

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

**Factibilidad del Uso de Unidades Indicadoras
Biológicas en la Evaluación de Tratamientos de
Esterilización en Filetes de Alimentos Envasados
al Vacío en Bolsas Esterilizables**

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

Pamela Yulina Márquez Rubilar

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

A mis padres Carmen Rubilar y Sergio Márquez

A mi abuelita Inés

A mis hermanas Andrea y Yeraldine

AGRADECIMIENTOS

- A la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile a través del proyecto DID S2007-16 que hicieron posible el desarrollo del presente trabajo de Tesis.
- Al Profesor Elton Morales Blancas por su guía y apoyo, paciencia y enseñanza durante todo el tiempo que duro la investigación.
- Al laboratorio del Ambiente, SEREMI de salud de la Región de los Ríos, en especial a la Señora Paola Recabarren, por su gran disponibilidad, ayuda y constante aliento para llevar a cabo la presente investigación. También a todo el personal del Laboratorio, quienes tuvieron siempre la disposición para ayudarme y facilitarme las herramientas necesarias durante la investigación.
- A mis compañeros David, Rene, Lore y Pato, muchas gracias por toda la ayuda que me entregaron, fue sin duda indispensable durante todo el desarrollo de la investigación y siempre los recordaré.
- A Gastón, Marcelo y Alex por tener siempre la mejor disposición para suministrar los requerimientos de Servicios de la Planta Piloto.
- A mi madre Carmen Rubilar por su inmensa e incalculable paciencia que tuvo que manejar durante todo este tiempo de estudio que parecía sin final, por ello y por miles de cosas más te estaré agradecida toda mi vida.
- A mi abuelita Ines por su increíble ánimo, fuerza, apoyo y compañía incondicional que me entregó cada día de estudio. Siempre te lo agradeceré y estaré contigo.
- A mi padre Sergio Márquez por darme el apoyo necesario para cumplir mis metas.
- Y a mis hermanitas Andrea y Yeraldine porque yo sé que siempre estuvieron conmigo y sabían exactamente lo difícil que fue para mi todo este proceso. Un beso grande, las quiero muchísimo.
- A mis mejores amigas Ale, Carol, Pame y Marce que siempre estuvieron conmigo apoyándome y alentándome durante todo el período que duró la investigación. Las quiero mucho a todas.

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISION BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	Unidad Indicadora Biológica (BIU)	4
2.1.1	Tipos de indicadores	7
2.1.2	Composición de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU)	10
2.1.3	Evaluación de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU)	12
2.2	Bolsa esterilizable	13
2.2.1	Bolsa preformada	13
2.2.2	Composición de la bolsa esterilizable	14
2.2.3	Ventajas de la bolsa esterilizable	17
2.2.4	Desventajas de la bolsa esterilizable	18
2.2.5	Mercados y productos utilizados	19
2.2.6	Tecnología de envasado	20
2.3	Sistema de esterilización de envases flexibles	23
2.3.1	Proceso con vapor saturado	24
2.3.2	Proceso por mezcla de vapor de agua - aire	25
2.3.2.1	Sistemas de reposición de aire	26
2.3.2.2	Sistemas de flujo positivo	27
2.3.2.3	Sistema de convección forzada	27
2.4	Cálculo de Procesos Térmicos	28
2.4.1	Esterilidad Comercial	28
2.4.2	Esporulamiento económico	28

2.4.3	Parámetros cinéticos de la inactivación térmica de microorganismos	29
2.4.3.1	Tiempo de destrucción térmica (Valor F)	30
2.4.3.2	Valor D	31
2.4.3.3	Valor z	33
2.4.3.4	Número de reducciones decimales (S)	37
2.4.3.5	Valores de F_0 utilizados en tratamientos de esterilización de conservas de baja acidez	38
2.4.4	Letalidad del proceso térmico	40
2.4.5	Curvas tiempo-temperatura durante el tratamiento térmico en autoclave	45
2.5	Simulación de tratamientos térmicos en alimentos en bolsas esterilizables	48
2.5.1	Análisis en alimentos irregulares simples	48
2.5.2	Análisis en productos de formas irregulares complejas	50
2.5.2.1	Ingeniería de reversa mediante digitalización 3D	51
2.5.2.2	Simulación del proceso de conducción de calor: Análisis de Elementos Finitos	53
2.5.3	Revisión de resultados	58
2.5.4	Validación experimental	58
3	MATERIAL Y MÉTODO	62
3.1	Desarrollo experimental en laboratorio	62
3.1.1	Obtención de la solución madre	64
3.1.1.1	Verificación de la concentración de la solución madre bioindicadora	64
3.1.1.2	Determinación de pH	67
3.1.2	Confección de Unidades Indicadoras Biológicas (BIU)	68
3.1.3	Incubación de las Unidades Indicadoras Biológicas después del tratamiento térmico	70

3.2	Desarrollo experimental en planta	70
3.2.1	Acondicionamiento de los filetes de jurel	71
3.2.1.1	Selección y preparación del producto	71
3.2.1.2	Preparación de las muestras de filete de jurel con las Unidades Indicadoras Biológicas	72
3.2.1.3	Preparación de las muestras de filete de jurel con termocuplas	74
3.2.2	Preparación del sistema de recolección de datos	77
3.2.2.1	Calibración de termocuplas	77
3.2.2.2	Configuración del Data-Logger	78
3.2.3	Esterilización de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables	79
3.2.3.1	Sistema de esterilización	79
3.2.3.2	Tratamiento térmico en autoclave	82
3.2.4	Determinación de la influencia de la BIU durante la penetración de calor	83
3.2.5	Determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U)	83
3.3	Ubicación espacial de termocuplas y BIU en los filetes de jurel envasados en bolsas esterilizables	87
3.4	Modelación matemática del proceso de transferencia de calor	91
3.4.1	Ecuación de gobierno	92
3.4.2	Condiciones iniciales	93
3.4.3	Condiciones de borde considerando un dominio 3D	93
3.5	Simulación del tratamiento térmico de formas complejas	94
3.5.1	Obtención del modelo digital 3D	95
3.5.1.1	Trazado de mallas	95
3.5.1.2	Captura de puntos	96
3.5.1.3	Modelado Geométrico	98

3.5.2	Análisis y simulación del proceso térmico en ALGOR®	101
3.5.2.1	Elección del escenario de diseño	102
3.5.2.2.	Generación de la malla	103
3.5.2.3	Definición de los elementos	105
3.5.2.4	Especificación del material de los elementos	105
3.5.2.5	Ingreso de los parámetros de tiempo y temperatura nodal	107
3.5.2.6	Especificación de las cargas de superficie	107
3.5.2.7	Análisis	112
3.5.2.8	Resultados	112
3.6	Ajuste entre las curvas simuladas y experimentales	113
3.7	Estimación del número de microorganismos sobrevivientes en las BIU	114
3.8	Evaluación del proceso térmico	114
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	117
4.1	Concentración inicial de la Unidad Indicadora Biológica	117
4.2	Determinación de la influencia de la BIU en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico	117
4.3	Simulación de los tratamientos térmicos aplicados	118
4.3.1	Modelo digital 3D	123
4.3.2	Modelo mallado, FEA	124
4.3.3	Diagrama de contorno	127
4.4	Comparación de perfiles de temperatura experimentales y simulados	133
4.4.1	Ubicación del extremo sensible de las termocuplas	133
4.4.2	Ajuste entre curvas simuladas y experimentales	133
4.5	Determinación de la letalidad del tratamiento térmico	147
4.6	Evaluación microbiológica de la letalidad de los tratamientos térmicos aplicados	151
4.7	Verificación del uso de las BIU en los tratamientos	157

	térmicos	
4.8	Análisis de los factores que influyen en el uso de las BIU	159
4.8.1	Evaluación en filetes de diferentes alimentos	159
4.8.2	Evaluación en filetes de diferentes tamaños	161
4.9	Letalidad equivalente utilizando los parámetros de resistencia térmica del <i>C. botulinum</i> y del <i>B. stearothermophilus</i>	164
5	CONCLUSIONES	166
6	RESUMEN	168
7	BIBLIOGRAFÍA	170
8	ANEXOS	183

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Características de los materiales de las bolsas esterilizables	16
2	Parámetros de resistencia térmica para el <i>Clostridium botulinum</i> y el <i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	39
3	Valores empíricos de F_0 para conservas de baja acidez	41
4	Valores prácticos de F_0 y Letalidad para alcanzar diferentes grados de esterilidad comercial	44
5	Trabajos recientes relacionados con la evaluación de tratamientos térmicos en bolsas esterilizables	52
6	Estudios de convergencia numérica realizados en productos envasados en bolsas esterilizables	57
7	Resumen valores de RMSE (%) para diferentes productos en bolsas esterilizables	61
8	Especificaciones de los capilares BIU confeccionadas	70
9	Especificaciones de la bolsa esterilizable	74
10	Especificaciones de las termocuplas Kapton®	75
11	Parámetros del caso particular de una de las muestras en estudio	107
12	Valores de F_0 y S obtenidos para los datos tiempo-temperatura de las BIU	118
13	Valores de $(F_0)_{\text{requerido}}$ para alcanzar diferentes efectos esterilizantes (S) de los tratamientos térmicos	119
14	Caracterización del proceso térmico	123
15	Parámetros de tamaño de las muestras evaluadas	124
16	Estadísticas de los modelos digitales de filetes de jurel en bolsas esterilizables	130

17	Coordenadas (x, y, z) de las termocuplas para las muestras evaluadas	138
18	Valores de RMSE por etapas para el proceso de esterilización de filetes	142
19	Valores de RMSE para el proceso de esterilización considerando temperaturas con importancia letal ($T > 100$ °C)	144
20	Coordenadas correspondientes al nodo más frío en los cortes de filetes evaluados	148
21	Valores de $(F_0)_{\text{procesos}}$ calculados para los perfiles de temperatura de la termocupla y del punto de más lento calentamiento/enfriamiento	148
22	Valores de $F_{0(\text{proceso})}$ en minutos del nodo mas frío a tiempos de operador de 55 y 60 minutos	149
23	Valores de $F_{0(\text{proceso})}$ en minutos del nodo mas frío a temperaturas con ($T > 100$ °C) y sin ($T < 100$ °C) importancia letal	150
24	Coordenadas (x, y, z) correspondientes a las Unidades Indicadoras Biológicas	152
25	Valores de $F_{0(\text{proceso})}$ en minutos de ambos extremos del capilar bioindicador para los tiempos aplicados	153
26	Valores estimados de microorganismos sobrevivientes en cada Unidad Indicadora Biológica (ufc/BIU)	154
27	Resultados obtenidos de las BIU una vez incubadas	155
28	Valores de F_0 para los extremos de la BIU y del punto de más lento calentamiento/enfriamiento	157
29	Resultados obtenidos de las BIU una vez incubadas	158
30	Valores estimados de microorganismos sobrevivientes en cada Unidad Indicadora Biológica	159
31	Parámetros de simulación para todos los alimentos	160

32	Valores de $(F_0)_{\text{proceso}}$ para filetes de diversos alimentos y de las mismas dimensiones	160
33	Parámetros de simulación para todos los alimentos	161
34	Valores esterilizantes (F_0 y S) y número inicial de esporas (N_0) por BIU para los filetes de diferentes tamaños	163
35	Valores esterilizantes expresados como F_0 y S en base al <i>G. stearothermophilus</i> y <i>C. botulinum</i> para los tratamientos térmicos aplicados	164

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Bolsa preformada	14
2	Sistema de llenado de filetes con boquilla dosificadora metálica	21
3	Esquema de autoclave vertical calentado por vapor de agua saturado	25
4	Esquema de autoclave con vapor saturado y aire comprimido	26
5	Representación esquemática de una curva de supervivencia	33
6	Representación esquemática de una curva TDT	36
7	Curva típica de esterilización	46
8	Programa operacional del autoclave Lagarde	47
9	Modelo Geométrico 2D y 3D usado en el análisis de transferencia de calor en bolsas esterilizables	48
10	Esquema que muestra la forma del alimento original y aproximado, y la ubicación de los elementos de control	49
11	Dominio mallado de la bolsa de la bolsa esterilizable utilizada en la simulación de esterilización térmica de líquidos alimentarios	50
12	Modelo digital 3D de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en Rhinoceros®	54
13	Nodos y elementos en un modelo cilíndrico	55
14	Tipos de elementos en el análisis térmico	56
15	Modelos mallados (FEA) de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en ALGOR®	59
16	Corte longitudinal del diagrama de contorno de	60

	alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en ALGOR®	
17	Ejemplo de Validación experimental de filetes de jurel en bolsas esterilizable	61
18	Etapas del desarrollo experimental de la investigación	63
19	Bioindicador Sterikon® plus marca MERCK	64
20	Procedimiento para la verificación de la concentración de esporas de la solución madre	65
21	Gabinete de seguridad Heal Force	66
22	Incubadora VWR Scientific Products	66
23	Contador de colonias Bantex	67
24	Colonias típicas del <i>G. stearothermophilus</i> sobre agar dextrosa peptona	68
25	Pipetas Pasteur CHASE SCIENTIFIC GLASS	69
26	Capilares de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU) confeccionadas	69
27	Jurel (<i>Trachurus symmetricus murphyi</i>)	71
28	Filetes de jurel	72
29	Inserción de la BIU al interior del filete de jurel	73
30	Bolsa esterilizable ALUSA (FA COSTEO 70z)	73
31	Dispositivos de bronce	74
32	Inserción de termocuplas en filete de jurel	75
33	Termocuplas tipo T Kapton® calibre 30	76
34	Selladora al vacío Plaspak Modelo KVP-65OT	77
35	Computador portátil, software Scanlink© v2.0 y registrador de temperatura de 12 canales DIGI-SENSE	78
36	Alargador de termocuplas	79
37	Autoclave Dixie Canner Equipment modelo RDSW-3. Sistema de medición de temperatura y presión del autoclave Dixie Canner	80

38	Equipos auxiliares: (a) Compresor HYDROVANE 50L. (b) Bomba centrífuga Pedrollo	81
39	Dispositivo de bronce para el paso de termocuplas al interior del autoclave	82
40	Plancha de cobre envasada al vacío en bolsa esterilizable	86
41	Valores del coeficiente U en función del tiempo para las experiencias realizadas	87
42	Vista superior y lateral de la toma de Rayos X en el producto	89
43	Sistema de Rayos X para la ubicación espacial de las termocuplas y las BIU en los cortes de filete	90
44	Negatoscopio utilizado para la ubicación espacial de las termocuplas y las BIU en los cortes de filete	91
45	Superficies expuestas al tratamiento térmico	95
46	Trazado de malla sobre la bolsa esterilizable	96
47	Brazo Digitalizador 3D	97
48	Captura de puntos con el sistema de digitalización 3D	98
49	Superficies de las bolsas esterilizables generados con el software Rhinoceros®	99
50	Modelado geométrico en Rhinoceros®	100
51	Modelo sólido digital de una bolsa esterilizable	101
52	Exportación del modelo digital desde el software CAD al CAE	102
53	Elección del escenario de diseño	103
54	Elección del tipo de malla del sólido.	104
55	Generación del tamaño de malla absoluto	104
56	Modelo mallado en ALGOR®	105
57	Definición de elementos	106
58	Propiedades termofísicas del material seleccionado	106

59	Ingreso del tiempo de proceso y paso de tiempo	108
60	Ingreso de la temperatura inicial o nodal del modelo.	109
61	Ingreso curva de carga de temperatura del medio, para el proceso de esterilización	110
62	Ingreso curva de carga del coeficiente global de transferencia de calor, para el proceso de esterilización	110
63	Asignación de las curvas de cargas al modelo digital	111
64	Modelo digital con cargas listas para el proceso de simulación térmica	111
65	Ventana del análisis del proceso en curso	112
66	Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 1	120
67	Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 2	121
68	Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 3	122
69	Modelo digital 3D de la muestra A-II visualizado en distintos planos	125
70	Modelo digital 3D de la muestra B-II visualizado en distintos planos	126
71	Modelo mallado (FEA) de la bolsa A-II	128
72	Modelo mallado (FEA) de la bolsa B-II	129
73	Corte longitudinal del diagrama de contorno de la bolsa A-II	131
74	Corte longitudinal del diagrama de contorno de la bolsa B-II	132
75	Curvas experimentales del tratamiento de esterilización "A" (116 °C x 55 min) de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables	134
76	Curvas experimentales del tratamiento de esterilización	135

	“B” (116 °C x 60 min) de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables	
77	Ubicación de las coordenadas (x, y, z) de las termocuplas y de la BIU por medio de radiografía para la muestra A-II	136
78	Ubicación de las coordenadas (x, y, z) de las termocuplas y la BIU por medio de radiografía para la muestra B-II	137
79	Localización de los nodos de la termocupla, más frío y BIU del modelo digital correspondiente a la muestra A-II	140
80	Localización de los nodos de la termocupla, más frío y BIU del modelo digital correspondiente a la muestra B-II	141
81	Perfiles tiempo/temperatura experimental y simulado de la muestra A-II	145
82	Perfiles tiempo/temperatura experimental y simulado de la muestra B-II	146
83	Retiro de la BIU al interior del filete de jurel envasado al vacío en bolsa esterilizable	155
84	Resultados positivos (+) y negativos (-) de las Unidades Indicadoras biológicas	156
85	Modelos digitales de filetes con diferentes espesores máximos	162

INDICE DE ANEXOS

Anexos		Página
I	Composición proximal y propiedades termofísicas del jurel (<i>Trachurus symmetricus murphyi</i>)	184
II	Recuentos obtenidos de la solución madre e inicial de las BIU.	185
III	Modelos digitales 3D	186
IV	Modelos mallados (FEA)	190
V	Diagramas de contorno.	194
VI	Radiografías de las muestras de filetes	198
VII	Nodos de las BIU y termocuplas.	202
VIII	Localización de nodos en modelos simulados.	203
IX	Perfiles tiempo/temperatura de las muestras tratadas térmicamente.	207
X	Composición proximal y propiedades termofísicas de alimentos	211

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los controles biológicos cualitativos y cuantitativos constituyen un medio disponible para verificar la esterilización de un producto o para determinar la efectividad del proceso de esterilización. Ellos confirman la presencia o ausencia de microorganismos viables después del proceso de esterilización. Además, se presentan como una alternativa para la verificación de la letalidad de los tratamientos térmicos determinados por métodos matemáticos.

Las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU), empezaron a desarrollarse desde la década de los 60 del siglo XX, y han sido clasificadas de acuerdo al orden de crecimiento, velocidad y rapidez de aparición de resultados. Son preparados que contienen esporas de *Geobacillus stearothermophilus* ó *Bacillus subtilis*. El *G. stearothermophilus* conocido también como *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, es un microorganismo aerobio facultativo, termófilo, posee gran resistencia al calor, está asociado a la descomposición ácida (flat-sour) en alimentos enlatados de baja acidez y además su incompleta inactivación podría afectar la calidad y estabilidad del producto durante su almacenamiento.

En la literatura especializada se disponen de pocos estudios sobre la factibilidad del uso de las BIU en el proceso de esterilización de alimentos enlatados de baja acidez. El objetivo de las BIU es proporcionar ayuda para la verificación del proceso del tratamiento térmico mediante su incorporación directa en el interior de la conserva.

El uso de nuevas tecnologías de envasado en el plano de conservas como es el caso de las bolsas esterilizables que presentan las ventajas de reducción de consumo de energía y velocidad de transmisión del calor, un mejor manejo de

almacenaje y distribución, la obtención de un producto con mejores características organolépticas (sabor, color, olor y textura) y mayor retención de nutrientes, han permitido comercializar alimentos como atún, salmón, arroz, comidas preparadas para bebés y alimento para mascotas en grandes mercados como Estados Unidos, Europa y Asia. En Chile varias compañías conserveras recientemente han ido introduciendo su nuevo formato de cortes de jurel (Jack Mackerel) envasado en bolsas esterilizables, al mercado Estadounidense, como son las pesqueras San José y Mar Profundo (Coronel, Concepción).

La gran aceptación comercial y reconocida calidad superior de los alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables ha despertado interés por aplicar modelos computacionales capaces de simular el proceso de transferencia de calor involucrado durante el tratamiento térmico para maximizar la eficiencia del tratamiento y optimizar la calidad del producto final. El problema matemático involucrado no es de fácil solución debido a que el sistema alimento-bolsa constituye una forma irregular compleja.

Una metodología para simular procesos de conducción de calor de alimentos de formas irregulares complejas mediante la aplicación de la Ingeniería Inversa, la tecnología de intercambio de datos CAD/CAE y el Método de los Elementos Finitos (FEM), ha sido implementada en el Laboratorio de Digitalización 3D e Ingeniería Asistida por Computador para el Procesamiento de Alimentos (FoodDigiCaeLab) del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICYTAL). Recientemente se ha demostrado la aplicabilidad de la Simulación 3D de los procesos térmicos para cortes de jurel en diferentes presentaciones (filetes, conos truncados y medallones) envasados al vacío en bolsas esterilizables considerando condiciones de asimetría geométrica y térmica.

Basándose en los antecedentes citados, la hipótesis, el objetivo general y los objetivos específicos de la presente investigación se mencionan a continuación:

Hipótesis:

La letalidad de procesos de esterilización de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables, obtenidos mediante simulación numérica, puede ser validada biológicamente.

Objetivo general:

Evaluar la factibilidad de uso de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU) para la verificación de tratamientos de esterilización de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables.

Objetivos específicos:

- Obtener Unidades Indicadoras Biológicas (BIU), que permitan la utilización de éstas en tratamientos de esterilización.
- Definir programas de tratamientos de esterilización de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables mediante Simulación 3D y en base a los parámetros de resistencia térmica de las esporas del *G. stearothermophilus*,
- Implementar en forma experimental a nivel planta piloto los tratamientos de esterilización definidos por Simulación 3D.
- Validar biológicamente en forma cualitativa los tratamientos de esterilización de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.
- Evaluar la posible utilización de las BIU en diversos alimentos mediante simulación 3D.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Unidad Indicadora Biológica (BIU)

Las Unidades Indicadoras Biológicas (en inglés *Biological Indicators Unit*, BIU) se usan para verificar la eficiencia de un proceso de esterilización y están diseñados para confirmar la presencia o ausencia de microorganismos viables después del proceso de esterilización. El indicador contiene esporas que son las más resistentes al método de esterilización empleado (RIVEROS, s.f).

Las BIU son suspensiones que contienen una carga suficiente de esporas no patógenas de microorganismos de alta resistencia (*Bacillus subtilis* y *Bacillus stearothermophilus*) a los procesos de esterilización, por lo tanto, son útiles y eficaces para establecer la capacidad del proceso de esterilización para destruir microorganismos específicos, que se sabe que son más resistentes al tratamiento térmico aplicado que los microorganismos patógenos involucrados.

Estos indicadores son mayormente utilizados para controlar procesos de esterilización en autoclaves de calor húmedo para materiales de laboratorio y productos farmacéuticos, especialmente preparados en ampollas, etc.

RIVEROS (s.f.) señala que los microbiólogos encontraron una manera de resolver el problema de la necesidad de toma de muestras de tarros en la industria conservera. Esto consiste en utilizar un organismo conocido que sea tan resistente como los microorganismos de interés que se encuentran en el interior de los tarros. El microorganismo indicador se puede colocar en condiciones que simulen el tarro con el producto. Esta "unidad indicadora biológica" se colocaría dentro del autoclave junto con el resto de los tarros durante el proceso de esterilización y después de terminado el tratamiento, este

indicador sería controlado para verificar la existencia de sobrevivientes. Separando el microorganismo indicador de los tarros, se puede evaluar la esterilidad evitando destruir parte de los tarros de un lote de la producción.

PERU, MINISTERIO DE SALUD (MINSA) (2002), señala que los indicadores biológicos se deben introducir al interior y en el punto medio de los paquetes de materiales más grandes y más pesados de la carga. Deben usarse diferentes controles en los distintos ciclos de cada equipo, generalmente una vez por semana como mínimo para todos los métodos (autoclaves, pupineles, oxido de etileno y esterilizadores de peróxido de hidrógeno) en cada carga de implantes y cada vez que se repare un equipo.

La ventaja que presentan las BIU es que están diseñadas de tal manera que la lectura e interpretación es muy fácil para confirmar la presencia o ausencia de microorganismos viables después del proceso de esterilización. Como es el caso de los indicadores autocontenidos, donde su lectura puede llevarse a cabo dentro de 3, 24 y 48 horas dependiendo del tipo de indicador. En el caso de los indicadores de primera generación la lectura se realiza dentro de 7 días (LLANOS, 2005).

