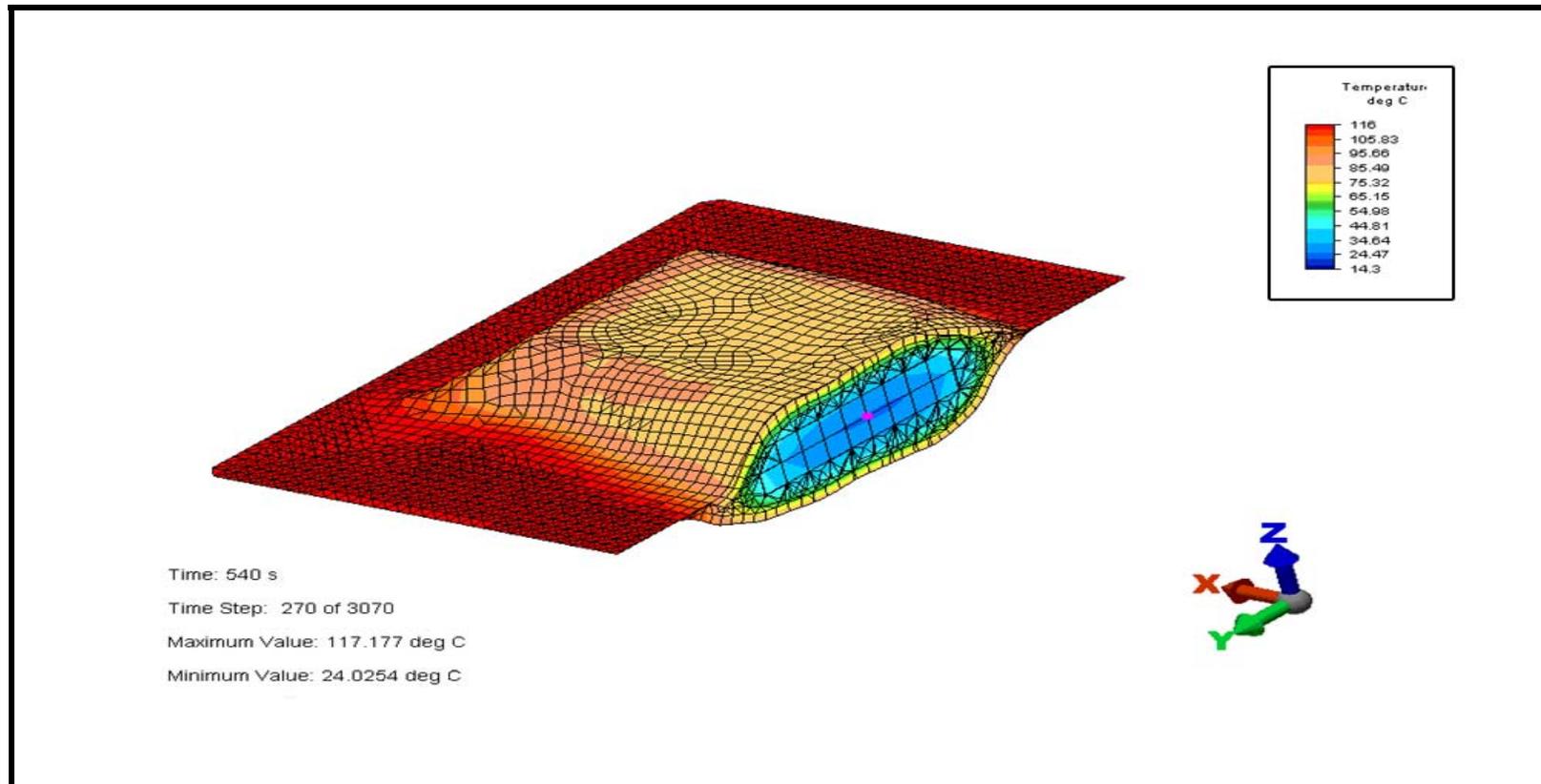
ANEXO 6.3 Modelo mallado generado en ALGOR de la muestra B-8.