Según MERCK (2006) las ampollas deben colocarse en aquellos sitios donde de acuerdo con la experiencia existan las condiciones de esterilización más desfavorables, es decir, en el espacio inferior y medio del autoclave. En el caso de autoclavaje de volúmenes individuales grandes (ej. Matraz con líquido) solamente es posible un ensayo con ayuda del bioindicador si se coloca la ampolla en el centro del correspondiente recipiente (ej. Colgado en el interior de un matraz). Otra posibilidad de empleo del bioindicador consiste en el control de autoclaves respecto a su completa capacidad de funcionamiento, esto es, examinar si un autoclave alcanza la temperatura prescrita de 121 ± 2 °C en todo el espacio interior y si permanece durante el tiempo prescrito de 15 min.

La verificación de los ciclos de esterilización se puede hacer por indicadores químicos y biológicos, sin embargo, las BIU son el único medio aceptado internacionalmente y es considerado el más confiable y seguro para el área de la salud (VILLALOBOS, 2001).

Las recomendaciones realizadas por la OMS (Organización Mundial de la Salud), la AORN (*Association of Perioperative Registered Nurses*) y por el CDC (*Center for Disease Control and Prevention*) americano, considera el monitoreo biológico como un parámetro que verifica directamente la letalidad del proceso de esterilización y la conveniencia de realizarse junto con la verificación mecánica y química, según las instrucciones del fabricante, para asegurar la eficacia del tratamiento (LLANOS, 2005).

En México una norma oficial establecida por las autoridades de salud hace obligatorio para los dentistas verificar biológicamente en forma mensual los ciclos de esterilización. Las BIU constituyen el control de calidad aplicable a los ciclos de la esterilización para aumentar la seguridad del paciente. Así, el manejo apropiado del equipo de esterilización debe abarcar la selección y uso de las BIU (ACOSTA **et al.**, 2002).

En un estudio realizado para determinar la frecuencia del uso de indicadores biológicos de esterilidad en las centrales de equipos y esterilización de hospitales, demostró que es necesario promover en el personal responsable de los procedimientos de esterilización de materiales, la utilización de los indicadores biológicos además de los fisicoquímicos comúnmente empleados, ya que se reducen los riesgos de contaminación al prevenir complicaciones infecciosas (FERIA **et al.**, 1999).

KELKAR **et al.** (2004) señalan que los indicadores biológicos son monitores ideales del proceso de la esterilización, porque a diferencia de los indicadores químicos, ellos miden el proceso de la esterilización directamente usando las

esporas. La ineficacia del proceso de la esterilización puede ser causada por muchos problemas tales como interceptación del aire, material húmedo grueso, defectos del indicador de presión, sobrecargas de cámaras y/o tiempo de ocupación inadecuado. Estos problemas pueden presentarse debido a fallas de autoclaves y/o personal entrenado inadecuadamente. En el trabajo de los autores citados, los indicadores biológicos demostraron un porcentaje de fallas del 12% y los resultados complementan el hecho de que los indicadores biológicos como herramientas del control de proceso son superiores a los indicadores químicos de uso general.

MARTISIENE (2006) señala que los resultados del estudio realizado en la evaluación de la efectividad de procesos de esterilización usando indicadores biológicos sobre 80 esterilizadores en la Universidad de Medicina de Lituania, demostraron que el proceso de esterilización fue ineficaz en 4,05% de los casos controlados, es decir, incluso cuando la calidad de la esterilización fue confirmada por técnicas de control físico y químico, el control biológico demostró que esa esterilización era ineficaz. Por lo que concluye que el control biológico es una parte integrante imprescindible de control de la esterilización, que asegura el más alto nivel de confiabilidad de la calidad de una esterilización.

2.1.1 Tipos de indicadores. Durante los pasados 40 años, los indicadores biológicos se han desarrollado a lo largo de tres generaciones. Según lo señalado por RUTALA *et al.* (1996), las Unidades Indicadores Biológicas (BIU) han sido clasificadas en primera, segunda y tercera generación, de acuerdo al orden de crecimiento, velocidad y rapidez de aparición de resultados.

- **Primera generación:** antes de 1970, las tiras de papel inoculadas con esporas de *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis* se colocaban en sobres, y una vez terminada la esterilización, se pasaban, de forma aséptica, a un caldo bacteriológico en el laboratorio, y se incubaban durante

siete días antes de la lectura. Se comprobaba el fallo de la esterilización, observando visualmente la turbidez producida por el crecimiento del microorganismo en el caldo. Las desventajas de este sistema incluían, la necesidad de un largo tiempo de incubación y la necesidad de transferir -de forma mecánica- las tiras de esporas al caldo de cultivo, lo que podía ocasionar una posible contaminación.

- **Segunda generación:** En los años 70, se introdujo los indicadores biológicos en sistemas independientes, en los que la tira de esporas y el medio, se encontraban dentro de un vial individual de plástico. Después de la esterilización, se rompía el vial interior de vidrio, permitiendo que el medio entrara en contacto con la tira de esporas. Además se incluye un indicador de pH (púrpura de bromocresol), que cambia de color al ser expuesto a los derivados ácidos originados en el crecimiento de los organismos. Las ventajas de estos indicadores incluyen una mejor lectura, la reducción del tiempo de incubación a 24/48 horas, y la posibilidad de llevar a cabo la incubación en la central de esterilización.
- **Tercera generación:** Hace pocos años se introdujeron los indicadores biológicos de Lectura Rápida Attest para el control de la esterilización por “flash”, vapor y óxido de etileno. Este indicador detecta la presencia de una enzima, α -D-glucosidasa, asociada a las esporas, y proporciona una lectura fluorescente que permite realizar una valoración sobre la efectividad de la esterilización al cabo de 1 hora (esterilización flash), 3 horas (esterilización por vapor) y 4 horas (esterilización por óxido de etileno). La lectura se realiza en la incubadora rápida y la fluorescencia indica la presencia de la enzima (falla en el proceso de esterilización evidenciada por una luz roja de la incubadora de lectura rápida) y la no fluorescencia indica la inactivación de la enzima (proceso de esterilización adecuado evidenciado por una luz verde en la incubadora). No es necesario ningún periodo de incubación

posterior. Además ofrecen la posibilidad de una detección temprana de cualquier mal funcionamiento del equipo, valida las reparaciones rápidamente, y vuelve a poner el esterilizador en servicio.

Un nuevo producto es el indicador enzimático que consiste en una tableta con enzimas biológicas dentro de un tubo de vidrio con una tapa de esponja. Una vez terminado el ciclo de esterilización, se le agrega un reactivo y el resultado se lee a los 20 a 30 segundos (LLANOS, 2005).

Según CHILE, MINISTERIO DE SALUD (MINSAL) (s.f.), los indicadores biológicos deben usarse de acuerdo a las instrucciones del fabricante y ser colocados en el sitio que presente el mayor desafío al proceso. Deben almacenarse en condiciones ambientales normales, entre 15 a 30 °C, con una humedad relativa de 35 a 60% y no almacenarlos cerca de agentes esterilizantes o de otros productos químicos ya que tienen una vida útil variable dependiendo del fabricante.

Estudios demuestran que la confiabilidad de diferentes tipos de BIU analizados y comparados entre ellos es del 100%, con una ventaja de funcionalidad encontrada en los indicadores biológicos de lectura rápida, que permite acortar el tiempo de lectura y por consiguiente el uso de los artículos esterilizados (VILLALOBOS, 2001). Con el mismo nivel de confiabilidad, los indicadores biológicos de lectura rápida a las 3 horas de incubación nos ofrecen los mismos resultados que a las 24 y 48 horas de incubación (MAÑES, 2005).

Según SHINTANI y AKERS (2000), acerca de la causa de variación del funcionamiento de indicadores biológicos usados para asegurar la esterilización, no encontraron ninguna diferencia significativa en el funcionamiento de las BIU medido según la resistencia de éstas. La población puede variar dependiendo de la técnica de recuperación o de la variabilidad de la población de la BIU disponible comercialmente. Además no hubo indicación

del estudio que un fabricante específico de las BIU suministre estos con mayor resistencia o la mayor población.

PENNA **et al.** (2002) señalan que tiras de papel inoculadas con esporas de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 que fueron secadas convencionalmente y liofilizadas, almacenadas en ambientes definidos de 32 y 86% de humedad relativa a 10, 25 y 33 °C por 210 días; y sometidas a tratamientos de calor húmedos a 121 °C, demostraron una disminución significativa en la resistencia térmica de niveles iniciales para los bioindicadores liofilizados almacenados a 86% de humedad relativa. Los promedios de los valores D_{121} eran $1,55 \pm 0,05$ y $1,37 \pm 0,10$ minutos para los bioindicadores liofilizados y $1,65 \pm 0,15$ y $1,57 \pm 0,11$ minutos para los bioindicadores secados almacenados en los mismos ambientes, ambos almacenados a 32 y 86% de humedad relativa respectivamente.

RUTALA **et al.** (1996) señalan que la sensibilidad de los indicadores de lectura rápida comparado con los indicadores biológicos convencionales es equivalente a un indicador biológico estándar de 48 horas.

2.1.2 Composición de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU). El organismo utilizado en la unidad indicadora debería representar un campo extenso de microorganismos conocidos y probados, que sean reconocidos como apropiados para el proceso de esterilización que va a ser monitoreado. Los organismos biológicos utilizados para procesos de esterilización por Vapor y Oxido de Etileno son el *Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953) y *Bacillus subtilis*, respectivamente.

- ***Bacillus stearothermophilus*:** microorganismo anaerobio facultativo, formador de esporas elipsoidales. Es una especie heterogénea del cual las características que la distinguen son: temperatura de crecimiento máxima entre 65 a 75 °C, temperatura de crecimiento mínima a 40 °C,

temperatura de crecimiento óptimo a 55 °C y una tolerancia limitada al ácido. La incidencia de *B. stearothermophilus* en alimentos está relacionado a la distribución de microorganismos en el suelo, agua y plantas. Además, la espora del *B. stearothermophilus* es de interés particular en productos enlatados ya que es la especie típica responsable del esporulamiento ácido-agrio de conservas de baja acidez. Este fermenta los carbohidratos con la producción de ácidos grasos de cadena corta que agrian el producto. El esporulamiento no da lugar a la producción de gas y por lo tanto no hay hinchazón de las latas, así que los extremos del envase siguen siendo planos. La incidencia de esporas de *B. stearothermophilus* en alimentos procesados por calor puede afectar la vida comercial del producto sin presentar un riesgo para la salud pública (KOTZEKIDOU **et al.**, 2000).

PARRA y ACOSTA (1999), realizaron un estudio en base a características morfológicas de cepas de diferentes marcas de BIU, entre ellos el bioindicador **Sterikon plus**[®]. Ellos encontraron que las marcas más utilizadas contienen endosporas con características propias de la cepa ATCC 7953 del *B. stearothermophilus*.

- ***Bacillus subtilis***: microorganismo aerobio, formador de esporas, contiene flagelos y comúnmente se encuentra en el suelo y asociado a plantas, sin embargo también ha sido reportado que el *B. subtilis* puede ser clasificado como un anaerobio obligado. Crecen en un rango de temperaturas de 25 a 43 °C y usualmente bajo condiciones aerobias a pH 2,2 – 8,5 (KOTZEKIDOU, 2000).

Según ASSOCIATION FOR ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI) (1992) el *B. stearothermophilus* debe ser utilizado en una población de 10^3 a 10^6 esporas/BIU, y el *B. subtilis* debe ser utilizado en una población de al menos 10^3 esporas/BIU siendo también típicamente

utilizado en una población de 10^6 esporas/BIU. Como costumbre se ha venido utilizando una población de microorganismos de 10^6 esporas/BIU como biocarga para estos indicadores biológicos utilizados para validar los procesos de esterilización.

SASAKI **et al.** (2000), señalan que la determinación de la concentración de calcio en un medio de ensayo de tiras de esporas de un indicador biológico comercial juega un rol importante en el valor D . Ellos concluyeron que la determinación más consistente del valor D de las esporas del *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 es posible cuando la concentración del calcio del medio de ensayo es controlado en un nivel apropiado. Además el calcio mostró ser importante para la germinación del *B. stearothermophilus*, pero su modo de acción no ha sido aclarado.

ALVAREZ **et al** (1996) señalan que el cloruro sódico (NaCl) sobre un 3% no permite el crecimiento del *B. stearothermophilus* (ATCC7953), disminuyendo los valores D en torno a un 50% al añadir el 2% de sal.

2.1.3 Evaluación de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU). La evaluación del tratamiento de esterilización se puede verificar dentro de 3, 12, 24 ó 48 horas una vez que estos bioindicadores hayan sido incubados en un horno a 60 ± 2 °C. Los tiempos y temperaturas dependerán del tipo de indicador (PATIÑO, 2001).

MERCK (2006), señala que en el caso de que se verifique una esterilización apropiada, las esporas de *G. stearothermophilus* serán destruidas, por lo tanto el color del contenido de las BIU (**Sterikon plus**®) permanecerá violeta rojizo y transparente. En el caso de una esterilización insuficiente donde sobrevivirían las esporas de *G. stearothermophilus*, el contenido de los capilares mostrará, generalmente dentro de 24 horas de incubación, un viraje de color amarillo-naranja y se enturbiará.

Según CHILE, MINISTERIO DE SALUD (MINSAL) (s.f.), si un indicador biológico resulta positivo (índice de la existencia de esporas sobrevivientes) puede deberse a fallas en el proceso de esterilización o manipulación inadecuada del equipo. Si ocurre esta situación se debe retirar todo el instrumental procesado en dicho esterilizador y revisar el esterilizador, incubadora, indicadores biológicos y los procedimientos. Si es negativo (ausencia de esporas sobrevivientes) puede ser que el proceso de esterilización fue adecuado pero también por caducidad o almacenamiento inadecuado de los indicadores, tiempo insuficiente o temperatura inadecuada en la incubadora.

3M CHILE S.A.¹, señala que el indicador biológico será positivo (sobrevivencia de esporas) cuando exista un fallo en el proceso de esterilización, esto incluiría un mal funcionamiento del esterilizador o una baja calidad del vapor. Asimismo, también dependería del tipo y método de empaquetado, la configuración de la carga y de los parámetros del ciclo de esterilización para la carga establecida.

2.2 Bolsa esterilizable

Las bolsas esterilizables para alimentos termoprocesados como una alternativa a los tarros de hojalata y los frascos de vidrio, han encontrado un aumento en su uso durante los últimos años. Fue desarrollada primeramente durante la década de 1940 - 1950 y comercializada durante la década 1960 - 1970, siendo de uso militar y raciones de emergencia. Sus orígenes se remontan a las investigaciones estadounidenses de los últimos años de la década de 1950 - 1960, aunque la mayoría de las aplicaciones comerciales se han llevado a cabo en Japón y Europa (HERSOM y HULLAND, 1995).

2.2.1 Bolsa preformada. Es la más comúnmente usada por los procesadores de alimentos y posee tres lados ya sellados por la fabricación (FIGURA 1). La

¹ 3M CHILE S.A. Santa Isabel 1001.Providencia – Santiago Sitio Web. [http:// www.3m.com](http://www.3m.com).

forma normal es la rectangular plana con cuatro costuras de aproximadamente un centímetro de ancho. El tamaño viene determinado por el espesor que tolera la bolsa y por el peso correcto durante el llenado.



FIGURA 1. Bolsa preformada.

2.2.2 Composición de la bolsa esterilizable. La elección de materiales para la elaboración de las bolsas esterilizables es muy importante, ya que deben proteger contra la degradación por la luz, cambios de humedad, invasión microbiológica y las interacciones del ingreso de oxígeno y envase. El material debe tener una integridad estructural de barrera y poder resistir temperaturas de retorta y el abuso normal de manejo. Estas también deben conformarse de acuerdo a los requerimientos regulatorios.

La mayoría de las bolsas están construidas con tres o cuatro láminas, estas consisten en una capa externa constituida generalmente por poliéster (capa externa de la bolsa), una capa de nylon o poliamida (capa intermedia), un papel de aluminio y una capa interna de polietileno modificado de gran densidad o un

copolímero de polipropileno (capa en contacto con el alimento). Las elaboradas a base de polipropileno resisten temperaturas más altas que las de polietileno de alta densidad (CFIA-ACIA, 2002) (CUADRO 1).

La laminación de las bolsas, el maltrato de éstas durante y el post-proceso, las impurezas en el aluminio y los “microagujeros” en el laminado –producto de su fabricación-, representan un problema en lo que se refiere a las propiedades de barrera del aluminio (CFIA-ACIA, 2002).

Entre la estructura de la bolsa, es importante mencionar que el adhesivo es crucial en el funcionamiento del laminado, por lo tanto se debe tomar el cuidado necesario para seleccionar el pegamento correcto para el trabajo. Muchas sustancias usadas en los materiales de empaquetado pueden convertirse en componentes del alimento por migración desde el empaque. Estos tipos de aditivos son referidos como aditivos indirectos, debido a que son sustancias que pueden tener contacto con el alimento aun si no han sido adicionados directamente al alimento (SMITH, 2005).

Las principales características que debe poseer una bolsa esterilizable se resume de acuerdo a NUÑEZ (2004) de la siguiente manera:

- Baja permeabilidad al oxígeno, menor de $15,5 \text{ cm}^3/\text{m}^2$ en 24 h.
- Baja permeabilidad a la humedad.
- Bajos valores de transmisión de vapor, menor de $0,78 \text{ g}/\text{m}^2$ en 24 h.
- Bajas propiedades hidrofílicas.
- Esterilizables y sellables al calor.
- Resistente a temperatura entre 0 y $121 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Resistencia a la penetración por grasas, aceites y otros componentes alimenticios.
- Fuerza física para resistir abusos durante el envasado, esterilizado, almacenamiento y posterior distribución.

CUADRO 1. Características de los materiales de las bolsas esterilizables.

Poliéster	Nylon	Papel de aluminio	Polipropileno.:
Resistencia a altas temperaturas y estables al calor.	Resistencia a temperaturas de hasta 150 °C.	Barrera a la luz, gases, microorganismos y olores.	Se usa como película por su alto punto de fusión..
Alta estabilidad en un intervalo amplio de temperaturas, de -60 a 150 °C.	Impermeabilidad a los gases, menos al vapor de agua, ya que son algo higroscópicas.	Flexible a cualquier marca o hendidura.	Es compatible con el alimento e inerte a muchos agentes químicos.
Buenas propiedades mecánicas.	Resistente a la abrasión y el desgarro	Extiende la vida útil.	Fuerte, firme y flexible
Resistencia a la tensión y al impacto.	Buenas propiedades mecánicas.	Espesor de 9 a 12 µm	Buena superficie de sello al calor.
Dureza y fuerza al envase.	Espesor de 15 µm.		Absorbe poca humedad.
Protección al roce del aluminio.			Su espesor varía de 50 a 80 µm.
Es imprimible.			
Espesor de 12 – 15 µm.			

- Ausencia de residuos solventes. Las películas de polipropileno químicamente inertes requieren catalizadores para su fabricación, los cuales deben ser removidos con solventes antes que la película pueda ser usada para alimentos.
- Los materiales utilizados para las láminas no deben migrar a los alimentos.
- Alta barrera a la luz.
- Bajo costo en el material de confección.
- Que traspase al mínimo olores y sabores a los alimentos contenidos en ellas.
- Ser agradable para el consumidor.
- Ser capaz de ser utilizada en sistemas de fabricación automáticas.
- Material capaz de ser impreso, para así obtener una buena presentación.

2.2.3 Ventajas de la bolsa esterilizable. El uso de esta nueva tecnología de envasado proporciona notables ventajas sobre la forma tradicional de enlatado que se mencionan a continuación (MERMELSTEIN, 1976; BRODY, 2003):

- El producto envasado cumple con los requisitos de esterilidad comercial definidos, por lo que no necesita refrigeración para su conservación, pudiendo mantenerse más de dos años a temperatura ambiente.
- Debido a que la distancia al centro de masa es más corta y la transferencia de calor más rápida en los puntos críticos, permite un menor tiempo de proceso, por lo que se obtiene un producto de alta calidad con mejor color, firmeza, textura y menos pérdida de nutrientes.
- Algunas bolsas tienen un abre fácil que elimina los requerimientos de utilizar un abre-tarros reduciendo el riesgo de corte.
- No producen daños, por los bordes irregulares.
- Su almacenamiento se vuelve más eficiente debido a que ocupan un 40% menos de espacio.

- Generan menos basura ya que fácilmente pueden ser comprimidas después de su uso.
- Las etiquetas pueden ser impresas en las láminas, haciéndolas permanentes.
- Las bolsas flexibles son de fácil distribución, por lo tanto el costo de transporte es más bajo, además requieren de menos espacio para su disposición.
- El espacio de almacenamiento para las bolsas flexibles vacías es también reducido.

2.2.4 Desventajas de la bolsa esterilizable. En términos de envasado el proceso es generalmente más largo ya que se requiere mayor mano de obra. Las bolsas a menudo necesitan mayor protección a través de una bolsa o cartón como empaque secundario. Las operaciones de llenado y empaquetado son más lentas y complejas comparados con una línea similar de conservas de enlatado. (PACKAGING DIGEST, 1998).

Otros autores como MERMELSTEIN (1976) y (BRODY, 2003), señalan las siguientes desventajas:

- El procesador a menudo requiere invertir un gran capital por la maquinaria empleada. Se estima 10 veces más para una línea completa de una nueva planta que para la inversión necesaria para línea completa de envasado en contenedores metálicos.
- El proceso de llenado y sellado es más lento comparado a las líneas de tarros de hojalata. Equipos actuales trabajan a velocidades de 60 a 120 bolsas por minuto mientras que las líneas que utilizan envases metálicos llegan a superar las 800 unidades por minuto.
- El proceso térmico es complejo debido al número de parámetros críticos del procesamiento que deben ser monitoreados (aire residual y mezcla de

aire/vapor entre otros), también se necesita establecer un sistema especial para medios de calentamiento óptimos y prevenir el contacto de bolsa a bolsa.

- Equipos especializados tales como un medidor de tensión es requerido para la detección de una filtración o escape y la evolución de la integridad del contenedor.
- Pueden presentarse problemas de daño mecánico de los alimentos elaborados por la flexibilidad de la bolsa. En productos frágiles y de cierto tamaño esto es particularmente grave ya que obliga a un trabajo cuidadoso durante la elaboración, así como una protección adicional con un embalaje, que incrementa el costo del producto.

2.2.5 Mercados y productos utilizados. De acuerdo a CATALA (1982), el mercado de los alimentos envasados en bolsas esterilizables abarca tres sectores: alimentación Individual, alimentación institucional y Fuerzas Armadas. Los alimentos que se comercializan en bolsas esterilizables son fundamentalmente los mismos que se usan para envases metálicos, estos abarcan productos vegetales, marinos, cárnicos y precocidos, siendo este último tipo de alimento el que más ha despertado interés a nivel industrial para su comercialización. Debido a la excelente calidad de sus productos, presentación y comodidad de preparación, permite una fácil y rápida elaboración (MITCHELL, 2002).

El uso de las bolsas esterilizables ha demostrado ser adecuado para una gran variedad de productos, incluyendo frutas, hortalizas, carnes, pescados y productos formulados (LAMPI, 1977). En las Fuerzas Armadas y en especial en el ejército es donde la utilización de bolsas esterilizables ya es un hecho, siendo los pioneros en esto las fuerzas armadas de los EE.UU (MITCHELL, 2002).

En Chile la empresa ALUSA S.A. —líder de los envases en el continente—,

fabrica éste tipo de envases. Varias son las empresas como CAROZZI S.A., SAN JOSE S.A. y ALIMENTOS MAR PROFUNDO S.A., que apostaron por este tipo de envases añadiendo un mayor valor agregado a sus productos y compitiendo con el gran mercado globalizado de estos días². Los segmentos de salsas preparadas, pescados, carnes, champiñones y otros ingredientes delicados representan el futuro inmediato de estos empaques. La comida étnica es, así mismo, un nicho que hasta ahora se está desarrollando con líneas de cocina thai y mexicana. En general la bolsa esterilizable (*pouch*) está muy de acuerdo con los tiempos modernos. La idea es tener comidas preparadas en bolsas individuales que se puedan calentar en el microondas y listos para servir³.

2.2.6 Tecnología de envasado. El sistema de envasado en bolsas esterilizables no difiere en aspectos básicos en comparación al sistema realizado en envases de hojalata, sin embargo implica operaciones que le son particulares, como la confección, llenado, manejo durante y post-proceso, y sellado hermético de la bolsa, además del sistema de esterilización mas adecuado.

De acuerdo a CANADA, CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY (CFIA-ACIA) (2002), los factores que afectan la integridad de la bolsa esterilizable están concentrados en tres principales áreas del proceso y se resumen en la siguiente sección:

a) *Llenado impropio:* que puede causar la contaminación del área de sello por: goteo post-llenado, vacío incorrecto y sobrellenado.

Llenar las bolsas es una etapa crítica en el sistema de envasado, puesto que es esencial que la bolsa sea llenada a un nivel apropiado y el producto nunca entre

² www.elempaque.com

³ www.canal13.cl

en contacto con el área de sello. Las especificaciones detalladas de llenado enfocadas a la eliminación de la contaminación del área de sello son difíciles de definir, ya que cada producto tiene sus propias características de flujo y tamaño de partícula.

En la industria de mariscos, salmón ahumado y otros productos pesqueros, las bolsas esterilizables son comúnmente llenadas a mano, a través de una boquilla dosificadora metálica que permite llenarla y que sirve para prevenir la contaminación del área de sello (ACEVEDO, 2008) (FIGURA 2).



FIGURA 2. Sistema de llenado de filetes con boquilla dosificadora metálica.

FUENTE: ACEVEDO (2008).

b) Sellado inapropiado: que comprometerá la integridad de la bolsa. El control del “aire contenido” en bolsas esterilizables se debe definir como factor de proceso crítico por el procesador, -si afecta el programa del proceso térmico-, puesto que el contenido de aire residual en la bolsa sellada podría conducir a una tensión excesiva de los sellos durante el proceso térmico y podría afectar

significativamente la tasa de transferencia de calor.

El tipo de producto determinará si un sellador al vacío deberá ser usado. Esto porque en los productos que son llenados calientes la rápida evacuación en un sellador podría aumentar la posibilidad de contaminación del área de sello.

Para barrer el espacio de cabeza, se puede utilizar nitrógeno (gas inerte) que amplía la vida útil del producto, protege la integridad del empaque y promueve una transferencia de calor uniforme. O también se puede utilizar túneles de atmósferas de vapor que trabajan por medio de inyección de vapor.

En las bolsas esterilizables un sello hermético se obtiene por la fusión de dos capas selladas por calor. Los métodos más comúnmente usados son el sellador por contacto donde se incluyen la barra caliente o por impulsos. Otros métodos tratados son por inducción, ultrasónicos y dieléctricos.

Hay un número de requisitos previos para alcanzar un buen sello. Estos son:

- Bolsas correctamente formadas y no dañadas.
- La ausencia de materiales externos en el área de sellado de las bolsas.
- La colocación apropiada de las bolsas en la máquina de sellado.
- Superficies de sellado, planas, lisas y paralelas, y.
- Factores misceláneos que puedan afectar el sello hermético tales como.
 - La temperatura de fusión.
 - La presión creada y el tiempo de detención por la máquina de sellado que une las piezas.
 - La compatibilidad del material de sellado, y
 - La contaminación del área de sello y la condición de la superficie de sellado.

c) Manejo inapropiado durante el proceso o post-proceso: puede causar daños al sello y a la bolsa.

Una investigación sobre el manejo de la bolsa esterilizable sobre la dirección de las bolsas selladas y el manejo de la bolsa post-proceso, señala que cualquier contacto con la bolsa permite problemas de abrasión, pinchazos, contaminación por mohos y microorganismos, y tensión de sellos, entre otros debido al mal manejo de éstas (CFIA-ACIA, 2002).

2.3 Sistema de esterilización de envases flexibles

Es reconocido que para esterilizar comercialmente alimentos en envases plásticos (envases flexibles o semirígidos) son necesarios procesos térmicos a sobrepresión (MITCHEL, 2002).

Según HERSOM y HULLAND (1995), la selección del medio de calentamiento, viene determinada en gran parte por el tipo de envase y los que requieren una sobrepresión durante el procesado. Los envases de vidrio y las bolsas, se procesan generalmente en agua sobrecalentada con aire a sobrepresión, o en mezcla de aire y vapor de agua. Esta operación se considerará como el punto crucial de todo el procedimiento, ya que las propiedades de conservación, y en cierta extensión la calidad del producto, dependen del uso correcto de la operación.

En el periodo de calentamiento es necesario retardar la transferencia de calor, además de vencer la tendencia a la expansión de los envases flexibles y semirígidos producida por los gases. En el caso de la etapa de enfriamiento se debe impedir que las presiones de vapor internas pudieran tender a deformar o hacer estallar los envases. De esta forma es necesario durante el proceso de esterilización que se equilibren las presiones internas y externas cuando las temperaturas durante el ciclo de calentamiento superan los 100 °C y cuando baja la temperatura en la etapa de enfriamiento llegando a los mismos 100 °C para lo cual se debe aplicar sobrepresión (MITCHELL, 2002).

El procesado puede realizarse en autoclaves discontinuas o en autoclaves continuas dotados de sistemas de calentamiento y de enfriamiento a presión, a tiempos y temperaturas cuidadosamente predeterminados, para ello son aplicados principalmente tres técnicas: a) Procesos con vapor saturado; b) Proceso por mezcla de vapor de agua-aire; c) Proceso con agua caliente a sobrepresión. Al respecto las tecnologías (a) y (b) son las más comúnmente utilizadas para el caso de bolsas esterilizables.

2.3.1 Proceso con vapor saturado. El autoclave debe contar con un adecuado sistema de suministro de vapor que permita llegar a la temperatura de trabajo en un tiempo razonable. Además cada autoclave debe disponer de un sistema de venteo que asegure la eliminación de todo el aire interior de la carcasa. El diseño del autoclave (número de purgadores y disposición de los mismos, caudal y presión de vapor de entrada, etc.) y la disposición de los envases en las cestas se deberán estudiar con vistas a facilitar la eliminación de las “bolsas” de aire del interior del recinto en el menor tiempo posible (CASP y ABRIL, 1999). En la FIGURA 3 se muestra el esquema de un autoclave vertical.

La operación con estos autoclaves debe asegurar la homogeneidad del tratamiento aplicado al lote de envases que se encuentra en su interior, por lo tanto, si se pretende que el tratamiento sea homogéneo se debe conseguir que la superficie de todos los envases dispuestos en el interior del autoclave estén en contacto con vapor de agua al momento de iniciar la operación. Esto quiere decir que se debe eliminar todo el aire presente a través del sistema de venteo que debe disponer cada autoclave.

MITCHELL (2002), señala que esta técnica ya no es utilizada debido a las precauciones que deben ser tomadas al momento de tratar las bolsas esterilizables. Problemas de deformación en el material de envasado producto de altos tiempos de residencia durante el desarrollo de altas temperaturas.

Además para un tratamiento con vapor saturado, el aire debe ser cuidadosamente removido del interior del envase.

2.3.2 Proceso por mezcla de vapor de agua-aire. Sobre la base de los métodos empleados para mezclar y circular el medio gaseoso en autoclaves vapor/aire, las tres mayores clasificaciones de estas son por: reposición de aire, flujo positivo y convección forzada (MITCHELL, 2002). En la FIGURA 4, se muestra un esquema de autoclave con mezcla vapor /aire.

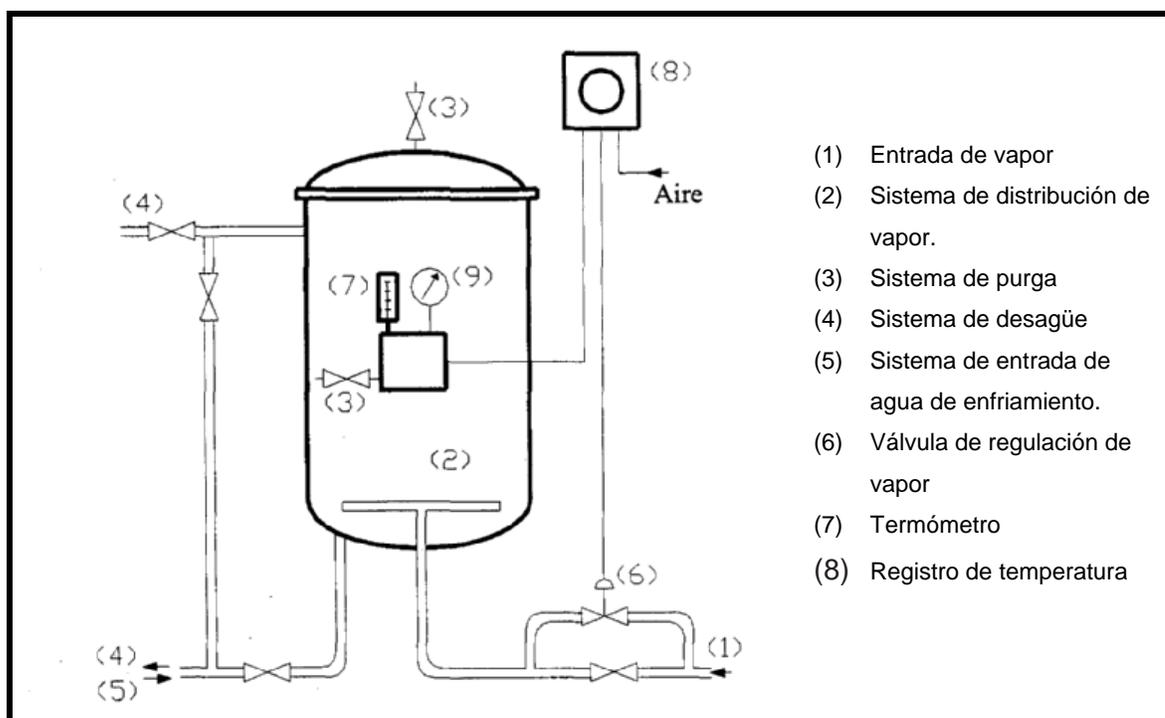


FIGURA 3. Esquema de autoclave vertical calentado por vapor de agua saturado.

FUENTE: CASP y ABRIL (1999).

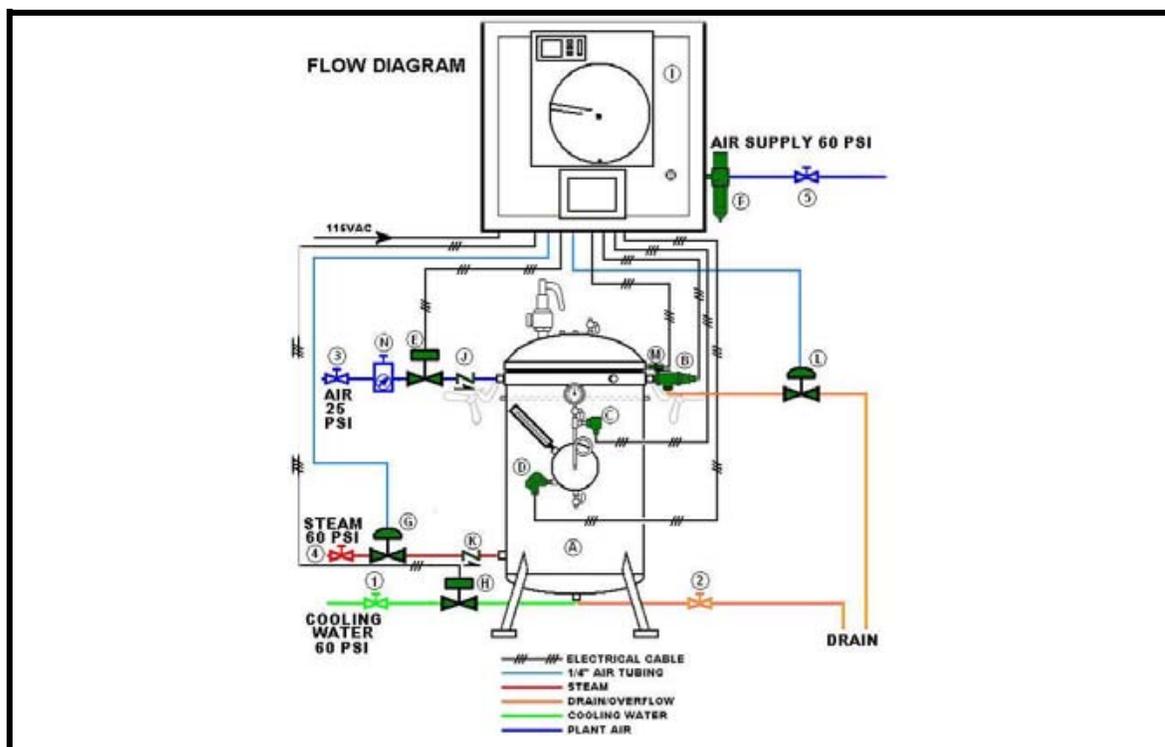


FIGURA 4. Esquema de autoclave con vapor saturado y aire comprimido.

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

2.3.2.1 Sistemas de reposición de aire. Este tipo de autoclave esta compuesto de pequeñas válvulas que proporcionan un venteo constante durante el calentamiento, permitiendo así mantener la temperatura y presión deseada. Sin embargo, este venteo produce una caída de presión, lo que provoca que una válvula de aire se abra para reestablecer la presión, así el aire que entra al autoclave tiende a disminuir la temperatura, la que es señal para la adición de vapor y por ende la traducción en un aumento de presión (NUÑEZ, 2004).

Este sistema se puede volver demasiado dificultoso, debido a las repetidas desviaciones de temperatura y presión, además de producir un medio no homogéneo de calentamiento producto de la adición de vapor y aire en forma independiente (NUÑEZ, 2004).

2.3.2.2 Sistemas de flujo positivo. Fueron diseñados para mejorar el control de los autoclaves, perfeccionando en forma independiente la estabilidad de la presión y la temperatura. De esta forma, para mantener la temperatura requerida se adiciona vapor por medio de un controlador de temperatura que opera una válvula de flujo proporcional en la línea de vapor y las condiciones de presión en el autoclave son mantenidas gracias a un controlador de presión para la entrada de aire y líneas de venteo. Así cuando ocurre un caída o exceso de presión, las válvulas de suministro de aire y de venteo se abren o cierran de acuerdo a lo requerido.

2.3.2.3 Sistema de convección forzada. Estos sistemas poseen un potente ventilador que hace circular el fluido de calentamiento por todo el autoclave en el que se han dispuesto unos deflectores para dirigir este flujo. El ventilador situado en uno de los extremos del autoclave trabaja en aspiración succionando la mezcla aire-vapor del centro del recinto y enviándola al extremo contrario entre los deflectores y la carcasa. Los condensados producidos durante el calentamiento permanecen en el interior de la carcasa y se emplean para el enfriamiento del producto pulverizándolos sobre él, después de haber sido enfriados en un intercambiador de calor externo contra agua fría. Usualmente el vapor y el aire se premezclan antes de pasar al autoclave, pudiendo usarse un tanque adicional, independiente del esterilizador para proporcionar aire a presión (CASP y ABRIL, 1999).

El uso de este tipo de autoclave permite aumentar las densidades de carga e incrementar la producción de operaciones comerciales. En la práctica -75% vapor y 25% aire a 95% vapor y 5% aire-, es la razón normalmente usada para operar dependiendo de la sobrepresión del aire en el autoclave. Por esta razón el tipo de envase y la temperatura del proceso determinan la proporción aire-vapor (NUÑEZ, 2004).

MITCHELL (2002) señala que cuando se esteriliza a 120 °C pueden usarse mezclas de 85:15% de vapor:aire respectivamente, y cuando se procesa a menor temperatura o el producto a esterilizar posee un elevado contenido de aire debe aumentarse la relación de aire sobre el volumen total, siendo preferible en este caso usar agua como medio de calentamiento.

2.4 Cálculo de Procesos Térmicos

2.4.1 Esterilidad Comercial. El término **Esterilización**, se refiere a la consecución de la **Esterilidad Comercial**, definido como la condición de la cual se eliminan los microorganismos que causan enfermedades peligrosas para la salud y que son capaces de crecer en el alimento bajo almacenamiento y distribución no refrigerado.

En la actualidad un alimento enlatado es procesado hasta alcanzar una **Esterilidad Comercial**. Este concepto implica la desactivación o destrucción de todos los microorganismos que ponen en peligro la salud pública hasta una muy baja probabilidad de sobrevivencia. Para las conservas de baja acidez (pH > 4,5) el indicador crítico son las esporas del **Clostridium botulinum** (PFLUG, 1987b; TOLEDO, 1991).

2.4.2 Esporulamiento económico. Es el esporulamiento de microorganismos que no dañan la salud pública. Los microorganismos esporulados frecuentemente tienen una mayor resistencia al calor que el *C. botulinum* y su desactivación o destrucción es la base para el diseño del proceso térmico en algunas plantas conserveras (TOLEDO, 1991).

PFLUG (1987c) describe el esporulamiento económico como los microorganismos que esporularán el producto pero no causarán enfermedades (no patógenos) si el producto contaminado es consumido. Además, señala que hay muchos organismos formadores de esporas más resistentes que el

patógeno *C. botulinum*, por lo que se puede aceptar una probabilidad diferente (microorganismo más resistente) de sobrevivencia para un microorganismo no patógeno.

Para el esporulamiento económico el concepto aplicado para asegurar el proceso de esterilización involucra usar los parámetros cinéticos de bacterias altamente resistente como el *Bacillus stearothermophilus* (PFLUG, 1987c).

2.4.3 Parámetros cinéticos de la inactivación térmica de microorganismos.

Un aspecto crítico en el cálculo de procesos térmicos es la necesidad de conocer los parámetros que cuantifican la influencia de las temperaturas letales sobre la inactivación de las poblaciones microbianas. Es importante destacar que la completa caracterización del impacto de las temperaturas letales sobre las poblaciones microbianas requiere referirse al Tiempo de Reducción Decimal (Valor D) y al Tiempo de Destrucción Térmica (TDT o valor F), además del concepto de la Constante de Resistencia Térmica (valor z) (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003a;b).

Los parámetros F_T , D_T y z son coeficientes empíricos determinados a partir de la cinética de reducción de una población microbiana. Sus definiciones fueron desarrolladas sobre la base que los miembros de una población microbiana expuesta a temperaturas letales son afectadas solamente por inactivación y que la velocidad de inactivación es de naturaleza logarítmica (JUNEJA y HUANG, 2003; DAVIDSON y WEISS, 2003; MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003a). Los principios generales de resistencia térmica de microorganismos son correctamente presentados en el clásico libro de BALL y OLSON (1957), en varios libros de textos y capítulos del libro (PFLUG y SCHMIDT, 1968; STUMBO, 1973; CASOLARI, 1988; TOLEDO, 1991; TEXEIRA, 1992; RAMASWAMY y SINGH, 1997, entre otros), y en formato electrónico preparado por el Instituto de Tecnólogos de Alimentos para la FDA/CFSAN (2000).

2.4.3.1 Tiempo de destrucción térmica (Valor F). En los primeros estudios del desarrollo de la teoría del cálculo de procesos térmicos, la resistencia al calor de las esporas bacterianas fue cuantificada para calcular los tiempos de procesamiento para los alimentos enlatados. El concepto básico asociado con esta tecnología fue el Tiempo de Destrucción Térmica (TDT) y fue definido por BIGELOW y ESTY (1920) como *“el tiempo necesario a diferentes temperaturas para destruir completamente una concentración definida de esporas en un medio de concentración de hidrógeno (pH) conocido”*. De acuerdo a BALL y OLSON (1957) el TDT es definido como el tiempo necesario a una temperatura constante para destruir completamente todos los microorganismos en una población capaz de causar deterioro a los alimentos. En otras palabras, es el tiempo a la cual no se observa crecimiento microbiano en los medios de cultivo o muestras de alimentos evaluadas utilizando métodos probados científicamente (JUNEJA y HUANG, 2003). Para los estudios de resistencia térmica, la definición de los bacteriólogos sobre la muerte es simple y práctica, *“una bacteria está muerta cuando ha perdido su habilidad para reproducirse”* (STUMBO, 1973; GOMBAS, 1983).

PFLUG (1987a), señala que el tiempo de destrucción térmica (TDT) es el tiempo necesario para inactivar un número dado de microorganismos en un medio específico a una determinada temperatura letal constante (250 °F). Mediante este método, la temperatura se mantiene constante y se determina el tiempo necesario para reducir la carga microbiológica inicial a las condiciones de punto final específicas, es decir, reducir un cierto número de ciclos logarítmicos (S) la carga microbiológica.

La primera etapa en el cálculo de los tiempos de proceso térmico para alimentos enlatados involucra la determinación del TDT del microorganismo crítico que está siendo inactivado por el proceso. Los métodos disponibles para determinar el TDT incluyen el tubo, bolsa esterilizable (nylon), lata, del matraz,

del termorresistómetro, del tubo abierto y del tubo capilar (JUNEJA y HUANG, 2003).

El modelo log-lineal del TDT, desarrollado en los primeros años de la termobacteriología, asume una cinética de primer orden. Este modelo tiene una larga historia de éxitos, modelando la inactivación térmica de esporas en el procesamiento de esterilización. Entre los años 1920 - 1950, se introdujo el concepto de valor z , valor F y valor D asociado con la destrucción térmica de microorganismos, siendo base fundamental para el desarrollo y evaluación de los procesos térmicos hasta nuestros días (JUNEJA y HUANG, 2003; MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003a).

2.4.3.2 Valor D . El término de “tiempo de reducción decimal”, usando la abreviación DRT (*DECIMAL REDUCTION TIME*) en vez del símbolo D usado hoy en día, fue introducido por primera vez en 1943 por KATZIN **et al.** (1943) durante sus determinaciones cuantitativas de la velocidad de mortalidad microbiana por calor. Al mismo tiempo BALL (1943) seguido por STUMBO (1948; 1949) usaron el símbolo Z (Zeta, sexta letra del alfabeto griego) para representar el “valor de la pendiente de la curva de sobrevivencia logarítmica” y lo definieron como “el número de minutos requeridos para que la curva de sobrevivientes atravesase un ciclo logarítmico”. Para evitar la confusión del símbolo Z con el valor z , el cual representa la pendiente de la curva de muerte térmica, investigadores del área acordaron utilizar el símbolo D en vez del Z (STUMBO, 1950). El concepto de tiempo reducción decimal (valor D) entra en uso general después de 1950 (BALL, 1957; STUMBO, 1973; TOLEDO, 1991).

El valor D es definido como “el tiempo requerido para inactivar el 90% de las esporas o células vegetativas de un determinado microorganismo cuando es expuesto a una temperatura letal constante en un medio dado” (RAMASWAMY y SINGH, 1997; FDA/CFSAN, 2000; PFLUG, 1987a). La definición ampliada

como “el tiempo requerido para que la concentración de cualquier componente, incluyendo microorganismos, cambie por un factor de diez a una temperatura constante” (MERSON **et al.**, 1978), permite su aplicación para factores de calidad y nutricionales siguiendo también cinéticas de reacción de primer orden (TOLEDO, 1991). Numéricamente es igual al número de minutos requerido para que la curva de concentración de microorganismos sobrevivientes o componentes químicos atraviese un ciclo logarítmico. En el caso de la inactivación microbiana, ésta puede ser determinada gráficamente trazando el número de sobrevivientes como una función del tiempo de calentamiento a temperatura letal constante usando la típicamente llamada *Curva de Sobrevivencia* (RAMASWAMY y SINGH, 1997; HELDMAN y HARTEL, 1997).