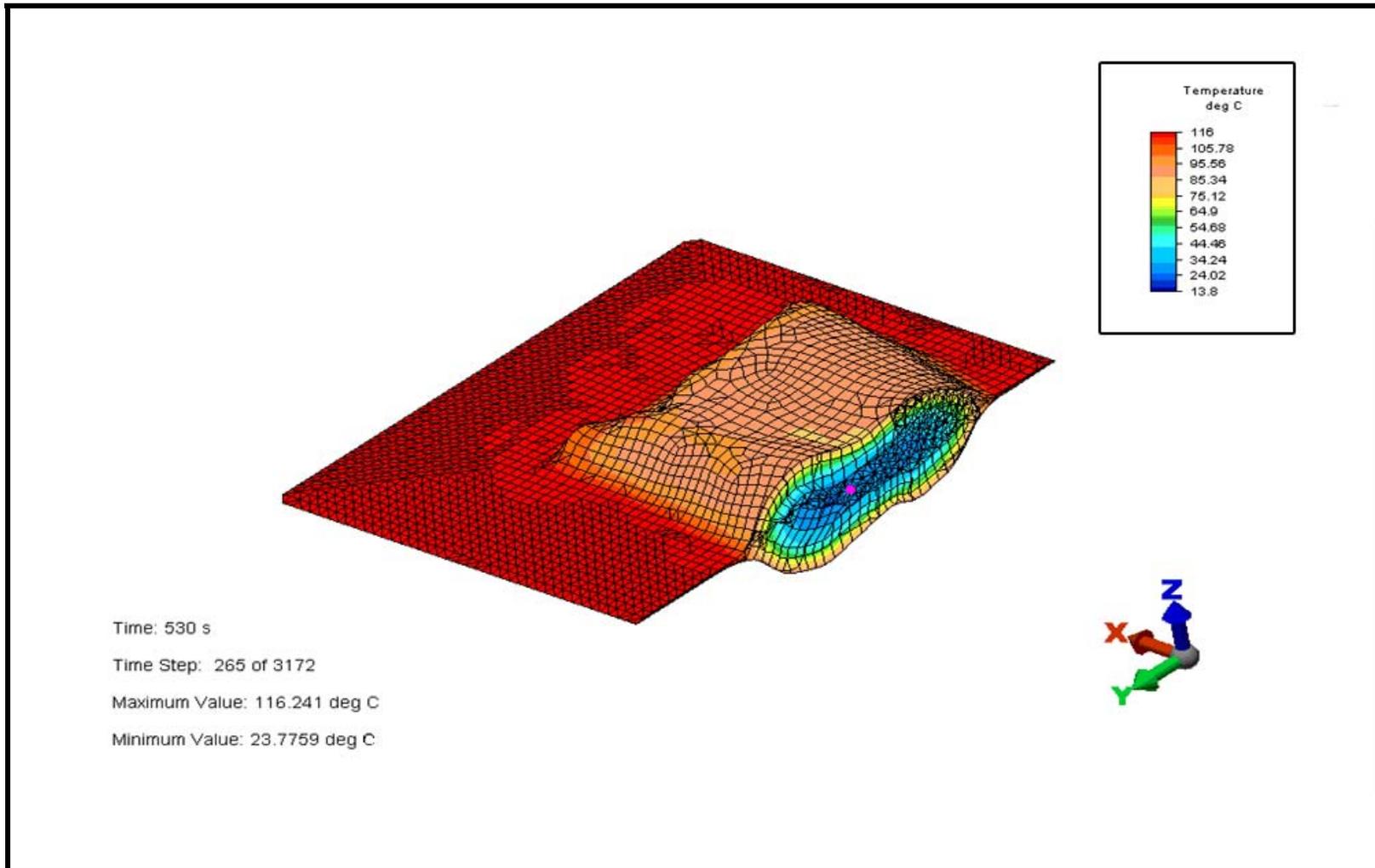
ANEXO 7

Diagrama de contorno

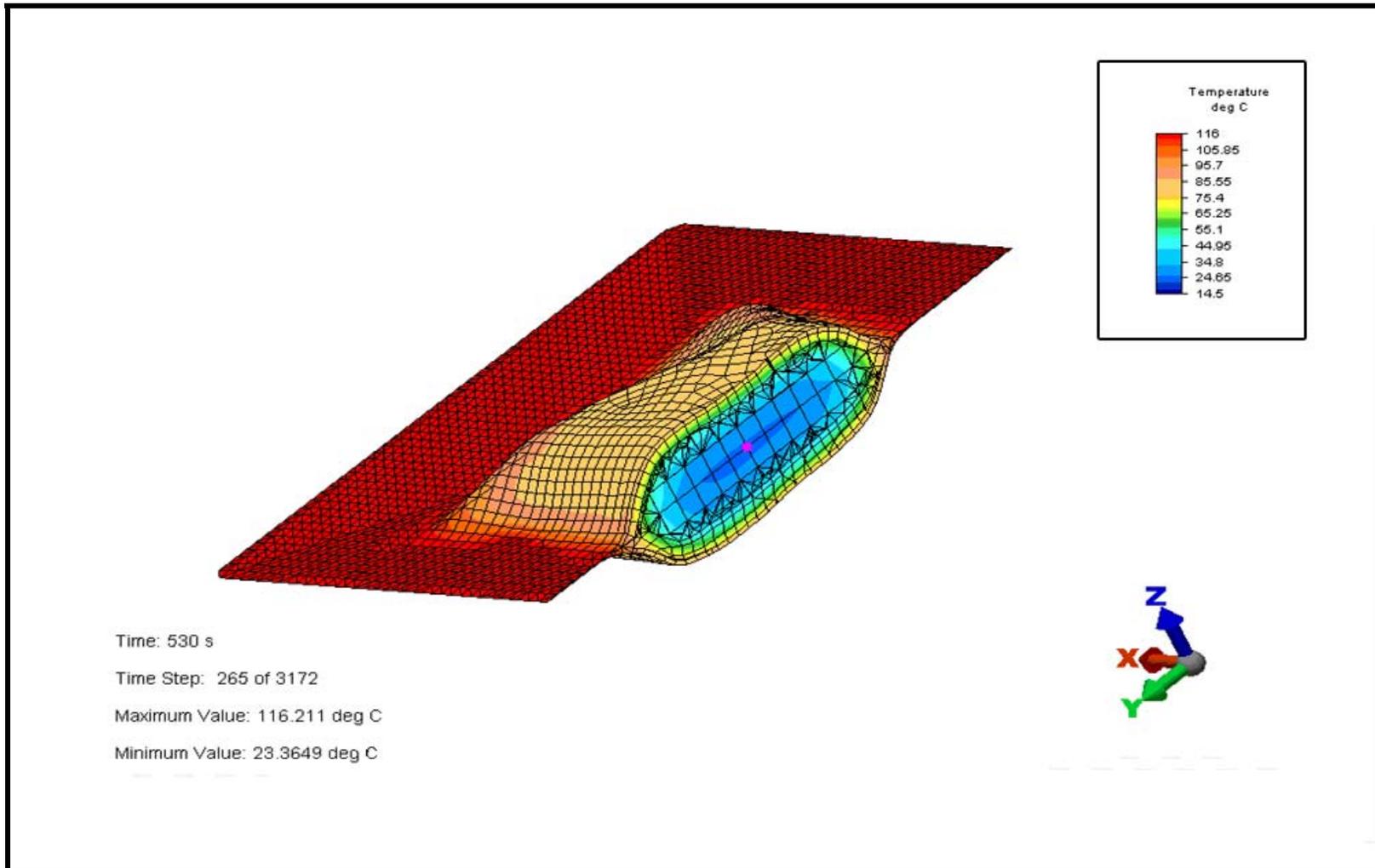
ANEXO 7.1 Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra A-1.