El índice de muerte logarítmica ha sido apropiadamente corroborado en muchos estudios independientes (TOWSEND **et al.**, 1938; STUMBO, 1948;1950; ODLAUG y PFLUG, 1977; PUT y DE JONG, 1982; SPLITTSTOESSER **et al.**, 1986; SUMNER **et al.**, 1991; BREMER **et al.**, 1998; ESSELEN y PFLUG, 1956; MULAK **et al.**, 1995; REICHAART, 1979; FEEHERRY **et al.**, 1987; XEZONES y HUTCHINGS, 1965; ALDERTON **et al.**, 1974; PERKINS **et al.**, 1975; ODLAUG **et al.**, 1978; SHUMAN **et al.**, 1997; REED **et al.**, 1951), y para una población microbiana dada aparece como una línea recta sobre un gráfico semilogarítmico (ver FIGURA 5). Matemáticamente es igual al recíproco negativo de la pendiente de la *curva de sobrevivencia* y puede ser calculado como sigue:

$$\frac{\log N_{t_1} - \log N_{t_2}}{t_1 - t_2} = -\frac{1}{D_T} \quad (2.1)$$

La Ecuación (2.1) puede ser reordenada para describir los cambios en la población microbiana como una función del tiempo de calentamiento, t :

$$\log \frac{N_t}{N_0} = -\frac{t}{D_T} \quad (2.2)$$

La Ecuación (2.2) es el modelo empírico el cual expresa el valor F ó TDT como múltiplo del valor D como sigue (PFLUG, 1987ab):

$$F_T = D_T \log\left(\frac{N_0}{N_t}\right) \quad (2.3)$$

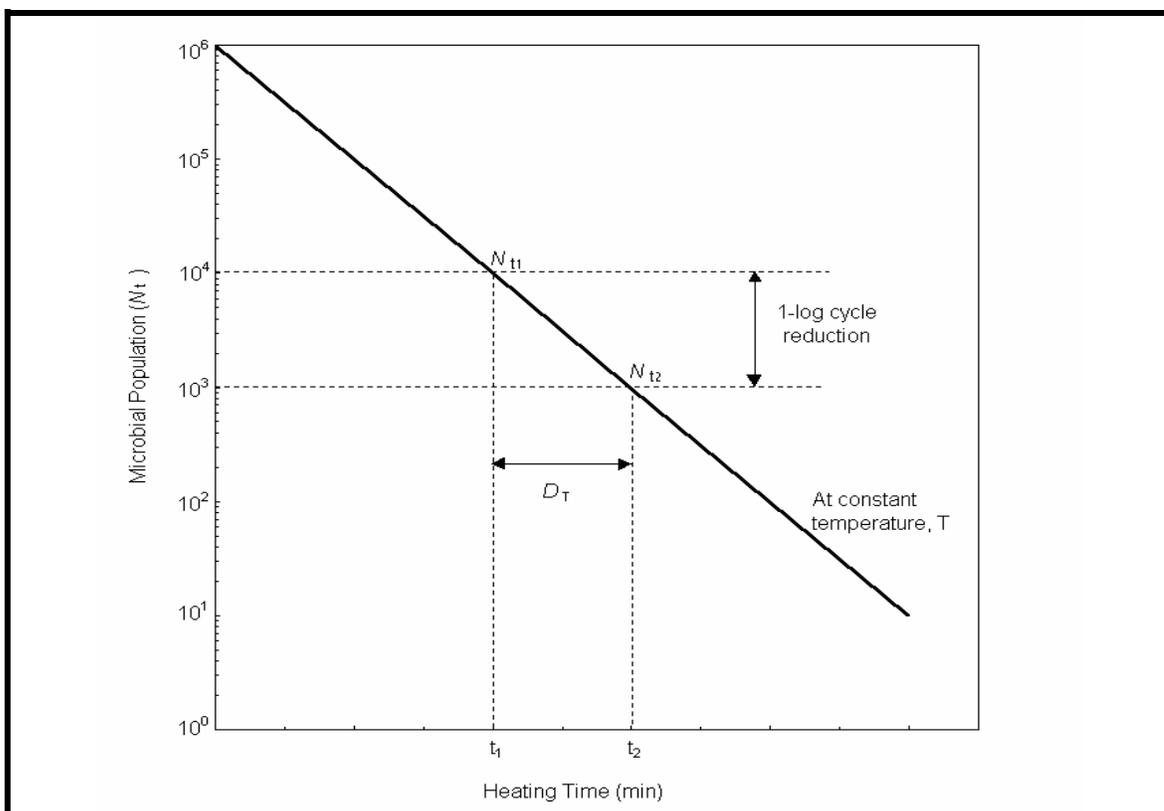


FIGURA 5. Representación esquemática de una curva de supervivencia.

FUENTE: MORALES-BLANCAS y TORRES (2003a).

2.4.3.3 Valor z . La influencia de la temperatura sobre la velocidad de inactivación microbiana ha sido expresada en términos del valor z en los primeros años de la termobacteriología. Estos primeros esfuerzos incluyen las medidas cuantitativas realizadas por CHICK (1910) sobre la inactivación térmica de células vegetativas, y por ESTY y MEYER (1922) sobre esporas de *Clostridium botulinum*, complementado con el desarrollo del primer procedimiento gráfico basado en estudios del “*punto de muerte térmica*” para

representar sobre una escala semi-logarítmica la resistencia de bacterias a una temperatura letal (BIGELOW y ESTY, 1920; BIGELOW, 1921). El concepto del valor z fue aplicado extensamente en los primeros reportes durante el desarrollo del método gráfico y matemático para la evaluación de procesos térmicos (BALL, 1923; STUMBO, 1950).

El valor z es un parámetro básico en el esquema de evaluación de la inactivación microbiana por calor. Este término apareció en los primeros esfuerzos por ajustar los datos en bruto de la velocidad de destrucción térmica hacia un coeficiente de temperatura usando la curva de Tiempo de Destrucción Térmica, *en Inglés* “Thermal Death Time” (TDT), que se obtiene trazando sobre un gráfico semi-logarítmico los valores TDT en función de una temperatura letal (BALL, 1923:1928; TOWNSEND **et al.**, 1938). Así, originalmente los valores z fueron calculados de valores de TDT (valores F_T) a partir de la pendiente de la curva original TDT (FIGURA 6) de la siguiente forma:

$$\frac{\log F_{T_1} - \log F_{T_2}}{T_1 - T_2} = - \frac{1}{z} \quad (2.4)$$

Cuando el valor z es determinado a partir de los datos TDT (valor F) (RAMASWAMY y SINGH, 1997; TOWNSEND **et al.**, 1938; REED **et al.**, 1951) algunas veces el símbolo z_F es usado. Basado en la Ecuación (2.4) se obtiene la ecuación de la curva TDT (TOLEDO, 1991; RAMASWAMY y SINGH; MERSON **et al.**, 1978):

$$TDT = F_T = F_{T_{ref}} 10^{(T_{ref}-T)/z} \quad (2.5)$$

El valor z , últimamente referido como “*constante de resistencia térmica*” y denotado por $z(T)$ (FDA/CFSAN, 2000), es una característica de un microorganismo y expresa el cambio en la velocidad de muerte con respecto a

un cambio en la temperatura letal. Numéricamente es igual al número de grados (en °F ó °C) requeridos para cambiar en un ciclo logarítmico, o por un factor de 10, el valor del *tiempo de reducción decimal* (valor D). Gráficamente, puede ser determinado trazando el logaritmo del valor D en función de la temperatura letal, el cuál desde 1950 es frecuentemente referido como la curva de *Tiempo de Destrucción Térmica* en lugar de usar el tradicional gráfico TDT (TEXEIRA, 1992; STUMBO **et al.**, 1950; ODLAUG y PFLUG, 1977; PUT y DE JONG, 1982; SPLITTSTOESSER **et al.**, 1986; SUMNER **et al.**, 1991; BREMER **et al.**, 1998). La diferencia entre ambos gráficos es trivial desde que los valores de F son múltiplos de los valore D (STUMBO, 1973). Algunas veces el gráfico es llamado también *Curva de Resistencia Térmica* (PFLUG y SCHMIDT, 1968; RAMASWAMY y SINGH, 1997; HELDMAN y HARTEL, 1997; ESSELEN y PFLUG 1956; MULAK **et al.**, 1995) o *Curva de Destrucción Térmica* (TD) (STUMBO, 1973; LÖWIK y ANEMA, 1972; REICHART, 1979; FEEHERRY **et al.**, 1987).

Sobre el rango de temperaturas de interés en la tecnología de esterilización de alimentos, las curvas TDT se aproximan a líneas rectas (STUMBO, 1973) (ver FIGURA 6). Matemáticamente, el valor z es igual al recíproco negativo de la pendiente de la curva TDT y puede ser expresado como sigue:

$$\frac{\log D_{T_1} - \log D_{T_2}}{T_1 - T_2} = - \frac{1}{z} \quad (2.6)$$

La Ecuación (2.6) es usada cuando el valor z es calculado de valores D (STUMBO, 1950; XEZONES y HUTCHINGS, 1965; ALDERTON **et al.**, 1974; PERKINS **et al.**, 1975; ODLAUG **et al.**, 1978; SCHUMAN **et al.**, 1997), y es algunas veces denotado por el símbolo z_D .

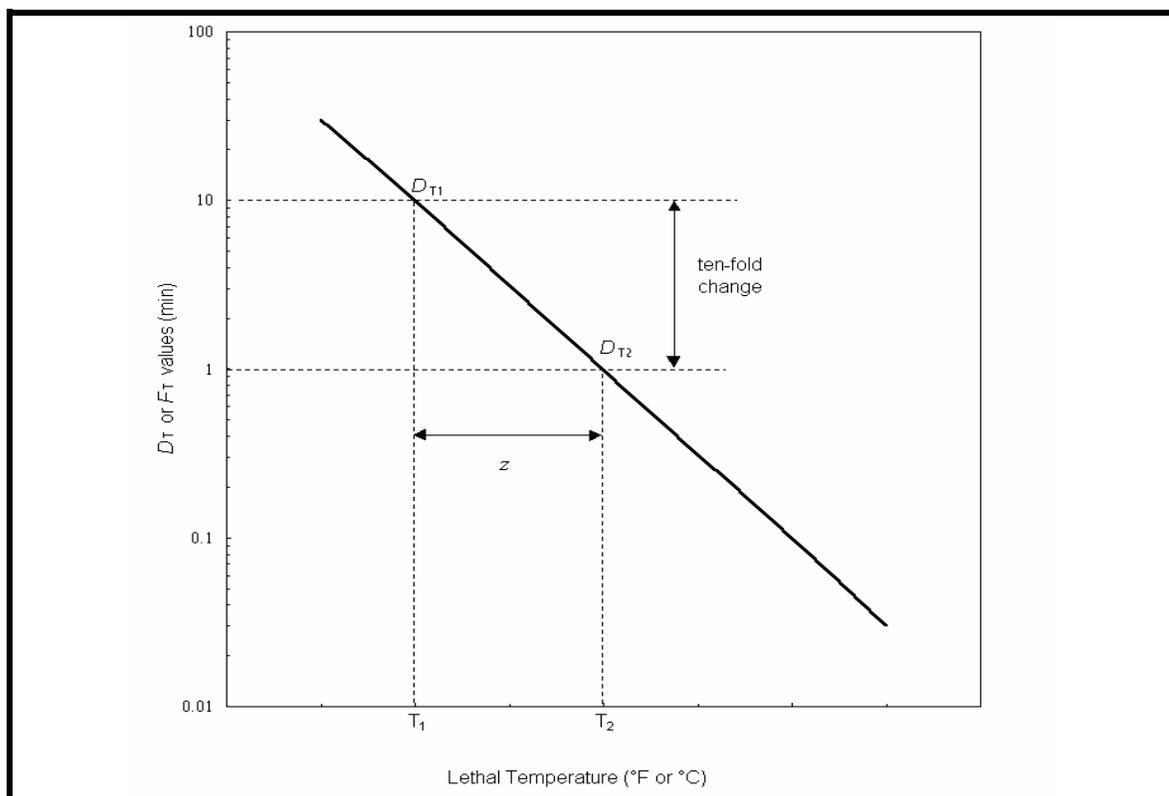


FIGURA 6. Representación esquemática de una curva TDT.

FUENTE: MORALES-BLANCAS y TORRES (2003a).

La Ecuación (2.6) es frecuentemente re-escrita de la siguiente forma (TOLEDO, 1991; FDA/CFSAN, 2000):

$$\log \left[\frac{D_T}{D_{T_{ref}}} \right] = -\frac{(T - T_{ref})}{z} \quad (2.7)$$

Re-ordenando se obtiene (TOLEDO, 1991; RAMASWAMY y SINGH, 1997; MERSON *et al.*, 1978):

$$D_T = D_{T_{ref}} 10^{(T_{ref} - T)/z} \quad (2.8)$$

2.4.3.4 Número de reducciones decimales (S). CAMBIANO y VON DER BECKE (2000), denominan “*efecto esterilizante*” o “*eficiencia de esterilización*” al número de reducciones decimales (S) en el recuento de esporas bacterianas logrados por un proceso de esterilización. 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 tiempo/temperatura aplicada. A mayor temperatura y mayor tiempo de retención, el proceso será más eficiente (TOLEDO, 1991).

El efecto esterilizante es expresado por el número de reducciones decimales (S) logrado mediante el proceso. Por ejemplo, para el caso de un efecto esterilizante o valor letal logarítmico de 9, esto indica que de 10^9 esporas bacterianas que ingresaron al proceso, solamente sobrevivirá 1 (10^0). El efecto esterilizante es independiente del volumen.

La base para la letalidad de un proceso o la destrucción de entidades microbiológicas en un alimento sometido a un tratamiento térmico esta representada por la Ecuación (2.9), como una expresión de un valor esterilizante logrado en un proceso.

$$S = \text{número de reducción decimal} = \frac{N}{N_0} \quad (2.9)$$

donde N_0 es el número inicial de microorganismos, y N el número de microorganismos sobrevivientes. Asimismo, N representa la probabilidad de esporulamiento si el valor es menor a 1, cualquier valor de $N \geq 1$ significa cierto esporulamiento (más del 100%).

En un proceso a temperatura constante, los valores de S y F pueden ser fácilmente convertidos usando la ecuación (2.10) como sigue:

$$S = \frac{F_T}{D_T} \quad (2.10)$$

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 sólo puede ser usada si el valor F es calculado con el mismo valor z de la entidad microbiológica 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. No obstante, un valor de S representa una entidad microbiológica específica y cuando varias entidades deben ser inactivadas, el valor de S debe ser calculado para cada una de estas de un valor de F usando la Ecuación (2.10) (TOLEDO, 1991).

2.4.3.5 Valores de F_0 utilizados en tratamientos de esterilización de conservas de baja acidez. PFLUG (1987a; 1987b; 1987c) indicó que el camino más seguro para el diseño de tratamientos térmicos con propósitos de esterilización es comenzar desde la situación mas adversa y conservadora. Cuando se establece un proceso de calor para alimentos de baja acidez, el fabricante debe siempre tomar en cuenta consideraciones de salud pública (*C. botulinum*) y el esporulamiento por microorganismos mesófilos y termófilos formadores de esporas. En el CUADRO 2, se exponen parámetros de resistencia térmica del *Clostridium botulinum* y *Bacillus stearothermophilus*.

TOWNSEND **et al.** (1938) corrigieron los datos de ESTY y MEYER (1922) con respecto a retrasos ("lags") en las curvas de calentamiento y enfriamiento y obtuvo un $F_{250^\circ\text{F}}$ de 2,45 min y un valor z de 18 °F (realmente 17,6 °F) para esporas de *C. botulinum*. Mas tarde, mediante la aplicación del modelo semilogaritmico sobre los datos de ESTY y MEYER (1922) el valor de $D_{250^\circ\text{F}}$ fue corregido a 0,2 min (PFLUG, 1987b). Estos parámetros corregidos fueron luego usados como base para la selección de programas de procesos térmicos para

la preservación de alimentos enlatados de baja acidez en contra del botulismo (BALL y OLSON, 1957; STUMBO, 1973; PFLUG y ODLAUG, 1978).

CUADRO 2. Parámetros de resistencia térmica para el *Clostridium botulinum* y el *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953.

Microorganismo	pH	D_0 (min)	z (°C)	Referencia
<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953.	7,0	2,0	-	MERCK (2006)
	7,0	2,1	8,5	KOTZEKIDOU (2000)
	-	1,8	18	LETRARI et al. (2006)
	-	1,62	16,2	
	-	1,53	15,3	
	7,0	1,5	-	FDA (2007)
<i>Clostridium botulinum</i>	7,0	0,2	9,8	PFLUG (1987a)

Usualmente los valores de F , son expresadas a una temperatura de referencia (121,1 °C para un proceso de esterilización ó 82,2 °C para un proceso de pasteurización). El valor F y D a 121,1 °C ó 250 °F son denotados como F_0 y D_0 , respectivamente.

Los procedimientos y criterios usados explican el notable registro de seguridad logrado por la industria de alimentos procesados térmicamente. El único caso conocido de subprocesamiento en operaciones comerciales ha resultado del uso de datos impropios, usualmente por personal inexperto sobre la tecnología de esterilización (LUND, 1978).

Cualquier proceso de preservación por calor es una función del número inicial y de la resistencia de la flora contaminante, porque a temperaturas de procesos normales la desaparición de microorganismo no es instantánea, sino logarítmica. PFLUG **et al.** (1990) explican con algún detalle la necesidad de considerar tres tipos de esporulamiento de microorganismos en el diseño de procesos térmicos de conservas de baja acidez. En el CUADRO 3 se señalan algunas probabilidades de preservación y valores de F_0 empíricos obtenidos a lo largo de casi los 100 años de preservación de alimentos enlatados de baja acidez (PFLUG, 1987a).

2.4.4 Letalidad del proceso térmico. El enfoque empírico tradicional, expresado en la definición de los valores F , D y z y los modelos matemáticos relacionados, han sido ampliamente aceptados para describir la velocidad de inactivación térmica de poblaciones microbianas y hacen el cálculo de la equivalencia de procesos térmicos relativamente sencillos. Este enfoque fue desarrollado como una herramienta pragmática y práctica para el usuario comercial e industrial en contraste a las aproximaciones más fundamentales basadas sobre la cinética de reacción química y el modelo de Arrhenius (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003a; 2003b; 2003c). Científicos e ingenieros de alimentos han usado este enfoque empírico para desarrollar efectivos procedimientos gráficos y matemáticos para el cálculo y evaluación de procesos térmicos para alimentos (BALL y OLSON, 1957; BALL, 1923; 1928; 1938; 1943; STUMBO, 1948; 1953; STUMBO **et al.**, 1950; BIGELOW **et al.**, 1920; MERSON **et al.**, 1978).

La **Teoría del Cálculo de los Procesos Térmicos** se desarrolló en base a considerar una suspensión de esporas (N) sometidas a una temperatura constante letal T . Así, la velocidad de destrucción de las esporas de los microorganismos es dada por:

$$-\frac{dN}{dt} = k_T N \quad (2.11)$$

CUADRO 3. Valores empíricos de F_0 para conservas de baja acidez.

Peligro	Probabilidad de esporulamiento	F_0 (minutos)
1. Salud pública (valor práctico)	10^{-9}	3 ^a
2. Preservación (esporulamiento económico)		
a) Esporas mesófilas	10^{-6}	5 – 7 ^b
b) Esporas termófilas		
Almacenadas y distribuidas en áreas a temperatura ambiente (10^{-3})	10^{-3}	5 – 8 ^b
Almacenadas y distribuidas en áreas a altas temperatura (10^{-6})	10^{-6}	15 – 21 ^b

^aBasado en datos de ESTY y MEYER (1922)

^bBasado en experiencia industrial (datos empíricos)

FUENTE: PFLUG **et al.** (1990).

El término k_T es la constante del modelo de muerte térmica de primer orden siguiendo la teoría de la cinética de reacción química. La Ecuación (2.11) es equivalente en términos de logaritmos comunes a:

$$-\frac{d(\log N)}{dt} = \frac{1}{D_T} \quad (2.12)$$

donde:

$$D_T = \frac{2.303}{k_T} \quad (2.13)$$

El coeficiente D_T es una característica del tipo de esporas en el medio bajo consideración y se ha determinado experimentalmente que varía con la temperatura de acuerdo a la *Curva de Sobrevivencia* (FIGURA 5) y expresado matemáticamente mediante la Ecuación (2.8).

Considerando un solo tipo de spora suspendida en un alimento enlatado el cual es calentado y enfriado durante un proceso térmico, la temperatura en un punto dado en el interior del tarro es función del tiempo, $T(t)$. El cambio en la concentración de esporas en aquel punto puede encontrarse sustituyendo la Ec. (2.8) en la Ec. (2.12). Integrando entre los tiempos inicial (t_0) y final (t) donde la concentración de esporas inicial y final en el producto es N_0 y N , respectivamente, tenemos:

$$-\int_{N_0}^N d(\log N) = \frac{1}{D_{T_{ref}}} \int_{t_0}^t \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (2.14)$$

Evaluando el lado izquierdo de la Ec. (2.14) se tiene,

$$F_{T_{ref}}^z = D_{T_{ref}} (\log N_0 - \log N) = \int_{t_0}^t \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (2.15)$$

El lado izquierdo de la ecuación entrega una relación entre F y el cambio de la concentración de esporas. Así, se puede hablar de un valor de " $F_{requerido}$ ":

$$(F_{T_{ref}}^z)_{requerido} = D_{T_{ref}} (\log N_0 - \log N) \quad (2.16)$$

donde N_0 es la concentración inicial de esporas en el alimento, y su valor es establecido experimentalmente, y N es la concentración final segura establecido por la Entidad de Salud Pública o por consideraciones de velocidad de esporulamiento.

El lado derecho de la Ec. (2.15) relaciona el valor F con la historia tiempo-temperatura del proceso, $T(t)$, que las esporas han experimentado entre los tiempos t y t_0 . Así, podemos hablar del valor “**F del proceso**”:

$$(F_{T_{ref}}^z)_{\text{proceso}} = \int_{t_0}^t \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (2.17)$$

El subíndice T_{ref} de F indica que el efecto integrado tiempo-temperatura sobre las esporas es equivalente al tiempo F en minutos a una temperatura letal constante T_{ref} . Las temperaturas de referencia comunes son 250 °F (121 °C) para alimentos no-ácidos, y 212 °F (100 °C) ó 180 °F (82,2 °C) para productos ácidos. El sobreíndice z enfatiza que se considera sólo un tipo de spora y que puede considerarse constante sobre las condiciones normales de procesamiento.

Entonces, la “**LETALIDAD**” de un proceso se define de la siguiente manera:

$$\text{Letalidad} = \frac{(F_{T_{ref}}^z)_{\text{proceso}}}{(F_{T_{ref}}^z)_{\text{requerido}}} \quad (2.18)$$

$$\text{Letalidad} = \frac{1}{(F_{T_{ref}}^z)_{\text{requerido}}} \int_{t_0}^t \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (2.19)$$

El término $(F_{T_{ref}}^z)_{\text{requerido}} 10^{(T_{ref}-T(t))/z}$ es denominado el “**Tiempo de Destrucción Térmica**” (TDT) el cual es el tiempo requerido para destruir todos los microorganismos capaces de esporular el alimento. Así, se tiene:

$$\text{Letalidad} = \int_{t_0}^t \frac{dt}{\text{TDT}} \quad (2.20)$$

La LETALIDAD debe ser al menos la UNIDAD para que la ESTERILIDAD COMERCIAL sea alcanzada.

Por otro lado, diversos profesionales del área, que actúan como Autoridades de Proceso Térmico acreditados, al aplicar el concepto de Letalidad (Ecuación 2.18) incorporan factores de seguridad para el cálculo del valor F_0 como se muestra en el CUADRO 4. Esto con la finalidad de incorporar las posibles desviaciones de proceso, como un retardo en el tiempo de elevación (CUT) programado y una posible oscilación de la temperatura de esterilización durante el proceso, entre otros. Además, en muchos alimentos se observan una flora mixta, en donde existen microorganismos mesófilos que aunque no son patógenos son más termorresistentes que el *C. botulinum*. Por otra parte existen microorganismos del tipo termófilo, que aunque la esterilización no los elimina en su totalidad, si reducen su número y de esta forma ayuda a la estabilidad microbiológica durante el almacenamiento. Esto último es conocido como esporulamiento económico, que pueden generar problemas sépticos afectando la calidad (ACEVEDO, 2008).

CUADRO 4. Valores prácticos de F_0 (min) y Letalidad para alcanzar diferentes grados de esterilidad comercial.

F_0 (min)	S^a	Letalidad ^b	Factor de Seguridad (%)
2,45	12	-	-
3,0	15	1,0	0
4,5	22,5	1,5	50
6,0	30	2,0	100
9,0	45	3,0	200
12,0	60	4,0	300

^a Calculado con $D_0 = 0,2$ min para el *C. botulinum* (PFLUG, 1987a)

^b Calculado con $(F_0)_{requerido} = 3,0$ min *C. botulinum* (PFLUG, 1987a).