ANEXO 7.2 Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra B-6.



ANEXO 7.3 Corte longitudinal del diagrama de contorno de la muestra B-8.



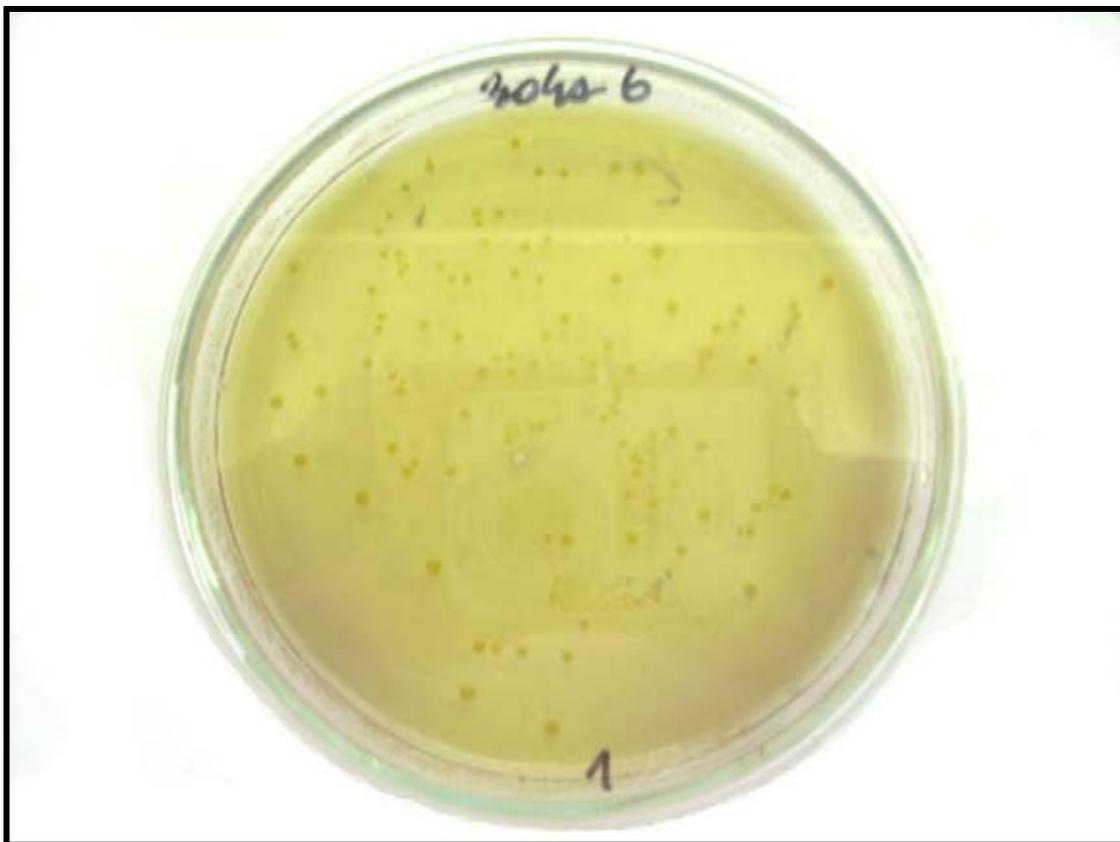
ANEXO 8

Recuento de la cantidad de esporas sobreviviente al tratamiento térmico.

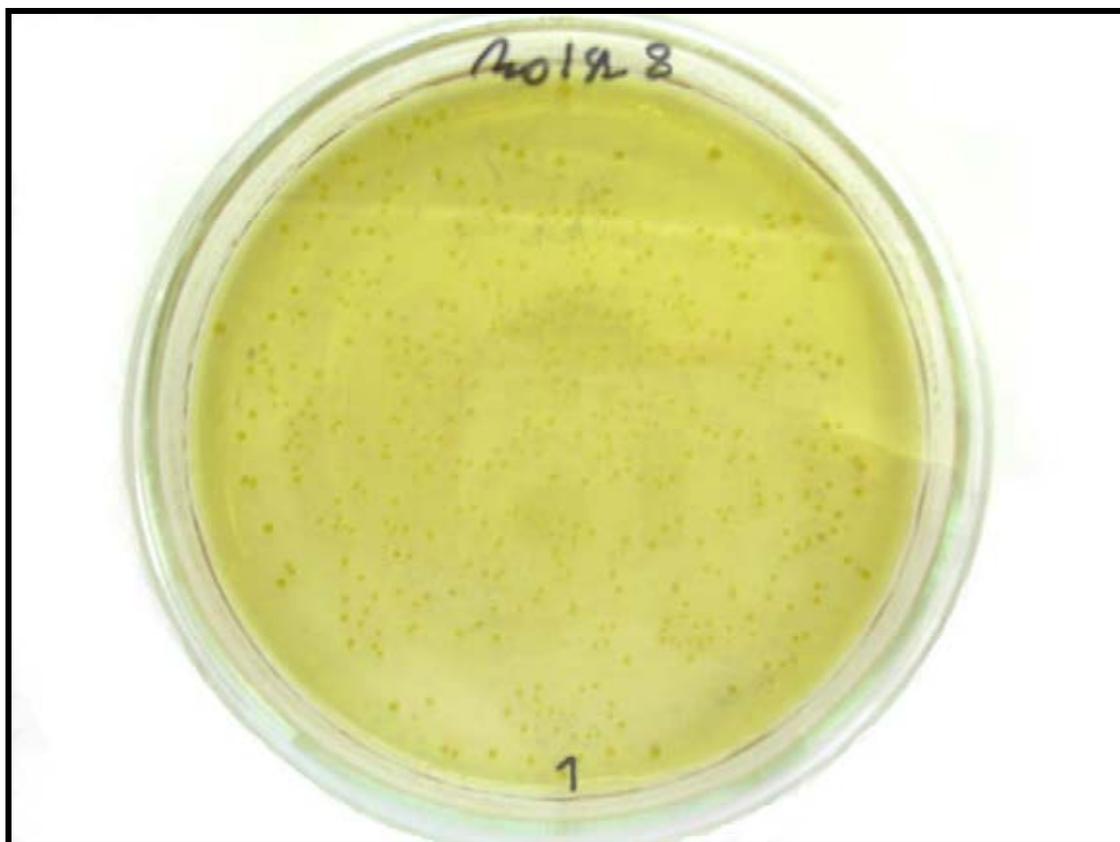
ANEXO 8.1 UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra A-1 después del tratamiento térmico.



ANEXO 8.2 UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra B-6 después del tratamiento térmico.



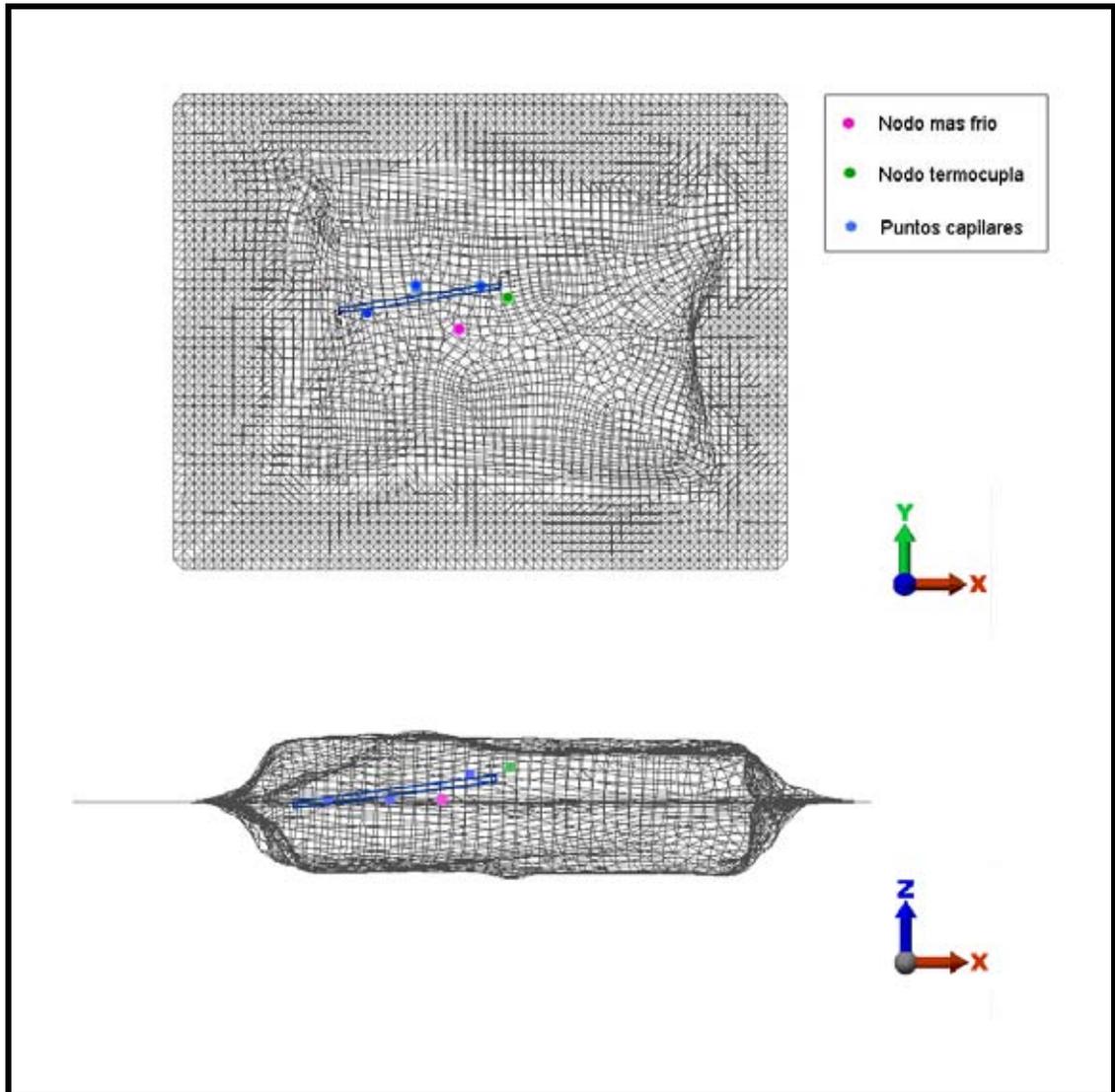
ANEXO 8.3 UFC de *B. stearothermophilus* obtenidos en la muestra B-8 después del tratamiento térmico.