2.4.5. Curvas tiempo-temperatura durante el tratamiento térmico en autoclave. Es importante definir la intensidad de calentamiento a que pueden someterse los alimentos en conserva. Para tal efecto, la base del cálculo y evaluación de los tratamientos térmicos consiste en conocer la velocidad de penetración de calor en el punto de calentamiento más tardío, junto con los parámetros de termorresistencia de los microorganismos patógenos, y la naturaleza química y física del alimento (HERSOM y HULLAND, 1995).

En la FIGURA 7, se muestra una curva típica de esterilización de un producto, indicando las diferentes etapas de proceso que la caracterizan. La primera etapa del proceso denominada **CUT** (*Come-up time*) ó tiempo de elevación de la temperatura, es el tiempo que transcurre desde que entra el vapor (t_0) al autoclave ya cerrado hasta alcanzar la temperatura de trabajo o temperatura de esterilización (t_{cut}). La segunda etapa, denominada **tiempo de esterilización** o también conocida en literatura como **tiempo del operador**, es el tiempo en el cual el producto o en este caso la conserva se encuentra sometida a la temperatura de esterilización, que va desde t_{cut} (tiempo inicial del operador), hasta t_g (tiempo final del operador). La tercera etapa conocida como **tiempo de enfriamiento**, es el tiempo que demora el producto en bajar su temperatura desde la temperatura de esterilización (t_g), hasta 35 - 40 °C aproximadamente, que es el tiempo final del proceso (t_f).

Uno de los principales problemas en la elaboración de productos en bolsas flexibles -mediante la utilización de autoclaves que usan mezcla de vapor y aire como medio calefactor- es la sobre-presión necesaria para mantener la integridad del envase. Esta sobre-presión contrarresta la presión de vapor del interior del envase cuando el producto alcanza una temperatura superior a los 100 °C. ACEVEDO (2008), señala que en la Pesquera San José, planta ubicada en Coronel, la sobrepresión aplicada sobre los envases flexibles esterilizables a 116 °C (temperatura de retorta) utilizando un autoclave del tipo Lagarde, es de 0,450 bar.

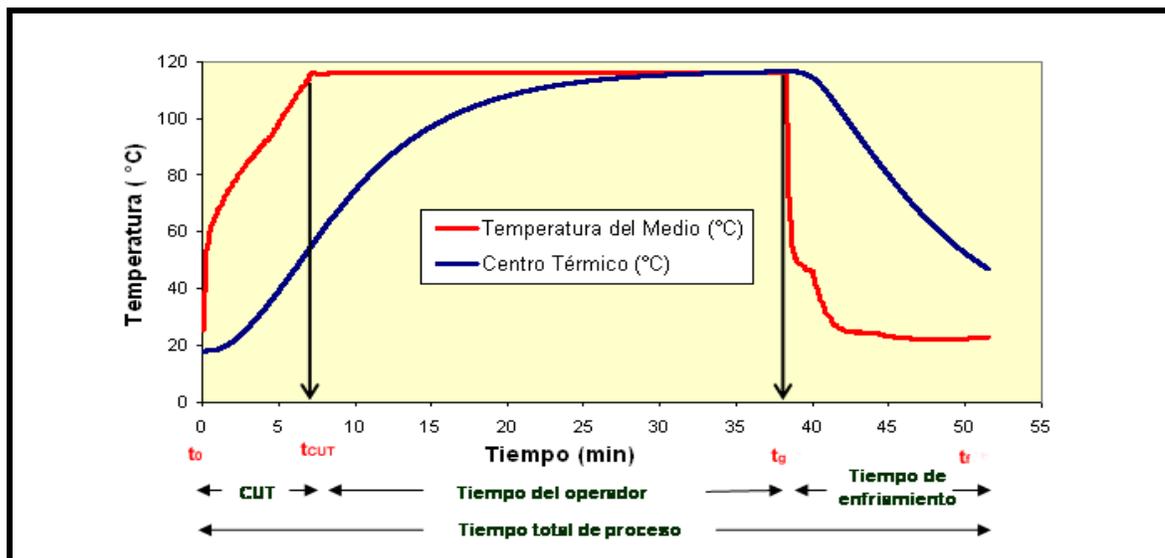


FIGURA 7. Curva típica de esterilización

FUENTE: PEREZ (2007).

En la FIGURA 8 se muestran las gráficas del programa de operación típica del autoclave Lagarde⁴ donde se exponen la temperatura y la presión aplicadas en función del tiempo. Como se puede observar, la diferencia de ambas gráficas recae principalmente en que el tiempo de proceso a aplicar varía dependiendo del tipo de alimento que se desea procesar (filete o cono), porque si se trata de la sobrepresión en sí, esta es aplicada de la misma forma en filetes y conos de jurel, es decir, para ambos casos la sobre-presión es aplicada durante las mismas etapas.

En los últimos años la ingeniería de procesos en alimentos se ha instruido bien en el uso de métodos numéricos y los principios teóricos de la transferencia de calor, de tal forma que se han desarrollado modelos capaces de simular el proceso de transferencia de calor en alimentos por conducción (SIMPSON *et al.*, 2004; 2007).

⁴ <http://www.lagarde-autoclaves.com>

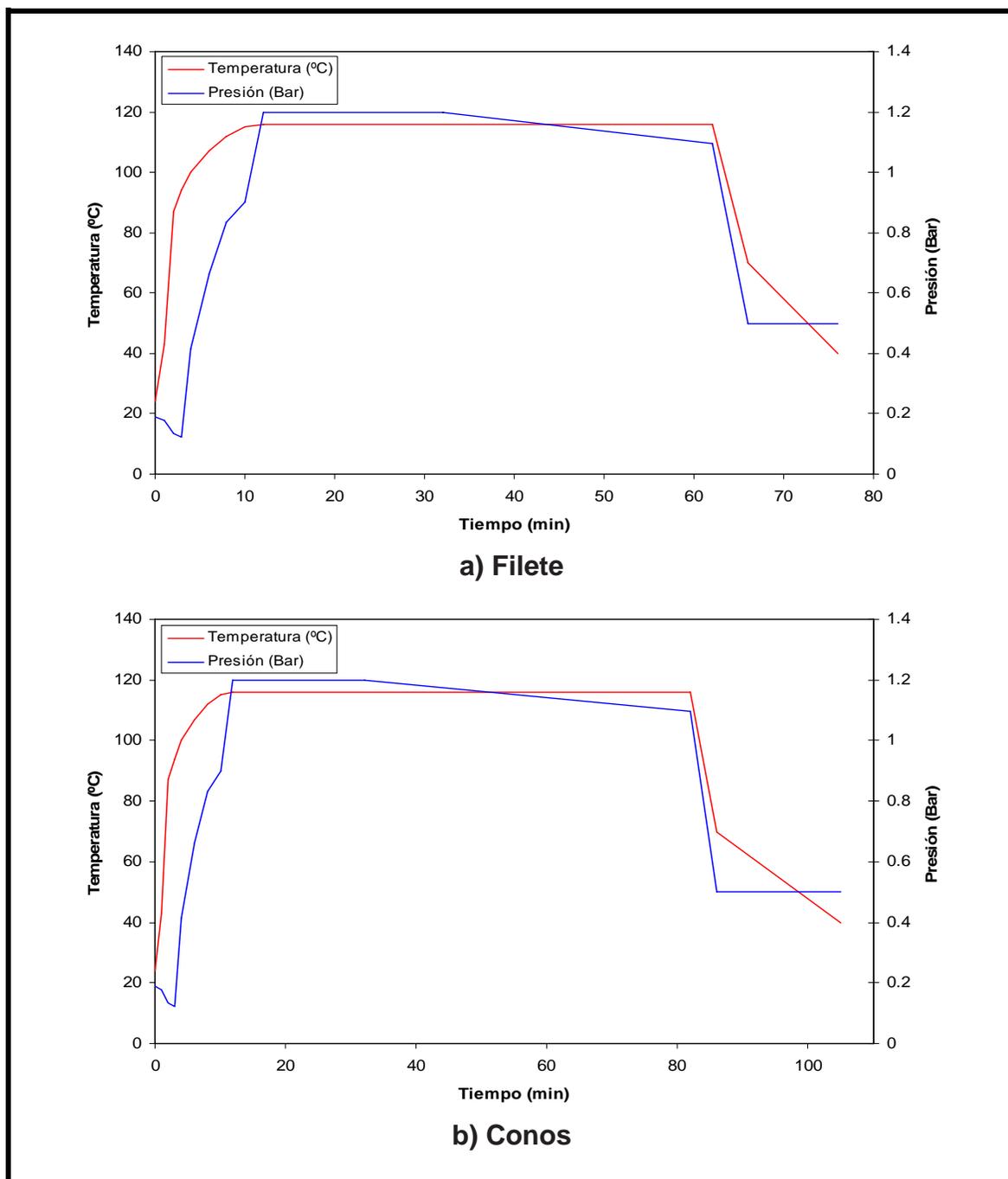


FIGURA 8. Programa operacional del autoclave Lagarde.

FUENTE: ACEVEDO (2008).

2.5 Simulación de tratamientos térmicos en alimentos en bolsas esterilizables

2.5.1 Análisis en alimentos irregulares simples. CRISTIANINI y RODRIGUES (2002), compararon tres modelos matemáticos para predecir el perfil de temperatura en la conducción de calor en filetes de atún envasados en bolsas esterilizables de tamaño institucional durante el proceso de esterilización en un autoclave acondicionado para el tratamiento mediante la recirculación de agua caliente (121 °C, 20 psi aire superior). Dos modelos (2D y 3D) fueron construidos mediante el método de elementos finitos usando el software ANSYS5.2 (Swanson Analysis Systems, Inc.) (FIGURA 9). El tercer modelo utilizó una solución analítica para una solución, mediante ecuaciones de conducción de calor para una plancha finita (paralelepípedo) escrito en un programa en lenguaje Pascal. Los resultados de perfiles de temperatura mostraron que la utilización de métodos numéricos, en este caso elementos finitos, entrega soluciones más aproximadas a los resultados experimentales.

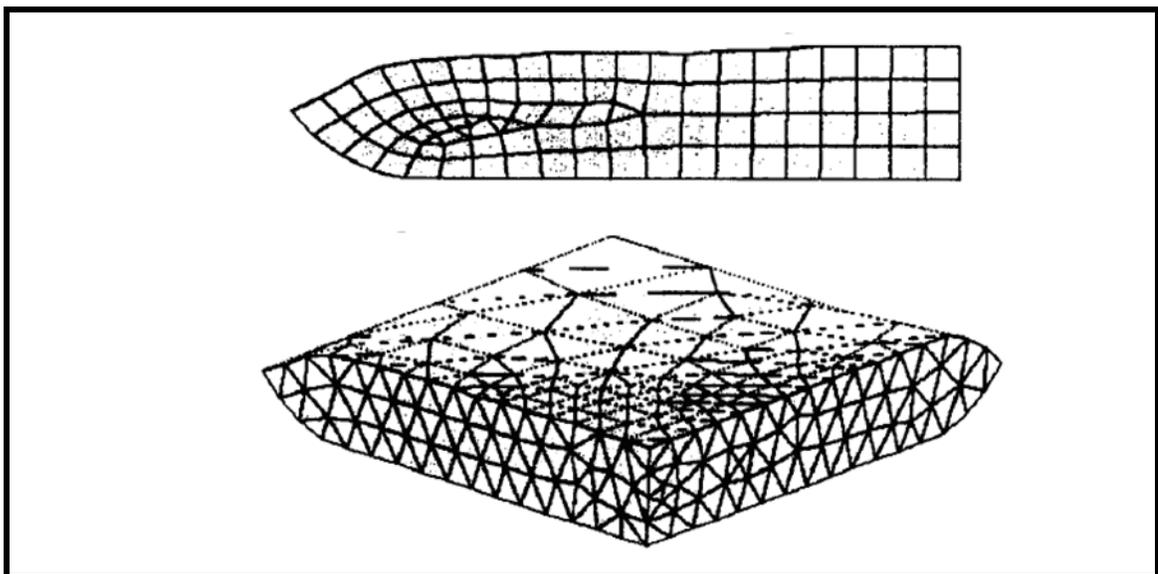


FIGURA 9. Modelo Geométrico 2D y 3D usado en el análisis de transferencia de calor en bolsas esterilizables.

FUENTE: CRISTIANINI Y RODRIGUES (2002).

SIMPSON *et al.* (2004), estudiaron la penetración de calor en conos de jurel envasado al vacío en bolsas esterilizables durante el proceso de esterilización utilizando el método de diferencias finitas, para solucionar el problema matemático involucrado. Para facilitar la resolución del problema se cambió la forma cónica a otro que tenga un grado de semejanza con la geometría del sólido a modelar, como se puede apreciar en la FIGURA 10.

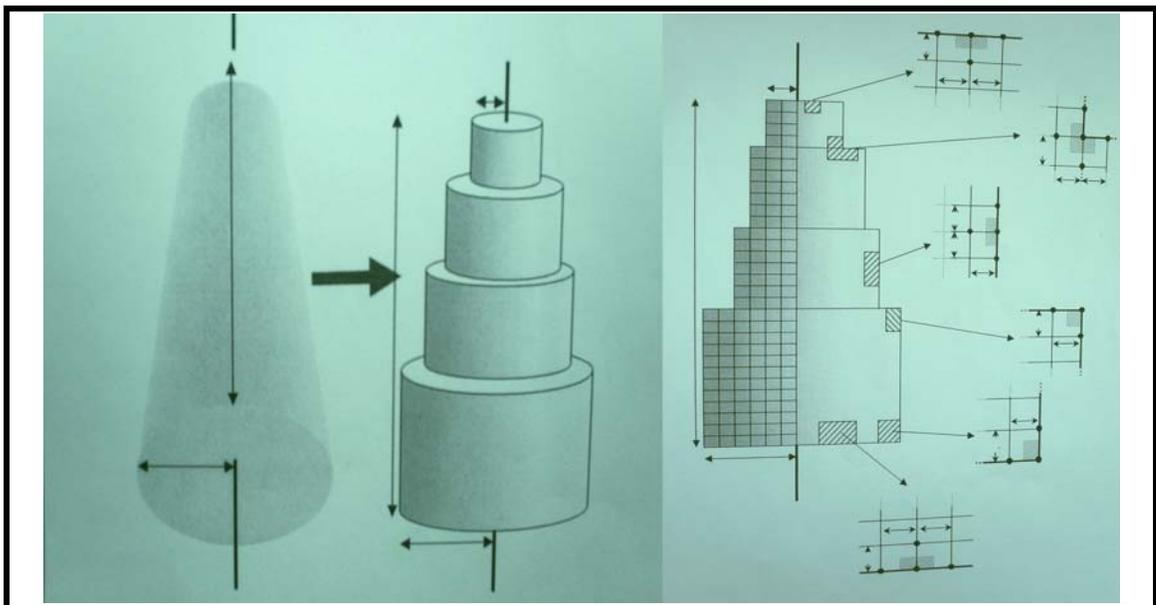


FIGURA 10. Esquema que muestra la forma del alimento original y aproximado, y la ubicación de los elementos de control.

FUENTE: SIMPSON *et al.* (2004).

ABDUL GHANI y FARID (2005), analizaron el proceso de esterilización térmica en líquidos alimenticios (sopa zanahoria-naranja) envasados en bolsas esterilizables en tres dimensiones, para predecir la temperatura transiente, la concentración de bacterias y vitaminas en los perfiles según progresaba el calentamiento. Se simuló la migración de la zona de más lento calentamiento debido a la convección natural en la bolsa esterilizable calentada en todas sus caras. Las ecuaciones matemáticas Las ecuaciones de gobierno; continuidad, impulso y ecuaciones de energía fueron resueltas numéricamente mediante el

código computacional PHOENICS de dinámica de fluidos. Este software utiliza el método numérico de volúmenes finitos para la simulación (FIGURA 11).

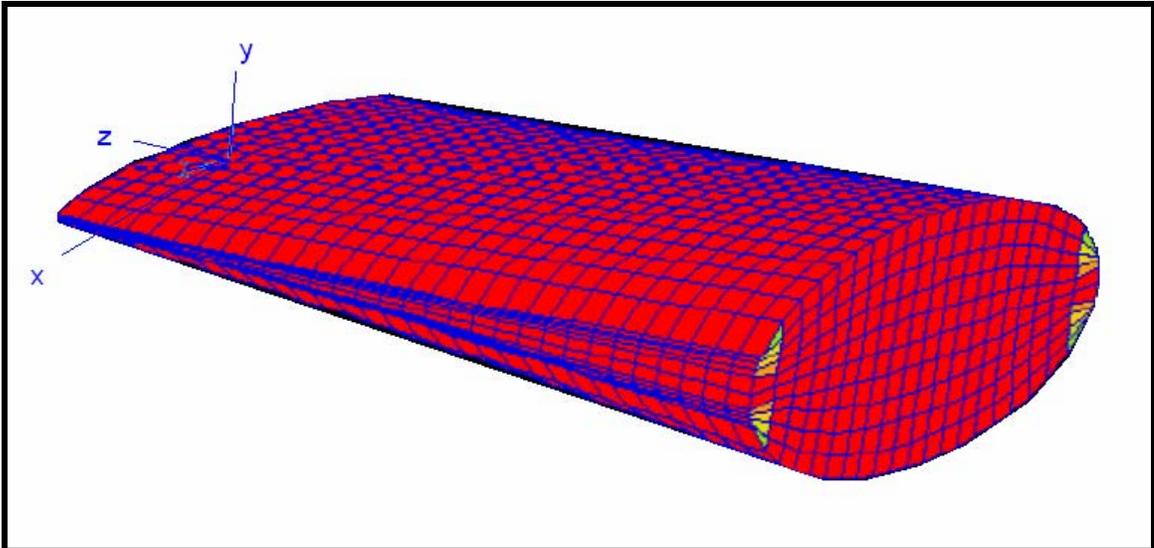


FIGURA 11. Dominio mallado de la bolsa esterilizable utilizada en la simulación de esterilización térmica de líquidos alimentarios.

FUENTE: ABDUL GHANI y FARID (2005).

2.5.2 Análisis en productos de formas irregulares complejas. Hoy en día en las plantas conserveras, la evaluación de los tratamientos térmicos aplicados se realiza en forma netamente empírica, mediante el monitoreo de la cinética de penetración de calor en los productos. No obstante, al trabajar con alimentos de formas irregulares complejas y bajo condiciones de proceso variables con el tiempo es prácticamente imposible conocer a priori con exactitud el punto de más lento calentamiento/enfriamiento, lo que hace improbable localizar la termocupla en éste punto. Esto conllevaría a sobrecalcular la letalidad del proceso térmico si no se cuenta con el perfil de temperatura del punto de mas lento calentamiento/enfriamiento (ACEVEDO, 2008).

Las condiciones complejas de geometría y de retorta que pueden ser encontradas durante la esterilización de formas irregulares en bolsas esterilizables significan que las soluciones matemáticas no son posibles sin la

elaboración de suposiciones gruesas. Esto último haría los resultados obtenidos imprecisos y de limitada aplicabilidad. Últimamente, en el campo de Ingenieros de procesos de alimentos MORALES-BLANCAS **et al.** (2004; 2005; 2006) han desarrollado un método basado en los principios de ingeniería reversa y la tecnología de Ingeniería de Diseño asistida por Computador (CAD/CAE) para predecir la distribución de temperaturas durante el proceso térmico de formas irregulares en alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables.

PEREZ (2007), NAVARRO (2007), ALARCÓN (2008) y ACEVEDO (2008), utilizando la metodología implementada por MORALES-BLANCAS **et al.** (2004; 2005; 2006), realizaron diversos trabajos relacionados con la evaluación de tratamientos térmicos de productos de origen marino envasados al vacío en bolsas esterilizables de tamaño individual y/o institucional (CUADRO 5). Los autores citados validaron la universalidad de la metodología de simulación de los procesos térmicos de alimentos de formas complejas. El modelo matemático abordado considera el 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. Entre las ventajas de la simulación están la localización del punto de más lento calentamiento/enfriamiento en los dominios complejos, la predicción de historia tiempo-temperatura en dicho punto lo que permite la evaluación apropiada del valor esterilizante de los tratamientos térmicos para diversas condiciones operacionales. Seguidamente se presenta un resumen de la metodología implementada por MORALES-BLANCAS **et al.** (2004; 2005; 2006).

2.5.2.1 Ingeniería de reversa mediante digitalización 3D. La ingeniería reversa es un proceso para generar un modelo a partir de sus propiedades, es decir se produce una copia íntegra o solo una parte del objeto, cuando no hay disponible modelos o documentación que se ajusten de manera exacta los requerimientos que se necesiten. MOLERO (2001) señala que generalmente

estos modelos necesitan ser retocados. El retoque y la manipulación del modelo con teclado y ratón que se realiza a través de los puntos de control de las superficies es lo que se denomina modelado geométrico.

CUADRO 5. Trabajos recientes relacionados con la evaluación de tratamientos térmicos en bolsas esterilizables.

Bolsa Esterilizable	Productos	Formato Unidades/bolsa	Escala	Referencia
Institucional	Filete entero	02 unidades	Planta piloto	NAVARRO (2007)
Individual	Cono jurel	01 unidad		PÉREZ (2007)
	Filete jurel	01 unidad		
	Medallones jurel	03 unidad	ALARCÓN (2008)	
	Conos jurel	02 unidades	Industrial	ACEVEDO (2008)
	Filete jurel	01 unidad		
	Conos jurel	03 unidades		

NURBS (Non-Uniform Rational B-Splines) son representaciones matemáticas de geometría en 3D capaces de describir cualquier forma con precisión, desde simples líneas en 2D, círculos, arcos o curvas, hasta los más complejos sólidos o superficies orgánicas de formas libres en 3D. Las NURBS como tal se utilizan ampliamente en la industria del CAD y mas en computación para la generación de elementos 3D (RHINOCEROS, 2001).

La reconstrucción de la superficie y forma compleja del conjunto alimento-bolsa esterilizable fue realizado mediante un sistema de digitalización 3D conformado por un brazo mecánico de precisión (Microscribe G2L, Immersion Co., San José, CA), un software modelador de superficies NURBS (Rhinceros 3.0 SR3, Robert McNeel & Associates, Seattle, WA) y un PC/PIV. El método consistió

primeramente en trazar una malla sobre la superficie del modelo físico, luego capturar digitalmente en coordenadas cartesianas (x,y,z) los puntos de las intersecciones de la malla, y finalmente generar el modelo digital 3D. PÉREZ (2007) señala que la posición del modelo físico sobre el soporte es muy importante para que éste sea completamente accesible para la punta del brazo digitalizador.

En la FIGURA 12 se muestran distintos modelos digitalizados en 3D disponibles en la literatura especializada, a partir de diferentes tipos de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables. Se puede observar que la forma y el tamaño son inseparables en un objeto físico, y ambos son necesarios si se desea describirlo satisfactoriamente. Adicionalmente, para la definición de la forma se deben medir algunos parámetros dimensionales (LAN y FANG, 2003).

El crear prototipos computacionales (modelos digitales) es una alternativa emergente a los prototipos físicos. En los prototipos computacionales, se construye un modelo digital que es cercano al modelo físico donde la forma, el tamaño y otros parámetros son exactos. Se ha demostrado que un modelo digital preciso puede trabajar de modo similar a un prototipo físico y puede ser utilizado por las tecnologías CAD y CAE (RODRIGUEZ, 2005).

2.5.2.2 Simulación del proceso de conducción de calor: Análisis de Elementos Finitos. El concepto fundamental del Método de Elementos Finitos (FEM, *Finite Element Method*) es que cualquier variable *continua*, como temperatura, presión, o desplazamientos, puede ser aproximada por un modelo *discreto* compuesto por un juego de funciones continuas por trozos, definidas sobre un número finito de subdominios según SEGERLIND (1976).