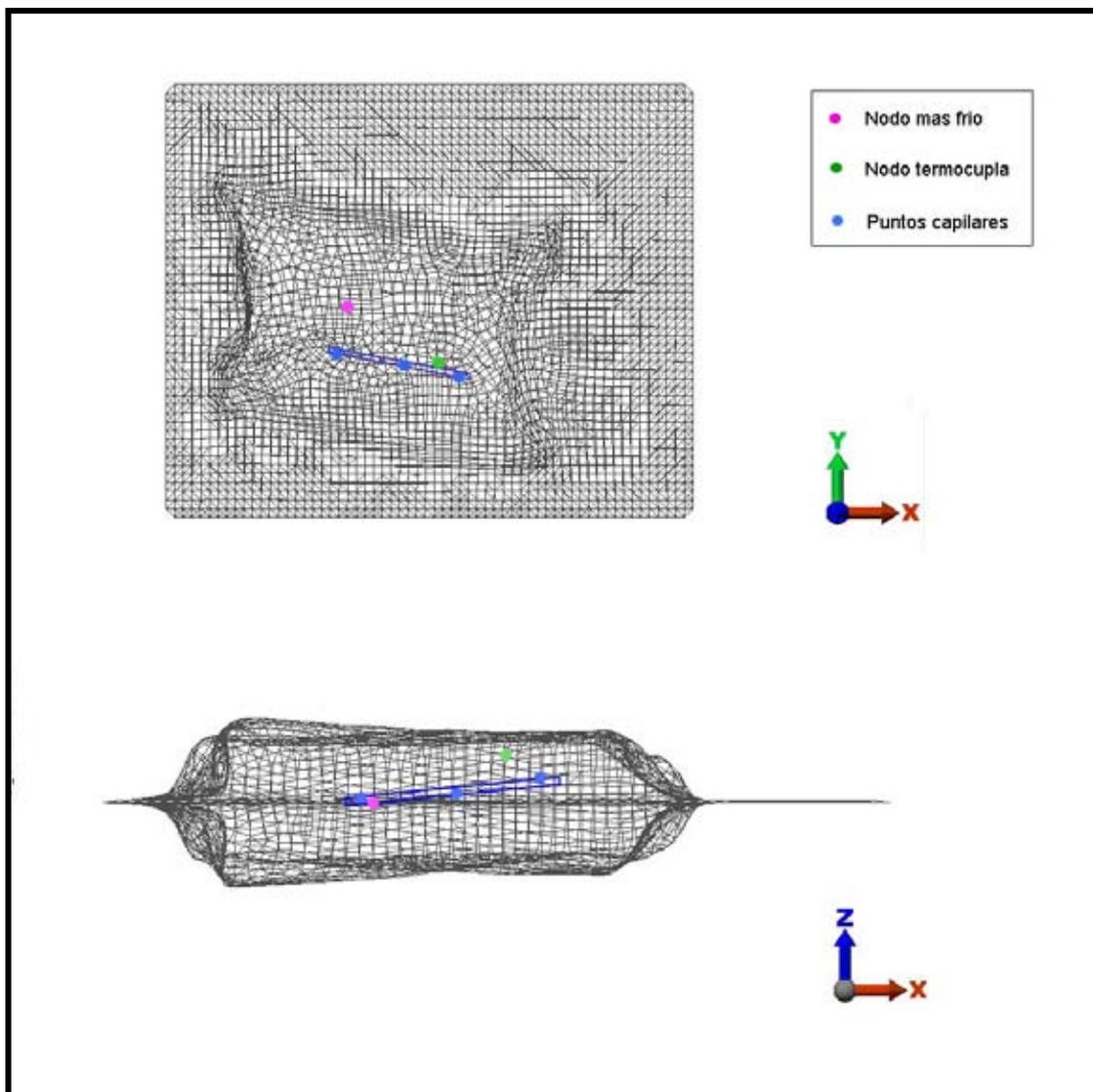
ANEXO 9

Ubicación del nodo de los capilares y la termocupla en ALGOR®

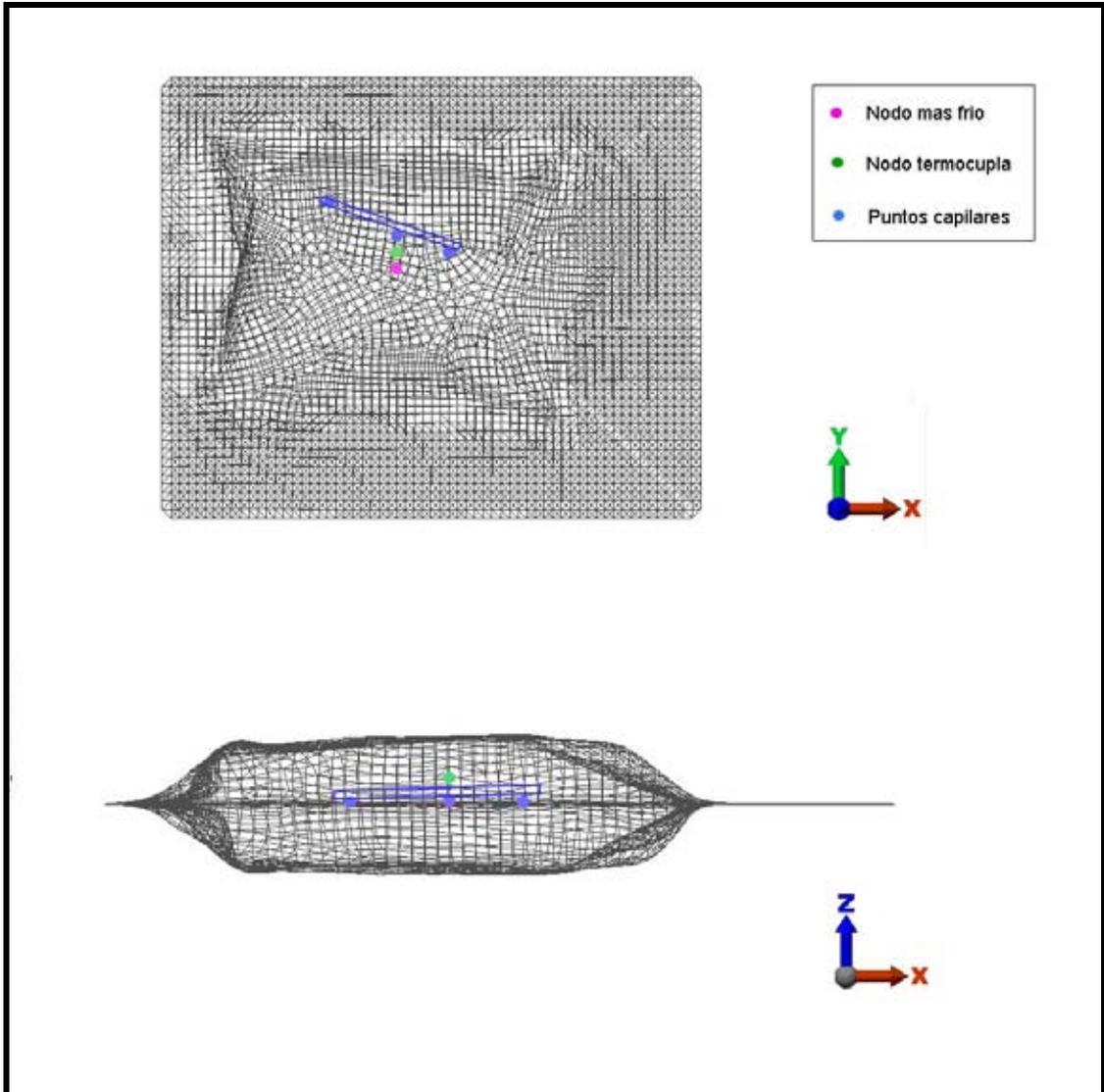
ANEXO 9.1 Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra A-1.



ANEXO 9.2 Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra B-6.



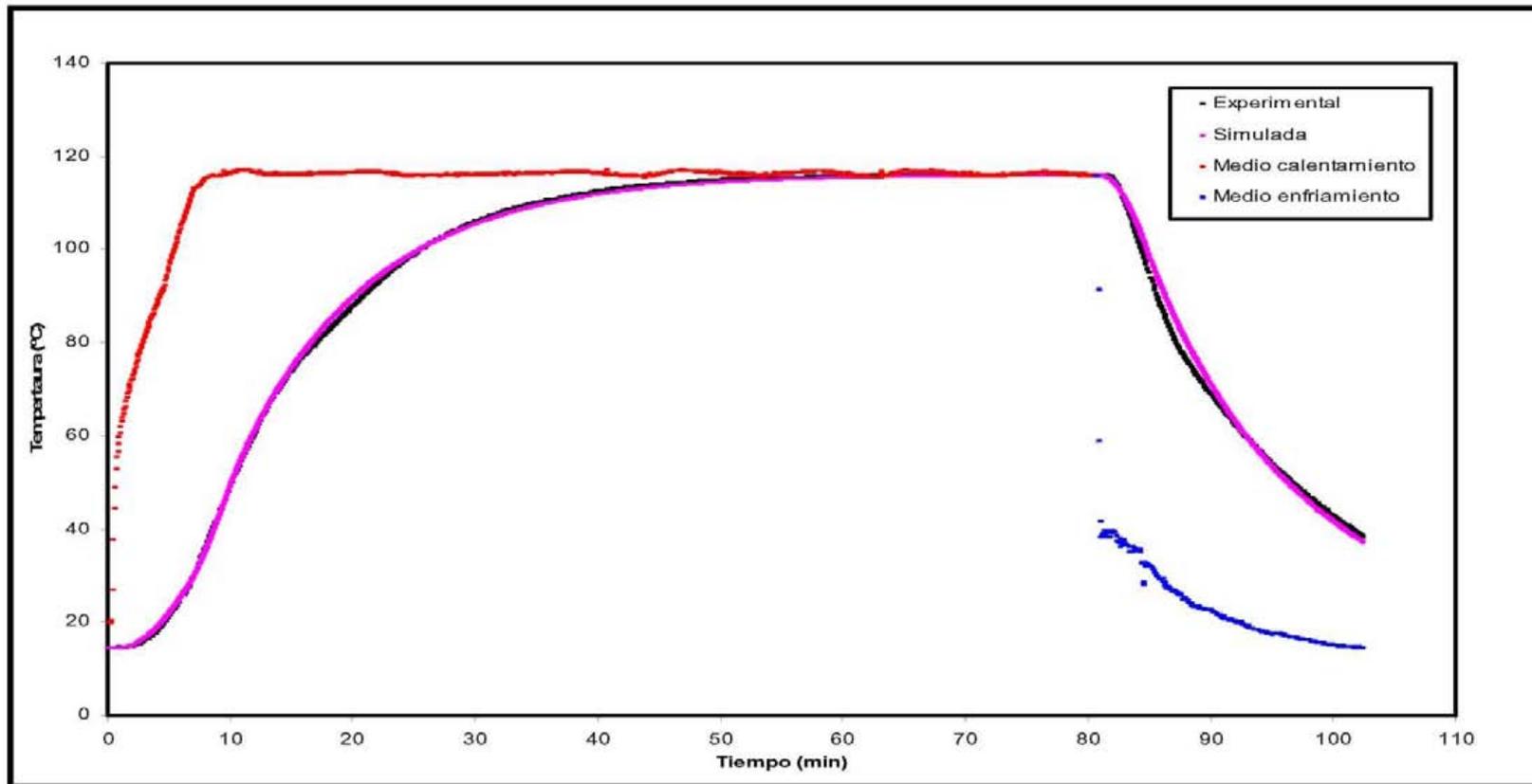
ANEXO 9.3 Localización del nodo de la termocupla, capilar y nodo más frío en el modelo digital para la muestra B-8.