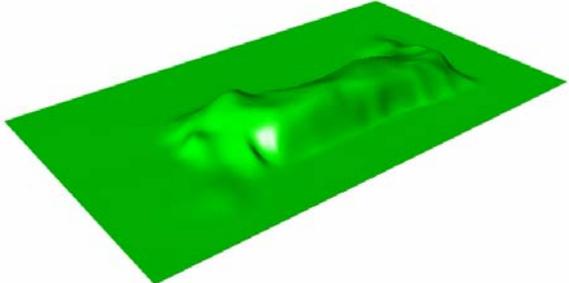
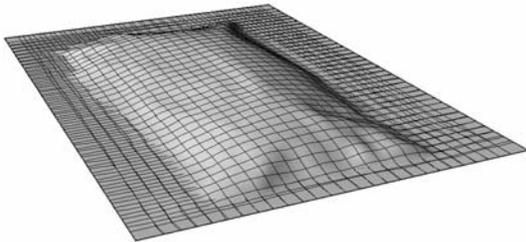
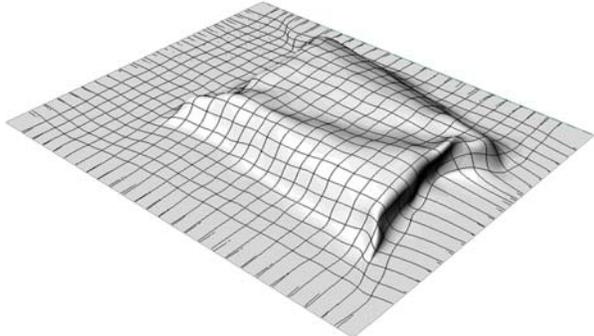
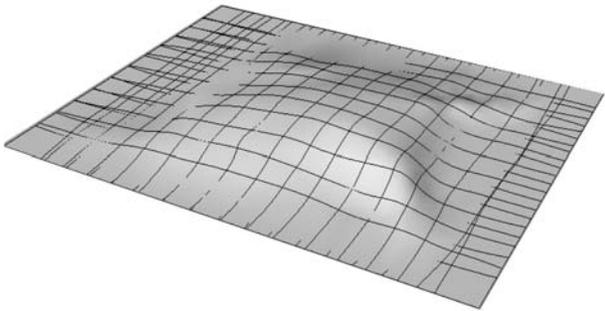
Tipo de alimento	Modelo digitalizado	Referencia
Medallón de jurel		PÉREZ (2007)
Filete de Salmón		NAVARRO (2008)
Conos de jurel		ALARCON (2008)
Filete de jurel		ACEVEDO (2008)

FIGURA 12. Modelo digital 3D de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en Rhinoceros®.

El Método de Elementos Finitos de forma simple consiste en convertir el sólido en un número finito de partes llamadas **elementos** cuyo comportamiento se especifica con un número finito de parámetros. Dichos elementos contienen una serie de puntos interconectados entre sí llamados **nodos** y el conjunto se conoce como **mall**a (ALDAYA, 1998) (FIGURA 13). Las propiedades y las ecuaciones de gobierno son asumidas sobre estos elementos y expresadas matemáticamente en términos de valores desconocidos en puntos específicos, llamados *nodos*.

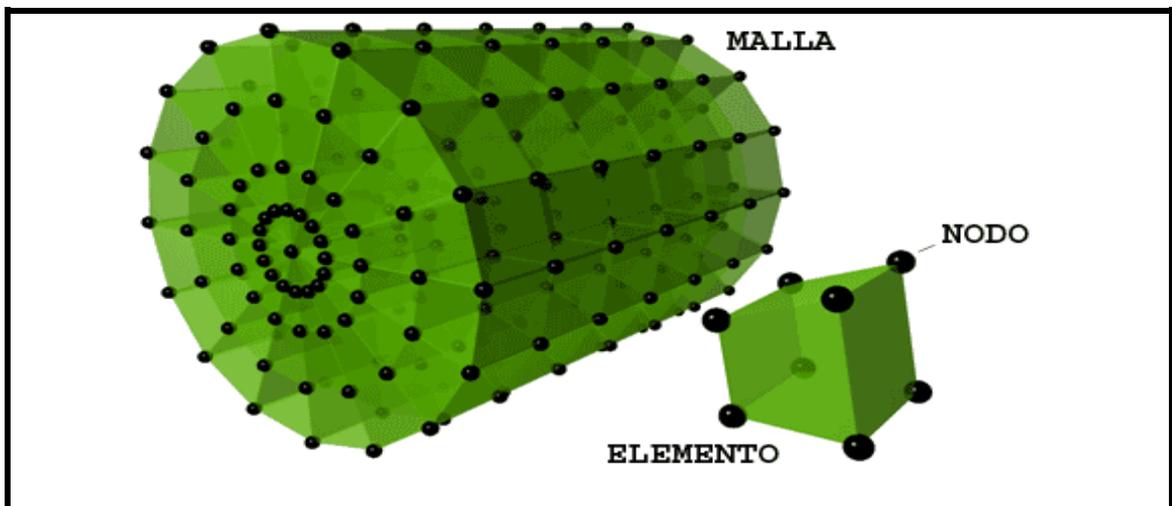


FIGURA 13. Nodos y elementos en un modelo cilíndrico.

FUENTE: RODRIGUEZ (2005).

La discretización espacial, es decir, la generación de la malla es un paso fundamental para la resolución de problemas reales de ingeniería mediante el método de elementos finitos. En este paso de pre-procesamiento, la geometría ya definida necesita ser dividida en piezas más pequeñas, los elementos, para una solución numérica. Así, este paso es un balance cuidadoso entre proveer suficientes elementos (o nodos) tal que todas las formas físicas esenciales sean capturadas, pero no demasiadas según MOLERO (2001).

Existen diversos tipos de elementos que constituyen una malla, caracterizados por su forma y el número de nodos, y el tipo a usar dependerá de la geometría del modelo y del tipo de análisis a efectuar. Son elementos 3D los formulados de 4 (tetrahedros), 5 (pirámides), 6 (cuñas) y 8 (ladrillo hexahedro) nodos en el espacio tridimensional (RODRIGUEZ, 2005) (FIGURA 14).

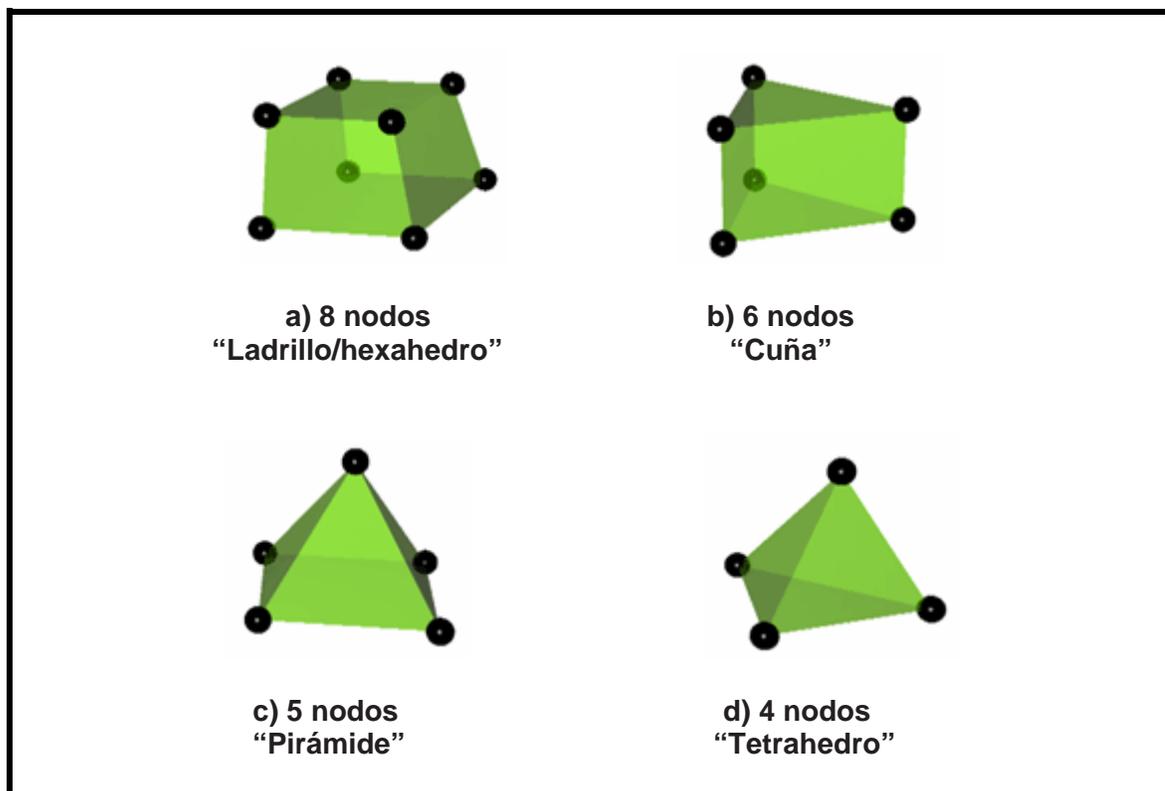


FIGURA 14. Tipos de elementos en el análisis térmico.

FUENTE: <http://www.fooddigicaelab.uach.cl/fcl.htm>

El modelo matemático que representa el problema de conducción de calor sobre el dominio digital del conjunto alimento-bolsa esterilizable sujeto a condiciones de borde convectivas con asimetría geométrica y térmica fueron solucionadas utilizando un software de Análisis de Elementos Finitos (ALGOR®, ALGOR Inc., Pittsburg, PA).

Para el caso de alimentos de formas complejas envasados al vacío en bolsas esterilizables se han realizado pruebas de convergencia numérica considerando diferentes tamaños de malla y paso de tiempo de acuerdo a la dimensión y complejidad del modelo en estudio así como exactitud práctica requerida (CUADRO 6). Conseguir una malla de alta calidad puede ser la parte de mayor consumo de tiempo en un análisis de elementos finitos, pero los resultados hacen que bien valga la pena. Una buena malla es el balance de precisión y tiempo computacional; las mallas de calidad convergen rápidamente, producen resultados precisos y no producen errores (ALGOR, 2008).

Los modelos FEA fueron obtenidos mediante mallas sólidas de modelos geométricos de formas irregulares complejas digitalizadas en 3D (FIGURA 15). El método de mallado seleccionado para todos los casos fue aquel que consiste en la combinación del uso de elementos hexaédricos (“ladrillos”) en conjunto con tetraédricos, conocido también como método mixto “**ladrillos/tetraedros**”. Este método genera una malla de la más alta calidad y con el menor número de elementos (CAESOFT, 2006).

CUADRO 6. Estudios de convergencia numérica realizados en productos envasados en bolsas esterilizables.

Bolsa esterilizable	Tamaño de malla (mm)	Intervalo de tiempo (s)	Referencia
Individual	3	1	PÉREZ (2007)
	3	4	ALARCON (2008)
	3	2	ACEVEDO (2008)
Institucional	4	4	NAVARRO (2007)

2.5.3 Revisión de resultados. Una vez finalizada la simulación es importante la visualización de los resultados y hacer cálculos posteriores a partir de los datos en bruto generados por la solución. La mayoría de los *softwares* FEA comerciales pueden mostrar contornos, historia, vectores y otros esquemas. En la FIGURA 16 se muestran cortes longitudinales del diagrama de contorno obtenido por ALGOR®. Estos perfiles espaciales o temporales en la completa región 3D pueden proporcionar un discernimiento y entendimiento del proceso que no es posible usando la experimentación. Tal visualización es una de las más grandes ventajas de la Ingeniería Asistida por Computador, CAE (DATTA, 1998).

2.5.4 Validación experimental. Los estudios de validación experimental mostraron buen ajuste entre los perfiles de temperaturas predecidos y experimentales para la ubicación del extremo sensor de la termocupla de cada producto. (FIGURA 17). Los valores obtenidos en porcentajes de la Raíz Cuadrada del Error Cuadrático Medio (%RMSE) son mostrados en el CUADRO 7. En general los valores de %RMSE calculados son menores al 8%.

Los resultados han demostrado que la metodología propuesta puede ser usada como una herramienta de apoyo durante el diseño y optimización de procesos térmicos de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables de tamaño individual y/o institucional.

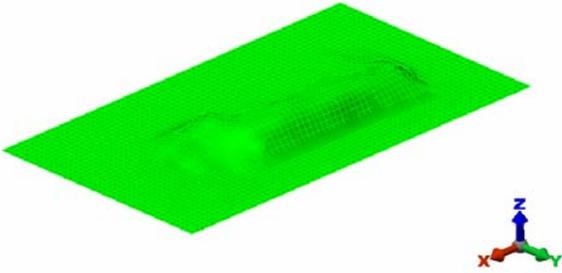
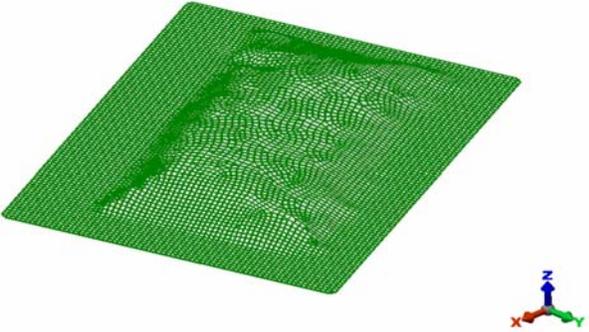
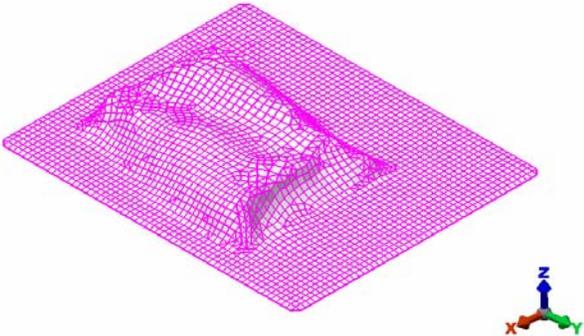
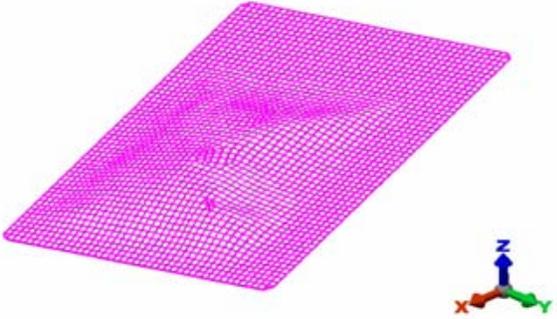
Tipo de alimento	Modelo Mallado	Referencia
Medallón de jurel		PÉREZ (2007)
Filete de Salmón		NAVARRO (2008)
Conos de jurel		ALARCON (2008)
Filete de jurel		ACEVEDO (2008)

FIGURA 15. Modelos mallados (FEA) de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en ALGOR®.

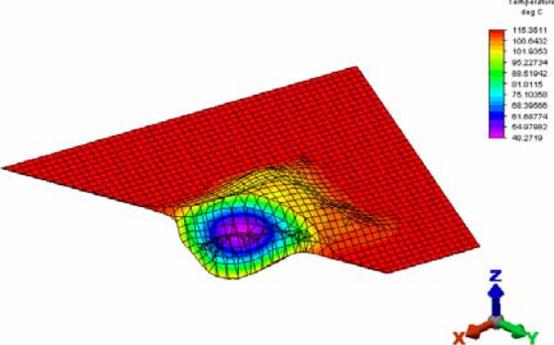
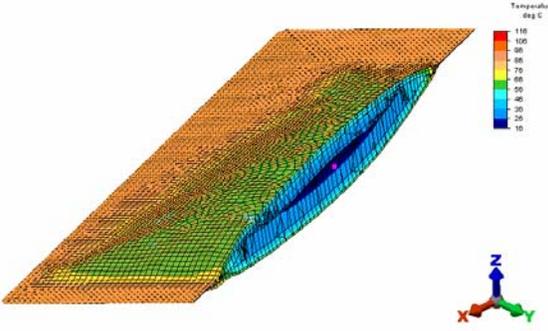
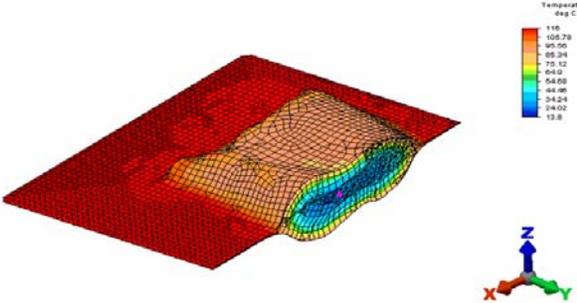
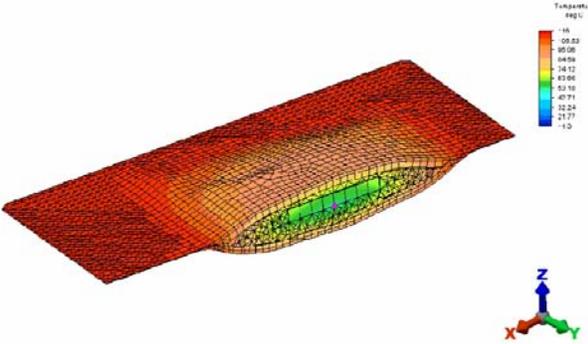
Tipo de alimento	Modelo Mallado	Referencia
Medallón de jurel		PÉREZ (2007)
Filete de Salmón		NAVARRO (2008)
Conos de jurel		ALARCON (2008)
Filete de jurel		ACEVEDO (2008)

FIGURA 16. Corte longitudinal del diagrama de contorno de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables en ALGOR®

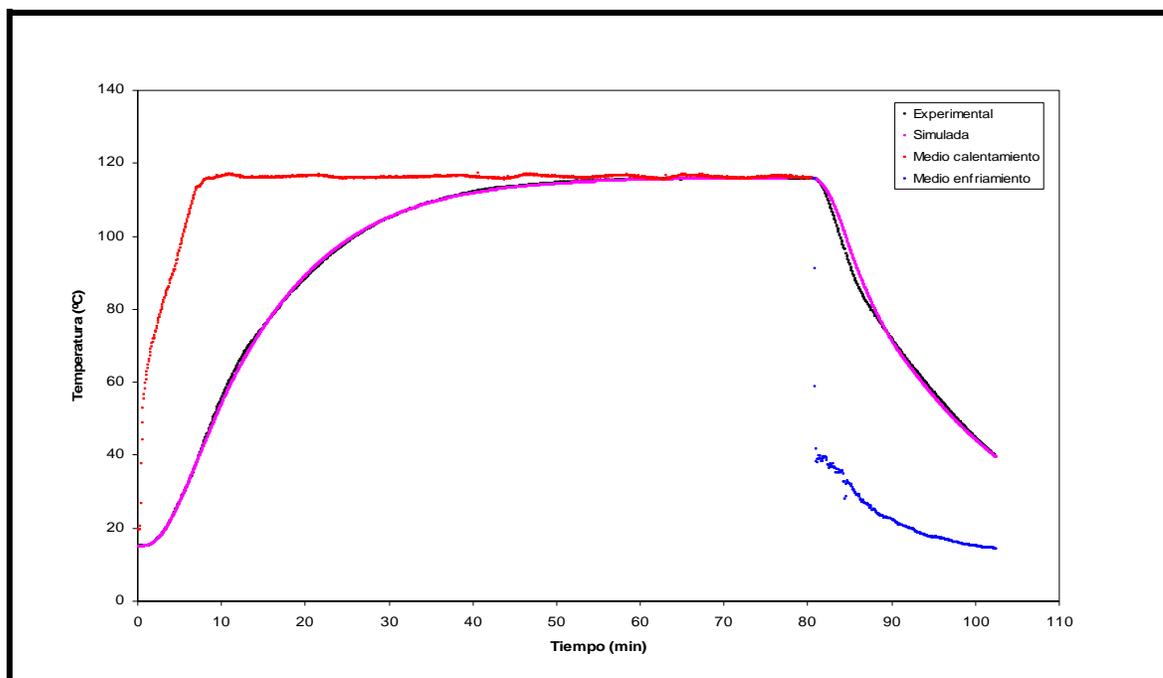


FIGURA 17. Ejemplo de Validación experimental de filetes de jurel en bolsas esterilizables.

FUENTE: ALARCON (2008).

CUADRO 7. Resumen valores de RMSE (%) para diferentes productos en bolsas esterilizables.

Producto	Etap calentamiento	Etap enfriamiento	Proceso completo	Referencia
Filete jurel	1,31 – 6,18	3,19 – 5,38	1,97 – 5,74	PEREZ (2007)
Cono jurel	1,06 – 3,14	4,45 – 7,84	3,70 – 5,25	
Medallón jurel	1,88 – 3,25	0,90 – 5,02	2,16 – 3,58	
Filete entero salmón	1,54 – 2,72	0,51 – 4,12	1,53 – 2,65	NAVARRO (2007)
Cono jurel	0,45 – 2,08	2,10 – 3,86	1,33 – 2,17	ALARCON (2008)
Filete jurel	1,02 – 3,17	1,15 – 2,12	1,22 – 2,90	ACEVEDO (2008)
Cono Jurel	1,08 – 1,60	1,00 – 1,02	1,07 – 1,48	

3. MATERIAL Y MÉTODO

Los tratamientos térmicos de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables se llevaron a cabo en la Planta Piloto de Procesamiento de Alimentos. Las simulaciones de los procesos térmicos se realizaron en el Laboratorio de Digitalización 3D e Ingeniería Asistida por Computador para el Procesamiento y Preservación de Alimentos (**FoodDigiCAELab**, <http://www.fooddigicaelab.uach.cl>). La Planta Piloto y FoodDigiCAELab pertenecen al Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) de la Universidad Austral de Chile. La parte microbiológica experimental, incluida la confección de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU), fue realizada en el Laboratorio del Ambiente de la Secretaría Regional Ministerial de Salud, Región de Los Ríos.

Debido al carácter multidisciplinario de la presente investigación, ésta se desarrollo en etapas que se esquematizan en la FIGURA 18.

3.1 Desarrollo experimental en laboratorio

En la actualidad no se disponen comercialmente Unidades Indicadoras Biológicas del tipo capilar que puedan ser utilizadas en la parte experimental de la presente investigación. Debido a lo anterior fue necesario fabricar capilares a partir del bioindicador **Sterikon® plus**, que contiene esporas de *Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953) (MERCK, Chile) como organismo de ensayo no patógeno, disponible comercialmente para el control y verificación de la eficiencia de esterilización en autoclaves. El bioindicador **Sterikon® plus** fue proporcionado por el Laboratorio del Ambiente de la SEREMI de Salud Región de Los Ríos.

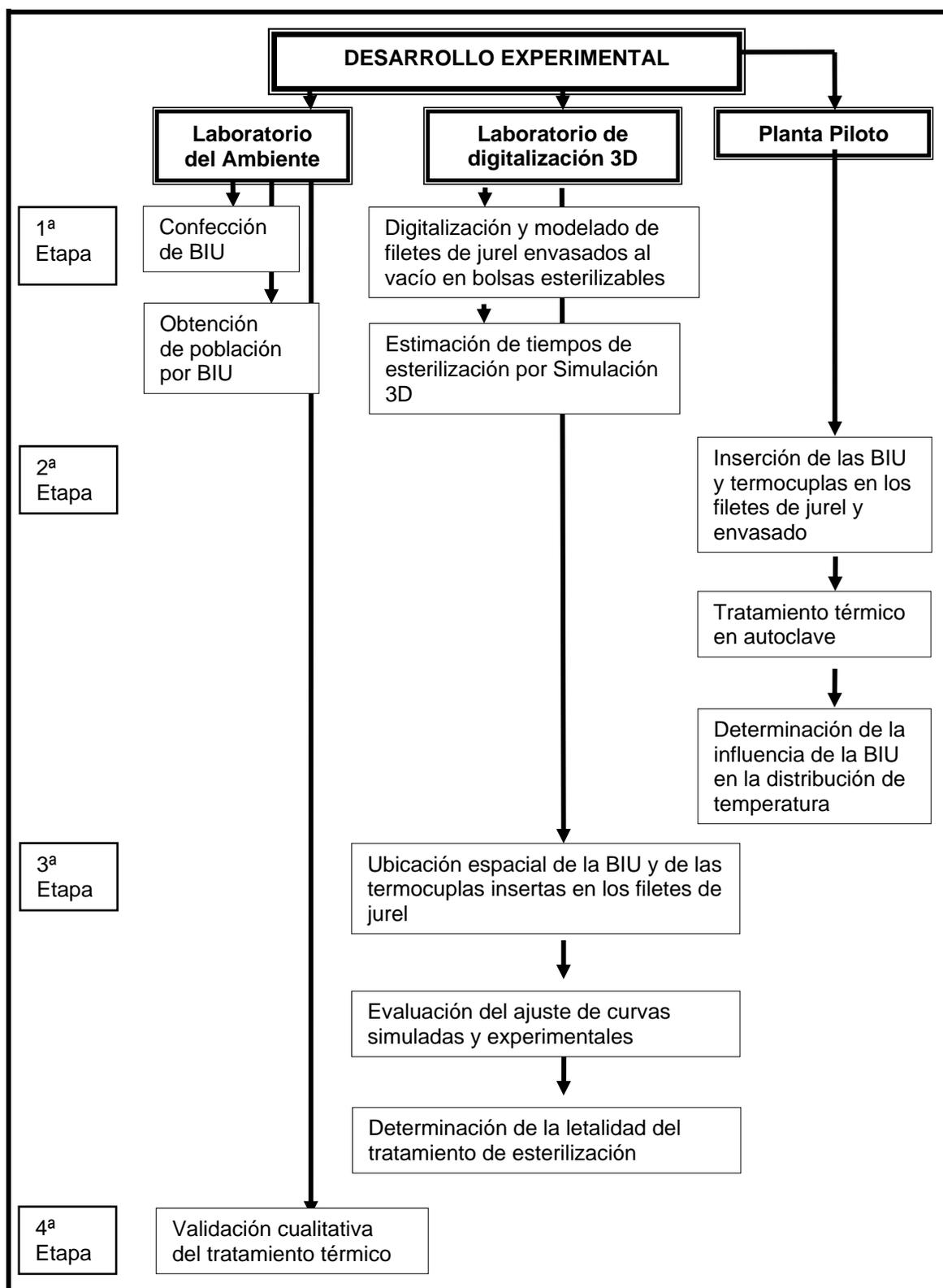


FIGURA 18. Etapas del desarrollo experimental de la investigación.

3.1.1 Obtención de la solución madre. Para la obtención de la solución madre bioindicadora se utilizaron tres ampollas del bioindicador **Sterikon® plus**, y se trasvasijaron a un matraz Erlenmeyer en condiciones asépticas de manera de obtener una solución de 6 ml aproximadamente. El bioindicador contiene una suspensión de esporas de *G. stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953), además de caldo nutritivo, azúcares, y un indicador de pH (púrpura de bromocresol) (FIGURA 19). La Ficha Técnica del bioindicador indica una concentración en el rango de 5×10^5 hasta 1×10^7 esporas/ampolla.



FIGURA 19. Bioindicador Sterikon® plus marca MERCK.

3.1.1.1 Verificación de la concentración de la solución madre bioindicadora. Para verificar la concentración de esporas de *G. stearothermophilus* de la solución bioindicadora se utilizó el medio agar dextrosa caseína peptona. Este medio recomendado por MERCK (2006), para la identificación y la numeración de especies de *Bacillus*, especialmente de bacterias productoras del “flat-sour” (agriado sin producción de gas o descomposición ácida) en alimentos comestibles. MERCK (2006), señala que este medio cumple con las recomendaciones del NCA (National Canners Association) y el APHA (American Public Health Association) para la examinación de alimentos.

Para la determinación de la concentración de esporas de *G. stearothermophilus* de la solución madre primeramente se realizaron diluciones en buffer fosfato de hasta 10^{-3} . Se tomaron $10\ \mu\text{L}$ de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} y se sembraron por el método de inoculación en placa en triplicado sobre agar dextrosa peptona (MERCK, 2006) (FIGURA 20).

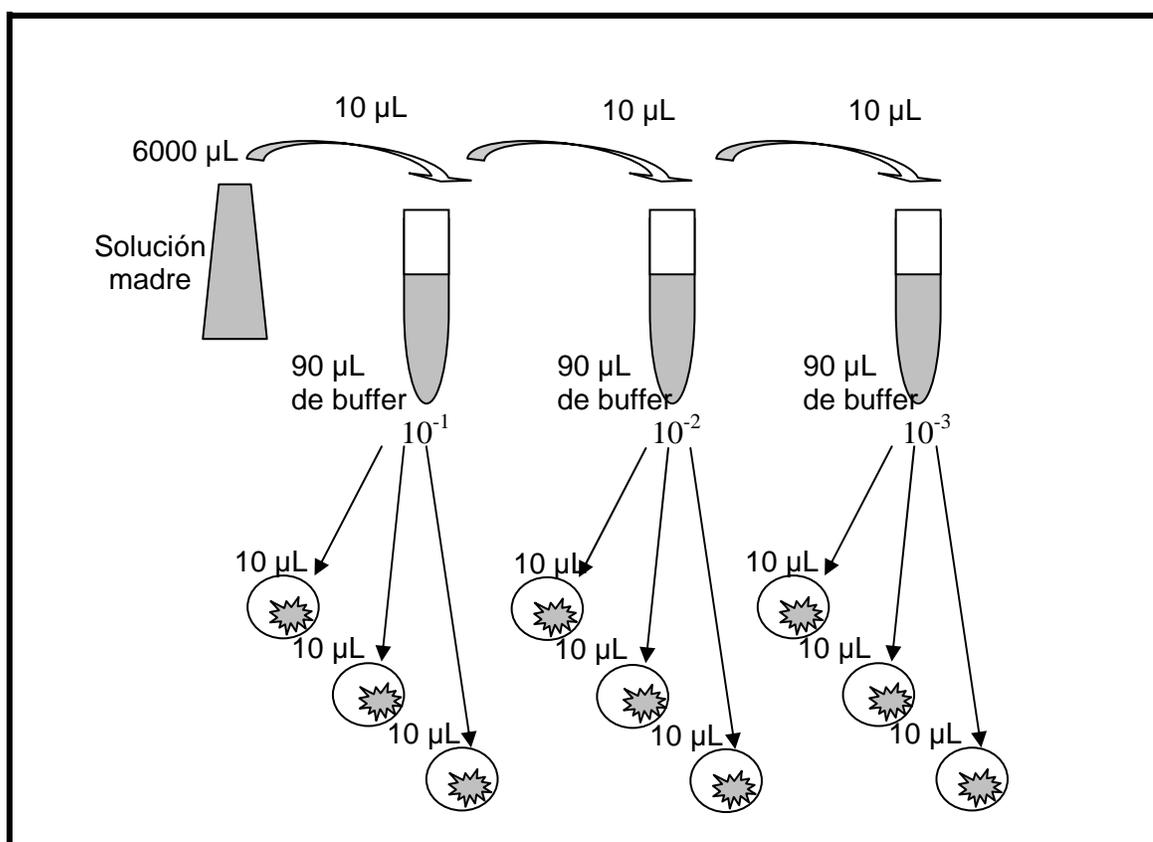


FIGURA 20. Procedimiento para la verificación de la concentración de esporas de la solución madre.

Las diluciones y la siembra se realizaron en un gabinete de bioseguridad Heal Force, Modelo HFsafe-1200 CLASS II Type A2 (Heal Force Bio-Meditech Holdings Limited, Hong Kong, China) (FIGURA 21). Inmediatamente las placas se incubaron por un periodo de 48 h en una incubadora VWR Modelo 1535 (VWR Scientific Products Co., N.Y., U.S.A) programada a $60 \pm 2\ ^\circ\text{C}$ (FIGURA

22). Para evitar la deshidratación del agar, las placas fueron introducidas en bolsas plásticas.



FIGURA 21. Gabinete de bioseguridad Heal Force.



FIGURA 22. Incubadora VWR Scientific Products.

Luego del período de incubación se determinaron las unidades formadoras de colonias (UFC) mediante el contador de colonias Bantex *Colony Counter* Modelo 900A (American Bantex Corp., Burlingame, CA. U.S.A) (FIGURA 23). En las placas incubadas se pudieron identificar colonias de *G. stearothermophilus* típicas, de forma plana con un diámetro de 2-3 mm, y borde liso, rodeadas por una zona amarilla y con un punto opaco en el centro (FIGURA 24).

3.1.1.2 Determinación de pH. Para realizar la medición de pH del bioindicador **Sterikon® plus** se tomó una muestra de 3 ml de la solución madre vaciándose en un vaso precipitado, luego de una leve homogeneización se sumergió el electrodo del pHmetro WTW Modelo 330i (WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GMBH, Germany) -previamente lavado con agua destilada- en la solución y una vez que la lectura se estabilizó se registró el valor. El valor de pH registrado fue 7,0 y fue utilizado como referencia para utilizar los parámetros de resistencia térmica del *G. stearothermophilus*. La medición se realizó tres veces.



FIGURA 23. Contador de colonias Bantex.

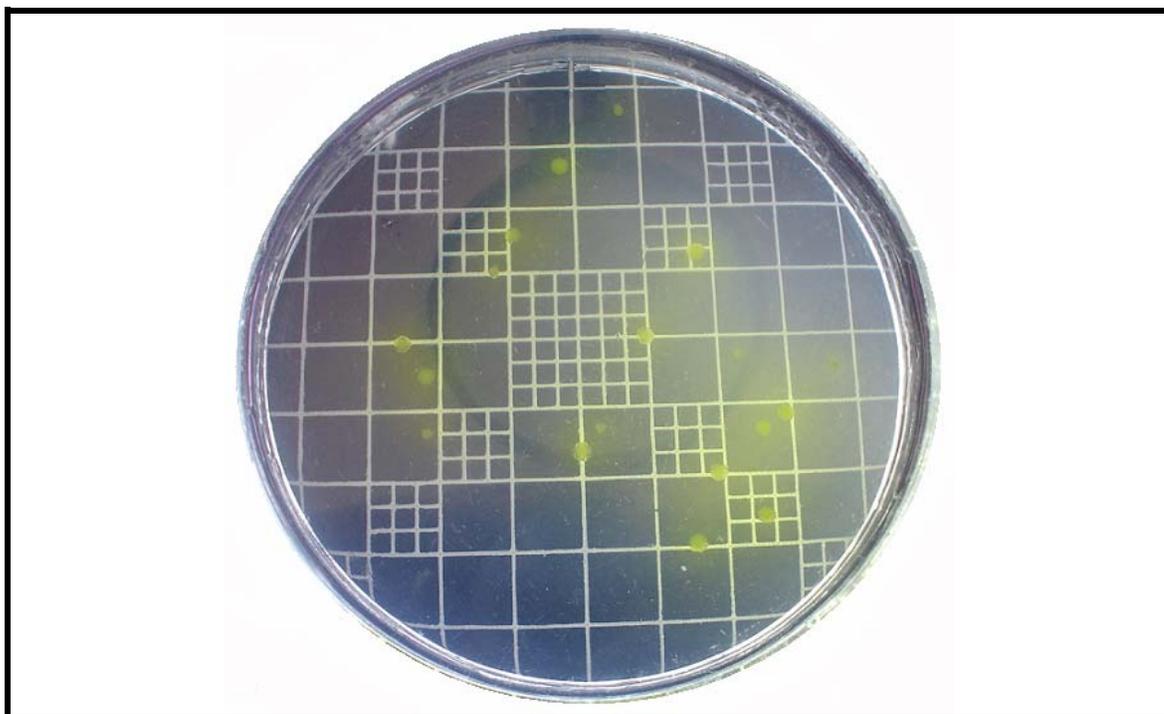


FIGURA 24. Colonias típicas del *G. stearothermophilus* sobre agar dextrosa peptona.

3.1.2 Confección de Unidades Indicadoras Biológicas (BIU). Si bien es cierto PFLUG (1987b) y TOLEDO (1991) reportan considerar una concentración inicial (N_0) de 10^2 para el valor F_0 para un esporulamiento termófilo, por razones prácticas se consideró una concentración inicial (N_0) de 10^3 obtenida en $10 \mu\text{L}$ de la solución madre para la confección de las Unidades Indicadoras Biológicas.

La confección de las BIU se realizó bajo condiciones estériles y la alícuota de la solución madre, previamente homogeneizada, se transfirió –mediante una Micropipeta Socorex Modelo Calibra[®] digital 822 (Socorex ISBA S.A., Ecublens, Suiza)- a una pipeta Pasteur desechable “FLINT GLASS” de 9” de longitud, (CHASE SCIENTIFIC GLASS Inc, Rookwood, U.S.A.) (FIGURA 25). Una vez llenada la pipeta Pasteur de 0,5 mm de diámetro interior con la dosis bioindicadora se procedió a sellar ambos extremos abiertos con un soplete de gas propano (BERNZOMATIC Co., N.Y., U.S.A.). De esta forma se obtuvieron capilares BIU de aproximadamente 2,5 a 3 cm de longitud (FIGURA 26).



FIGURA 25. Pipetas Pasteur CHASE SCIENTIFIC GLASS.



FIGURA 26. Capilares de las Unidades Indicadoras Biológicas (BIU) confeccionadas.

A modo de verificación, la cantidad de esporas en las BIU se determinó siguiendo el mismo procedimiento descrito en la sección 3.1.1.1. Luego, las BIU fabricadas se almacenaron entre 2 y 8 °C, de acuerdo a la Ficha Técnica del bioindicador **Sterikon® plus**, hasta su utilización. Las especificaciones de las BIU se muestran en el CUADRO 8.

CUADRO 8. Especificaciones de los capilares BIU confeccionadas.

Largo	2,5 – 3 cm
Diámetro interno	0,90 mm
Diámetro externo	1,35 mm

3.1.3 Incubación de las Unidades Indicadoras Biológicas después del tratamiento térmico. Una vez realizado el tratamiento de esterilización correspondiente, se procedió a retirar las BIU insertadas en los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables. Posteriormente, las BIU se incubaron simultáneamente con una BIU patrón no esterilizada a 60 ± 2 °C durante 48 horas en una Incubadora VWR Modelo 1535 (VWR Scientific Products Co., N.Y., U.S.A).

3.2 Desarrollo experimental en planta

Para los ensayos experimentales se seleccionó como material de prueba al jurel (*Trachurus symmetricus murphyi*) (FIGURA 27) los cuales fueron adquiridas en la feria fluvial de la ciudad de Valdivia.

El jurel es uno de los recursos pelágicos que destaca en el plano de desembarques a nivel nacional, aporta una valoración de US\$ 97.913 millones en líneas de conservas y tiene una participación del 48,2% en el total de las divisas percibidas durante el primer período del 2008 por exportaciones de conservas.

Esta etapa consiste principalmente en la preparación de la muestras de filetes de jurel para ser envasados al vacío en las bolsas esterilizables y la realización del tratamiento de esterilización de estos mismos.

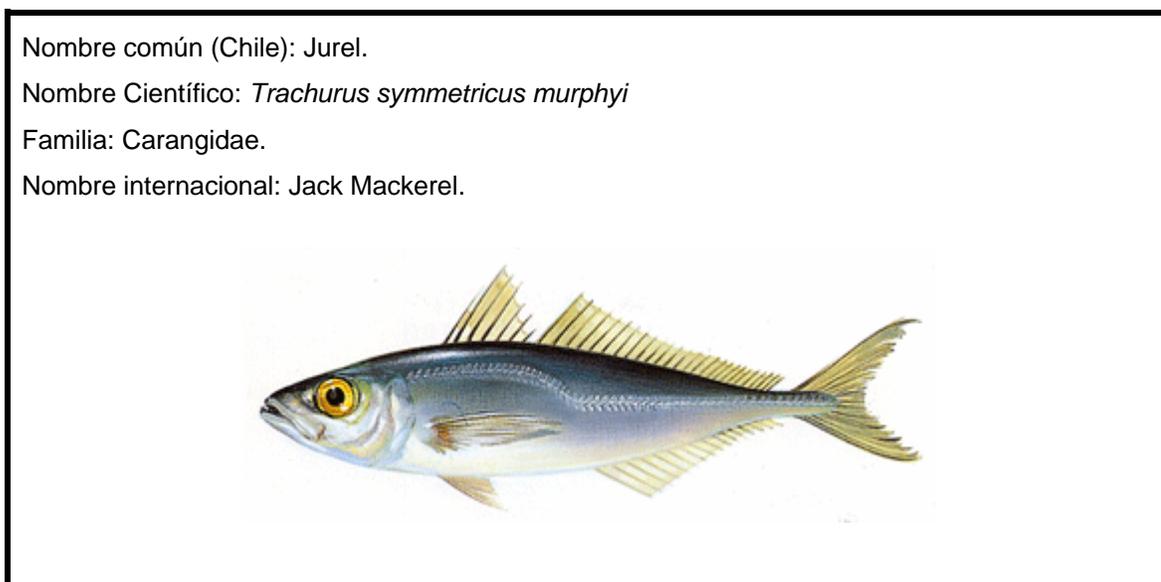


FIGURA 27. Jurel (*Trachurus symmetricus murphyi*).

3.2.1 Acondicionamiento de los filetes de jurel.

3.2.1.1 Selección y preparación del producto. El tamaño (largo) de los jureles enteros seleccionados osciló entre 40 y 50 cm aproximadamente. Los filetes obtenidos tuvieron un espesor entre 18 y 20 mm y un peso entre 103,5 y 138,3 gramos (FIGURA 28). Una vez obtenidos los filetes, estos se introdujeron individualmente en bolsas de polietileno y fueron almacenados a temperatura de congelación (-20 °C) hasta su utilización durante la investigación.

Cabe destacar que previo al envasado de los filetes de jurel se efectuó una precocción de estos a 95 °C por 7 min, en base a lo establecido por la empresa IQUIQUE GUANAYE S.A./SPK⁵ para la elaboración de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables. Además, este proceso busca eliminar el aire ocluido en el tejido del producto, deshidratar parcialmente la carne evitando que durante el tratamiento en autoclave se liberen fluidos que se acumularían en el envase y evitar la excesiva variación del peso drenado del producto después del tratamiento térmico (ALARCON, 2008).

⁵ IQUIQUE GUANAYE S.A./SPK. Talcahuano Coronel. Web [http:// www.spk.cl](http://www.spk.cl)

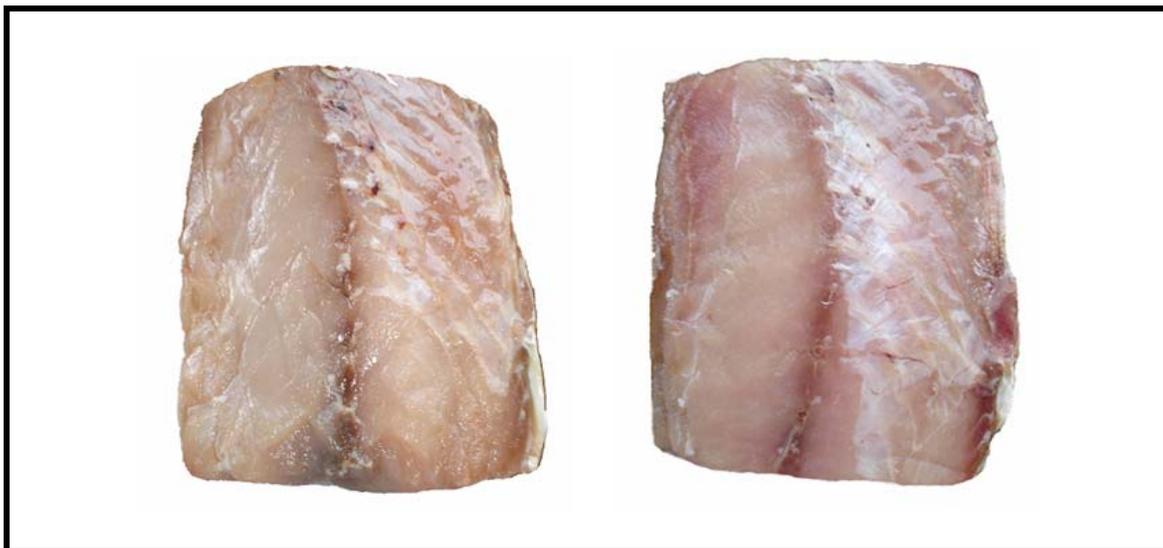


FIGURA 28. Filetes de jurel.

3.2.1.2 Preparación de las muestras de filete de jurel con las Unidades Indicadoras Biológicas. Una vez finalizado el proceso de precocción se introdujeron manualmente la BIU en la parte de mayor espesor de cada filete de jurel con la finalidad de ubicarlo en el punto de más lento calentamiento (FIGURA 29). Seguidamente las muestras de filetes de jurel con las BIU en su interior fueron envasadas en bolsas esterilizables de 200 g de capacidad (Empresas ALUSA S.A.⁶, Santiago, Chile) (FIGURA 30).

Las bolsas flexibles esterilizables están compuestas por polipropileno, lámina de aluminio, nylon y poliéster ALUSA (2006b). Este envase “Retortable” o “Retort Pouch” permite conservar el producto alimenticio por un periodo de tiempo prolongado que va desde 18 meses hasta 4 años y 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. Las especificaciones de las bolsas esterilizables utilizadas durante la presente investigación se muestran en el CUADRO 9.

⁶Alusa S.A.. Av. Presidente Eduardo Frei M. 9160 Quilicura – Santiago. Web. [http// www.alusa.cl](http://www.alusa.cl)

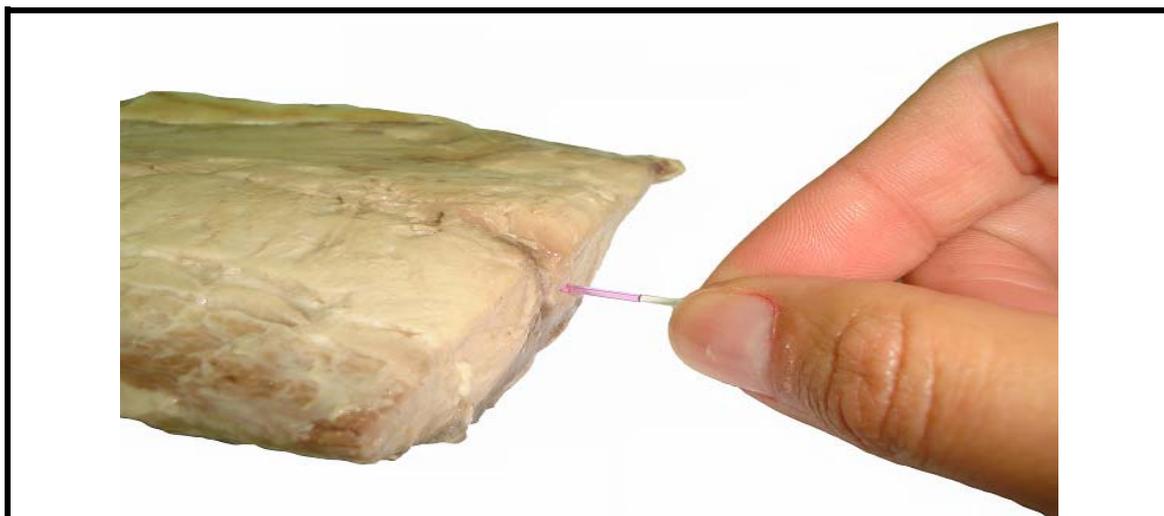


FIGURA 29. Inserción de la BIU al interior del filete de jurel.



FIGURA 30. Bolsa esterilizable ALUSA (FA COSTEO 70z).

CUADRO 9. Especificaciones de la bolsa esterilizable.

Descripción	Envase FA COSTEO 70z
Capacidad (g)	200 (7 Oz)
Dimensiones (mm)	195 x 140
Poliéster (PET) micrones	12
Aluminio (ALU) micrones	9
Poliamida orientada (OPA) micrones	25
Polipropileno (CPP) micrones	100
Peso completo (g/m ²)	175,60
Resistencia del sello (kg/15mm)	8
Control de explosión (PSI/ 30s)	22

FUENTE: ALUSA (FA COSTEO 70z).

3.2.1.3 Preparación de las muestras de filete de jurel con termocuplas. Una vez envasados los filetes con las BIU se procedió a la introducción de 2 termocuplas flexibles tipo T a través de dispositivos de bronce (FIGURA 31) intentando colocarlas lo más cercano posible en el centro correspondiente al mayor espesor de cada filete (FIGURA 32).