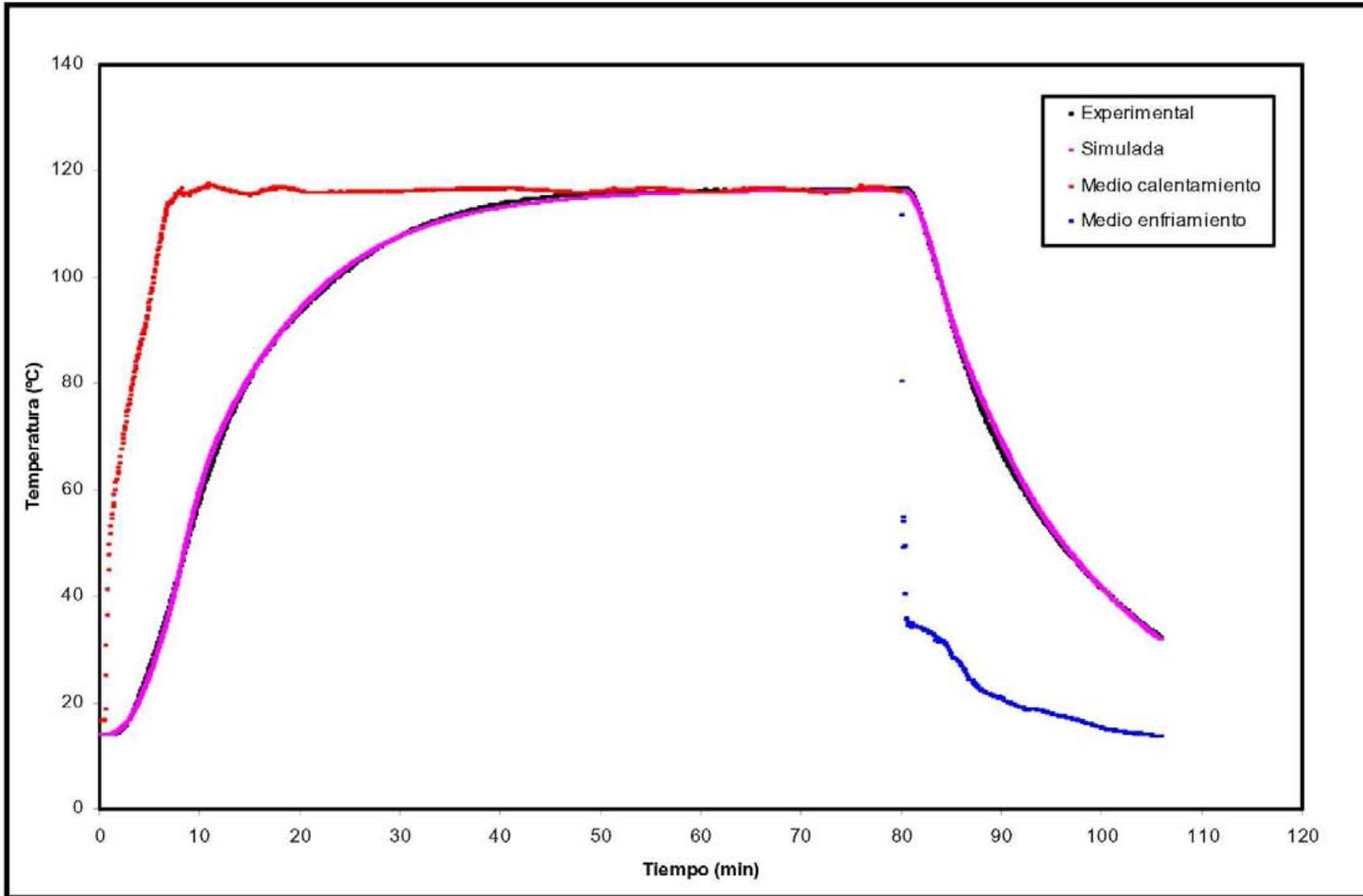
ANEXO 10

Ajuste de perfiles simulados y experimentales de la termocupla

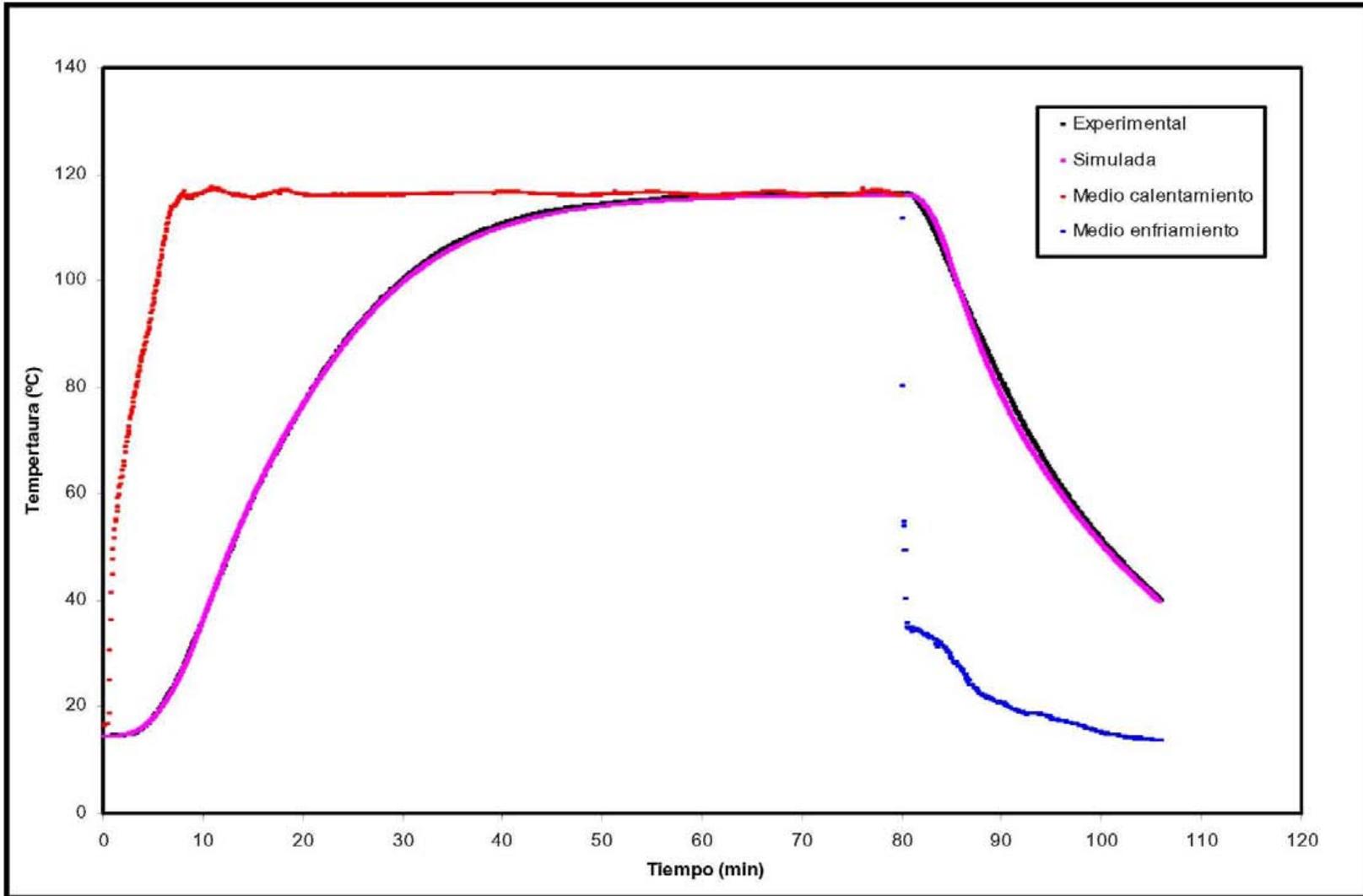
ANEXO 10.1 Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra A-1.



ANEXO 10.2 Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra B-6.



ANEXO 10.3 Perfiles de temperatura experimental y simulado para el proceso térmico de la muestra B-8.



ANEXO 11

Cálculo del S promedio estimado del capilar a partir del F_0 simulado obtenido en ALGOR®

Muestra	F_0 estimado capilar			S estimado capilar			S promedio estimado	σ
	P1	P2	P3	P1	P2	P3		
Primer tratamiento								
A-1	9,092	8,479	8,603	4,330	4,038	4,097	4,155	$\pm 0,154$
A-3	8,696	8,083	7,996	4,141	3,849	3,808	3,933	$\pm 0,182$
A-4	11,202	8,635	8,406	5,334	4,112	4,060	4,483	$\pm 0,740$
Segundo tratamiento								
B-6	9,394	9,251	9,87	4,473	4,405	4,700	4,526	$\pm 0,154$
B-7	10,352	9,807	9,79	4,930	4,670	4,662	4,754	$\pm 0,152$
B-8	9,412	8,103	8,299	4,482	3,859	3,952	4,097	$\pm 0,336$

ANEXO 12

Valores esterilizantes calculados para *Clostridium botulinum*

ANEXO 12.1 Cálculo de valores esterilizantes para la destrucción de esporas de *C. botulinum* en base a la destrucción de capilares con esporas de *B. stearothermophilus*.

Factor de seguridad (%)	<i>C. botulinum</i> ($F_{\text{requerido}}$)	Capilar con esporas de <i>B. stearothermophilus</i>	
		$S_{\text{requerido}}$	N_0 (0.04ml)
-	2,52	1,20	1,58
30	3,50	1,67	4,67
45	4,50	2,14	13,80
50	5,00	2,38	23,98
60	6,00	2,86	72,44

ANEXO 12.2 Ejemplo de cálculo.

$$F_0 \text{ capilar } Bacillus = F_0 \text{ capilar } Clostridium$$

$$D_0 \text{ Bacillus} \cdot S \text{ Bacillus} = F_0 \text{ Clostridium}$$

Por lo tanto, considerando un $D_0 = 2,1$ es necesario reducir 2,38 ciclos logarítmicos de *Bacillus stearothermophilus*, para lograr el equivalente a un F_0 de 5,0 para *Clostridium botulinum*.

Si la reducción de ciclos calculada es aplicada a capilares BIU. Para lograr una población final (N_f) de 10^{-1} en el capilar, es decir, en 0,04 ml, y calculando el antilog, la población inicial (N_0) a utilizar sería de $2,4 \times 10^1$ esporas en 0,04 ml.

$$S = \log\left(\frac{N_0}{N_f}\right)$$

$$2,38 = \log\left(\frac{N_0}{10^{-1}}\right)$$