**FIGURA 31. Dispositivos de bronce.**

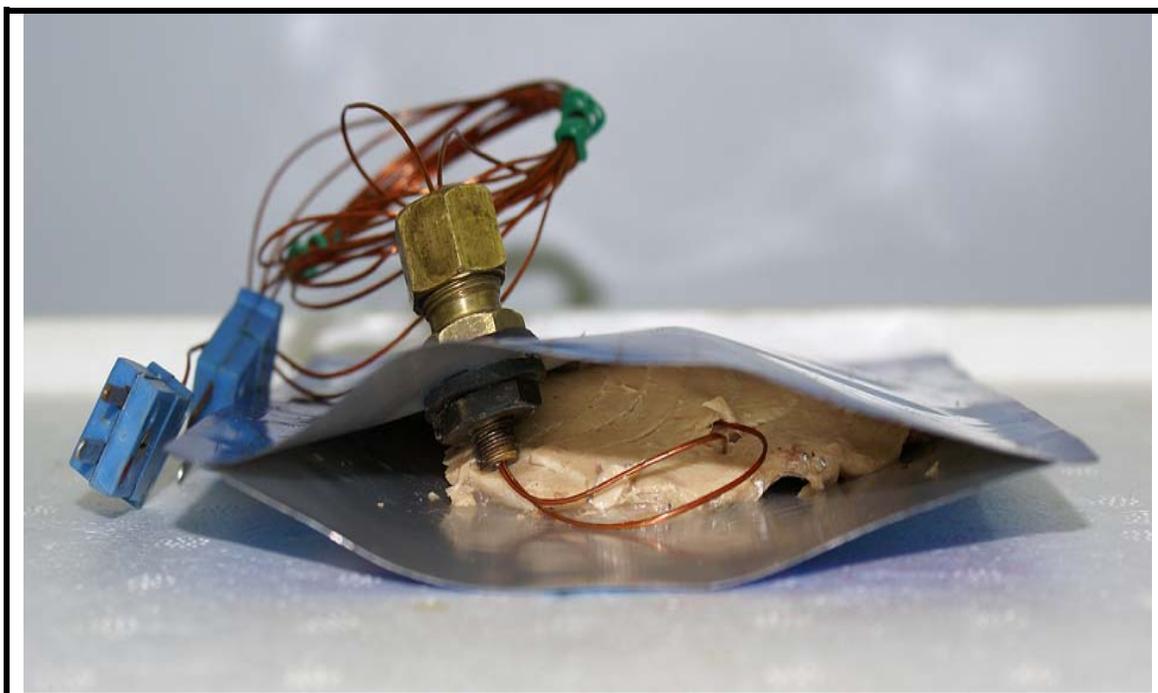


FIGURA 32. Inserción de termocuplas en filete de jurel.

Las termocuplas utilizadas para la medición de temperaturas fueron del tipo T (cobre-constantán) flexibles Kapton[®] calibre 30 (Cole Parmer Instruments Co., Vernon Hills, U.S.A.) (FIGURA 33), cuyas especificaciones se detallan en el CUADRO 10.

CUADRO 10. Especificaciones de las termocuplas Kapton[®].

Especificación	Item
Tipo	T (cobre-constantan)
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)
Empalme	Expuesto
Tiempo de Respuesta	0,5 s

FUENTE: Catálogo Cole-Parmer (2005/06)⁷

⁷ REICHMANN W. y CIA. Ltda. 2005-2006. Catálogo Cole-Parmer.

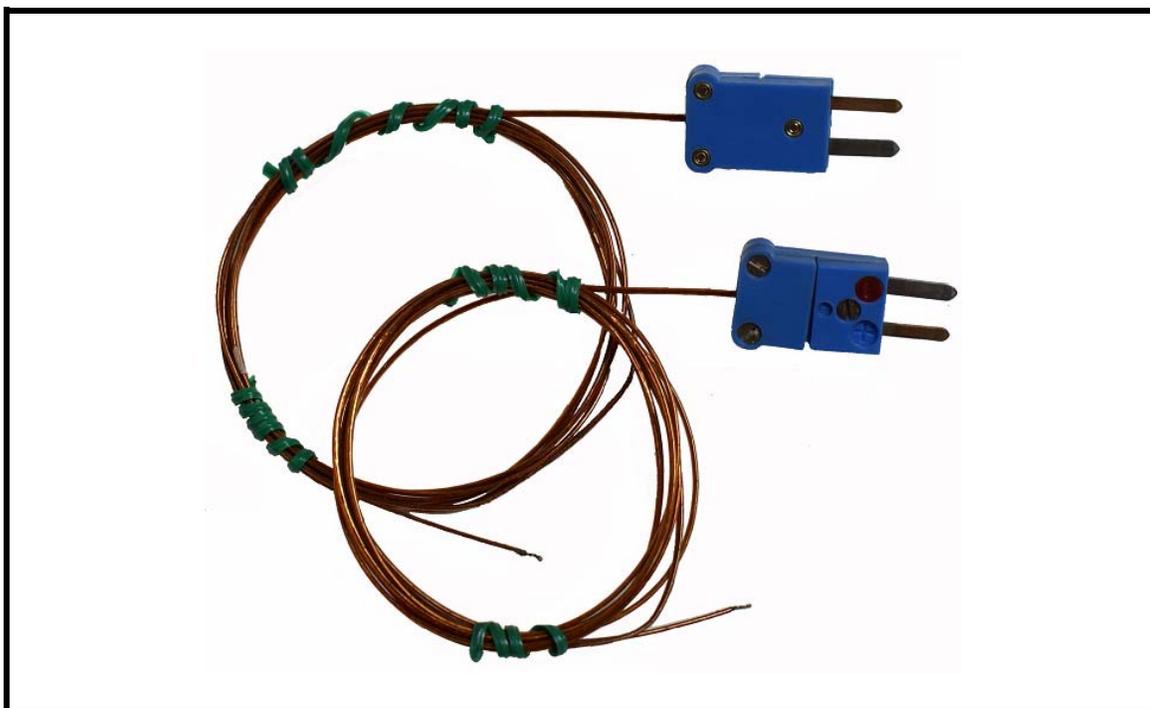


FIGURA 33. Termocuplas tipo T Kapton® calibre 30.

Es importante destacar que este paso junto con la inserción de las BIU al interior de los filetes de jurel, requirió de ensayos previos para adquirir la habilidad suficiente para lograr los objetivos de la presente investigación. El extremo soldado de la termocupla el cual mide la temperatura es bastante flexible, por lo tanto, fue casi imposible lograr ubicarlo exactamente en el centro térmico del filete (punto de más lento calentamiento/enfriamiento).

Finalmente, los filetes de jurel acomodados en las bolsas esterilizables fueron selladas al vacío –mediante la envasadora Plaspak Modelo KVP-65OT (Plaspak Maquinarias Ltda., Santiago, Chile) (FIGURA 34) para su posterior tratamiento de esterilización. El vacío se realiza para generar una atmósfera libre de oxígeno -que es el primer factor de oxidación- y de esta forma retardar el accionar de microorganismos que contiene el producto a envasar, manteniendo cualidades organolépticas como color, sabor y aroma. Las bolsas con producto, fueron sellados bajo un vacío de 0,1 MPa (750 mmHg) por un tiempo de 40

segundos aproximadamente. La literatura recomienda un vacío de 0,099 MPa (740 mmHg) de vacío para sellar las bolsas flexibles (ROOP y NELSON, 1981).



FIGURA 34. Selladora al vacío Plaspak Modelo KVP-650T.

3.2.2 Preparación del sistema de recolección de datos.

3.2.2.1 Calibración de termocuplas. Las termocuplas tipo T fueron conectadas a un data-logger de 12 canales marca Digi-Sense, Modelo 92000-05 (Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, Illinois, U.S.A) (FIGURA 35) y calibradas mediante el método de puntos fijos, es decir, punto de ebullición del agua pura (100 °C) y punto de fusión del hielo (0 °C) a condiciones de presión atmosférica al nivel del mar. NICHOLAS y WHITE (1994) recomiendan este método para la calibración de todo tipo de termocuplas. El procedimiento de calibración se realizó previo a cada ensayo.

3.2.2.2 Configuración del Data-Logger. El data-logger al cual fueron conectadas las termocuplas, se configuró para registrar datos de temperatura de todas las termocuplas a un intervalo de 4 segundos. Para la captura de datos del data-logger se requirió la ejecución del programa de captura de datos Scanlink© v.2.0 (EUTECH Instruments Pte Ltd., Singapur) y un computador portátil Packard Bell® modelo Easynote con Sistema Operativo Microsoft® Windows® XP Profesional (FIGURA 35).

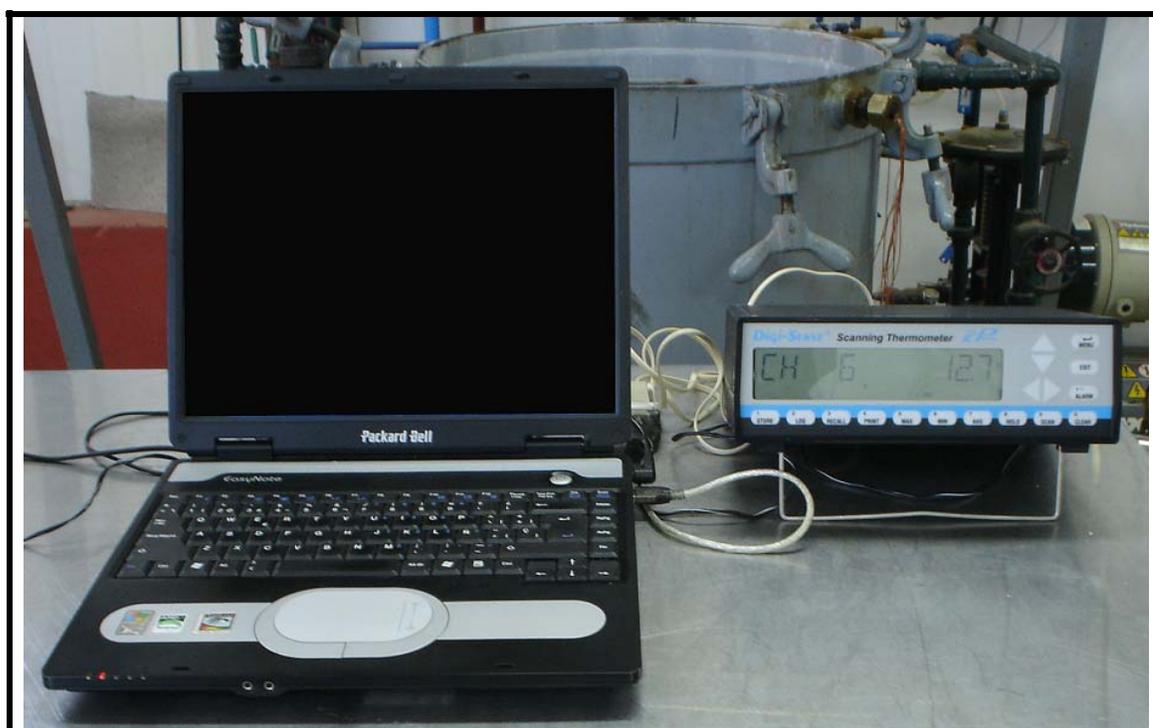


FIGURA 35. Computador portátil, software Scanlink© v2.0 y registrador de temperatura de 12 canales DIGI-SENSE.

Además, el uso de alargadores enrollados para termocuplas tipo T con miniconectores macho/hembra de 1,5 m de longitud (Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, Illinois, U.S.A) durante esta etapa fueron de gran ayuda al momento de manipular las termocuplas (FIGURA 36).

La calibración y configuración de los instrumentos utilizados para el registro de

temperaturas durante la presente investigación, favorece la confiabilidad de los datos adquiridos al término del tratamiento de esterilización.



FIGURA 36. Alargador de termocuplas.

3.2.3 Esterilización de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.

3.2.3.1 Sistema de esterilización. El sistema de esterilización incluye un autoclave vertical Dixie Canner Equipment modelo RDSW-3, (Dixie Canner Co., Georgia, U.S.A.) con un sistema de medición de presión y temperatura adherido a este. El manómetro USG, con un rango de presión de 0 a 60 psi y el termómetro TRERICE, con un rango de temperatura de 80 a 130 °C respectivamente (FIGURA 37). Un compresor Hydrovane 50 L, Modelo 550lpurs 10-2415D111, (CompAir Hydrovane Ltda, Redditch, Reino Unido) (FIGURA 38a). Un sistema auxiliar de alimentación de agua a alta presión con bomba centrífuga PEDROLLO de 1 HP de potencia (FIGURA 38b) (PEDROLLO S.A., San Bonifacio, Verona, Italia), y adaptadores de bronce para la entrada de termocuplas al interior del autoclave (FIGURA 39).

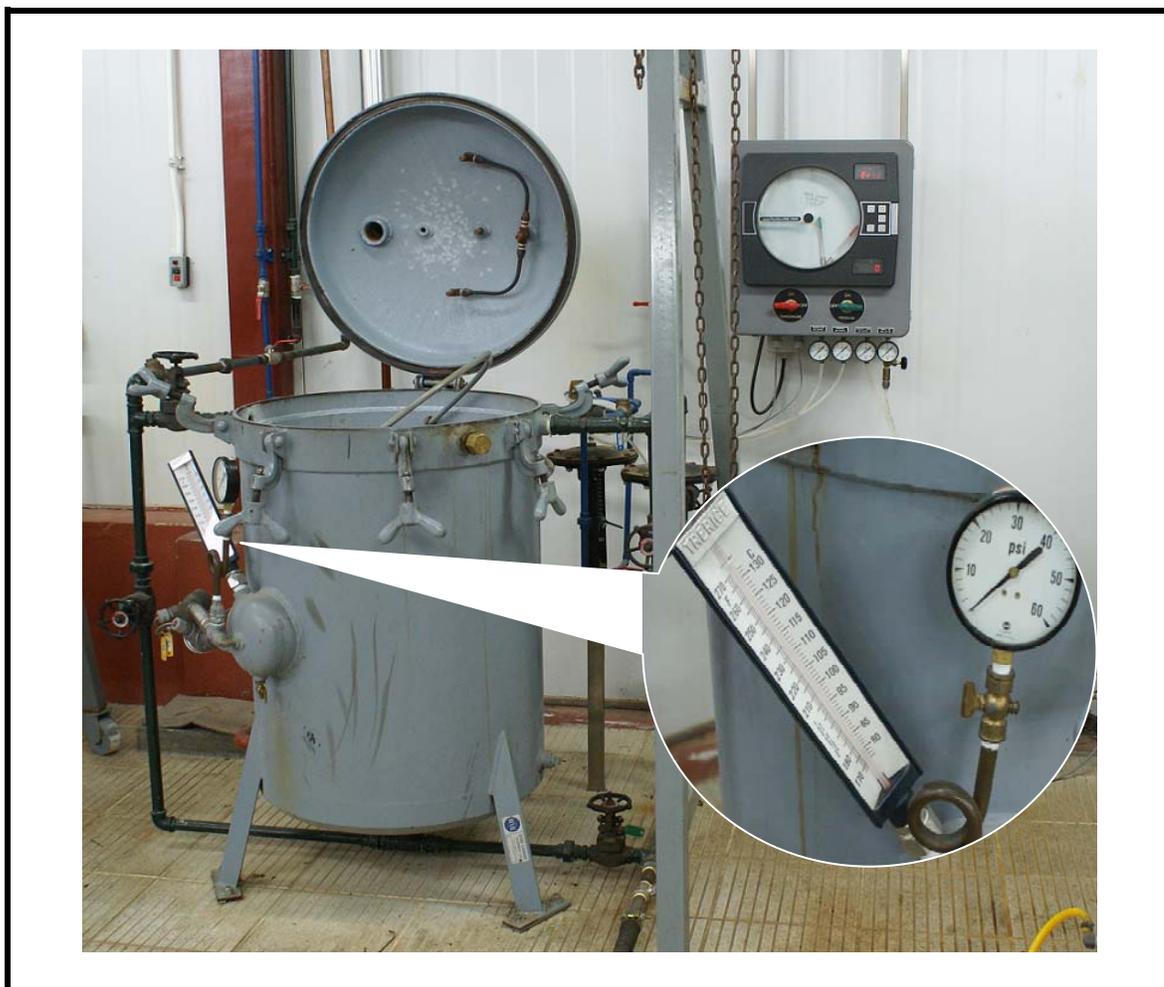


FIGURA 37. Autoclave Dixie Canner Equipment modelo RDSW-3. Sistema de medición de temperatura y presión del autoclave Dixie Canner.

Para el correcto funcionamiento del sistema de esterilización se debe asegurar que la presión del suministro de vapor de caldera, al momento previo de los tratamientos térmicos, se encuentre en el rango de 90 a 100 psig (6,33 y 7,03 kg_f/cm^2 man.), y la presión de carga del compresor debe ser cercano a 15 psig (1,05 kg_f/cm^2 man.). Esto último tiene por finalidad contar con aire comprimido en suficiente cantidad para lograr la sobrepresión adecuada durante el proceso de esterilización.



(a)



(b)

FIGURA 38. Equipos auxiliares: (a) Compresor HYDROVANE 50L. (b) Bomba centrífuga Pedrollo.

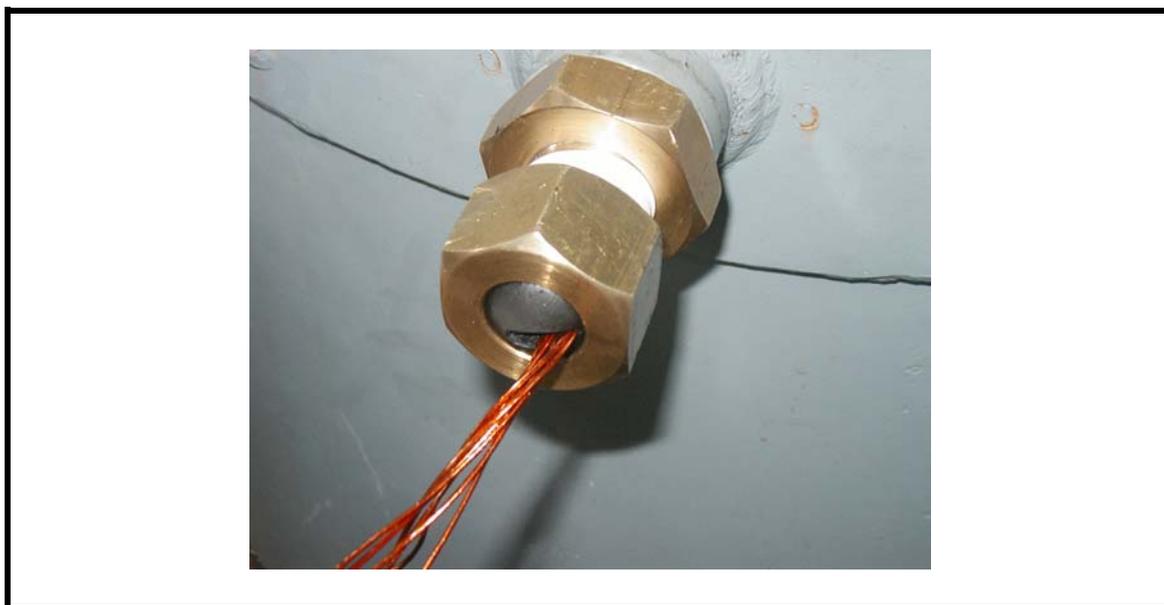


FIGURA 39. Dispositivo de bronce para el paso de termocuplas al interior del autoclave.

3.2.3.2 Tratamiento térmico en autoclave. Los tiempos de los tratamientos térmicos, aplicados a los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, se determinaron mediante Simulación 3D de acuerdo a la metodología implementada por PEREZ (2007), NAVARRO (2007), ALARCÓN (2008), y ACEVEDO (2008) como se explica en la sección 4.3.

En base a los trabajos de PEREZ (2007) y ALARCÓN (2008) se establecieron las condiciones de operación de los de tratamientos térmicos aplicados en el presente trabajo. 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). Así, a las condiciones de esterilización, temperatura de autoclave de 116 °C y presión de 0,750 bar man (10,67 psig), es necesaria aplicar sobrepresión para mantener el equilibrio entre la presión interna y externa de la bolsa esterilizable.

La literatura técnica especializada recomienda aplicar niveles de sobrepresión entre 0,196 a 0,686 bar (2,8 a 9,9 psig) por encima de la presión correspondiente a la temperatura de esterilización (LAMPI, 1977; MITCHELL, 2002; ACEVEDO, 2008). En términos prácticos, la sobrepresión durante los tratamientos térmicos se aplicó inmediatamente después del CUT alcanzando una presión de 1,379 bar (20 psig).

3.2.4 Determinación de la influencia de la BIU durante la penetración de calor. Este ensayo se realizó para descartar la posible resistencia al calor que podría ocasionar el material de fabricación de las BIU utilizadas durante la presente investigación.

Esta prueba fue realizada en la Planta Piloto del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) y los materiales, equipos e instrumentos utilizados fueron los mismos a los empleados durante el tratamiento de esterilización (ver sección 3.2.3.1). El tiempo de operación aplicado fue de 40 min a la temperatura de $116 \pm 0,5$ °C.

El ensayo consistió en introducir en la sección de mayor espesor del filete dos termocuplas, una al interior del capilar conteniendo la solución bioindicadora y la otra al exterior de ésta, siempre tratando de que ambas termocuplas quedaran en la misma posición respecto una de la otra. El sellado de la termocupla al interior de la BIU se realizó con silicona para altas temperaturas Marca Loctite (Henkel Loctite Corporation, Mississauga, Canadá), la que soporta temperaturas hasta 315,5 °C.

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

Para el caso de los alimentos envasados en bolsas esterilizables existe una resistencia adicional a la transferencia de calor dada por el envase, razón por la cual se utiliza el coeficiente global de transferencia de calor (U) para involucrar las resistencias térmicas convectiva (vapor/agua), y conductiva (envase) que

enfrenta el flujo de transferencia de calor entre el medio y el producto. Matemáticamente la resistencia térmica total se expresa como sigue (SIMPSON et al., 2004):

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h} + \frac{e_p}{k_p} \quad (3.1)$$

donde:

U Coeficiente global de transferencia de calor ($\text{W}/\text{m}^2 \text{K}$).

h Coeficiente convectivo de transferencia de calor ($\text{W}/\text{m}^2 \text{K}$).

e_p Espesor del material (m).

k_p Conductividad del material ($\text{W}/\text{m K}$).

La aplicación de la Ecuación (3.1) para determinar el coeficiente total de transferencia de calor (U) requiere conocer el coeficiente convectivo de transferencia de calor entre el producto y el medio (h), el espesor (e_p) y conductividad térmica (k_p) del envase flexible. La determinación experimental de k_p es de cierta complejidad, adicionalmente es difícil de encontrar en la literatura especializada valores confiables dado al carácter polilaminado de la bolsa esterilizable y la variabilidad en su fabricación.

Ante la dificultad de utilizar la Ecuación (3.1) para la determinación del coeficiente global de transferencia de calor (U), se utilizó el Método de la Capacidad Calorífica Global ("*Lumped Capacitance Analysis*"). La metodología mencionada se basa en la utilización de objetos de cobre de propiedades conocidas, así como de forma y dimensiones semejantes al producto a evaluar (ORDOÑEZ, 1996; DIAZ, 2000). Para nuestro caso se utilizó una plancha de cobre de dimensiones similares a los cortes de filete utilizados y se envasaron al vacío en la misma bolsa esterilizable utilizada en las experiencias. De esta manera se estaría calculando directamente el coeficiente U mediante la

siguiente ecuación (PEREZ, 2007; NAVARRO, 2007; ALARCÓN, 2008; ACEVEDO, 2008):

$$U = - \left[\left(\frac{Cp \cdot \rho \cdot V}{A \cdot t} \right) \cdot \text{Ln} \left(\frac{T_{\infty} - T}{T_{\infty} - T_0} \right) \right]. \quad (3.2)$$

donde:

- T_{∞} Temperatura del medio (°C)
- T Temperatura en el tiempo t (°C)
- T_0 Temperatura inicial en el intervalo evaluado (°C)
- Cp Calor específico (J/kg K)
- ρ Densidad (kg/m³)
- V Volumen (m³)
- A Área (m²)
- t Tiempo de intervalo (s)

Para aplicar la Ecuación (3.2) se registraron experimentalmente, mediante termocuplas tipo T Kapton® calibre 30, datos tiempo/temperatura del objeto de cobre envasado en la bolsa esterilizable bajo condiciones operacionales análogas a los tratamientos térmicos realizados sobre los productos. Para este efecto se utilizaron los mismos equipos y materiales citados en la sección 3.2.2 (FIGURA 40).

A partir de la aplicación de la Ecuación (3.2), para cada intervalo de tiempo (4 s) de la historia tiempo-temperatura, se obtuvieron los valores del coeficiente U en función del tiempo para las etapas correspondientes al CUT y enfriamiento. Para la etapa de temperatura de autoclave constante (116 °C) el valor de U sería constante e igual al último valor obtenido para el CUT. De esta forma se obtuvieron las curvas de distribución del coeficiente U en función del tiempo para cada tratamiento térmico aplicado (FIGURA 41).

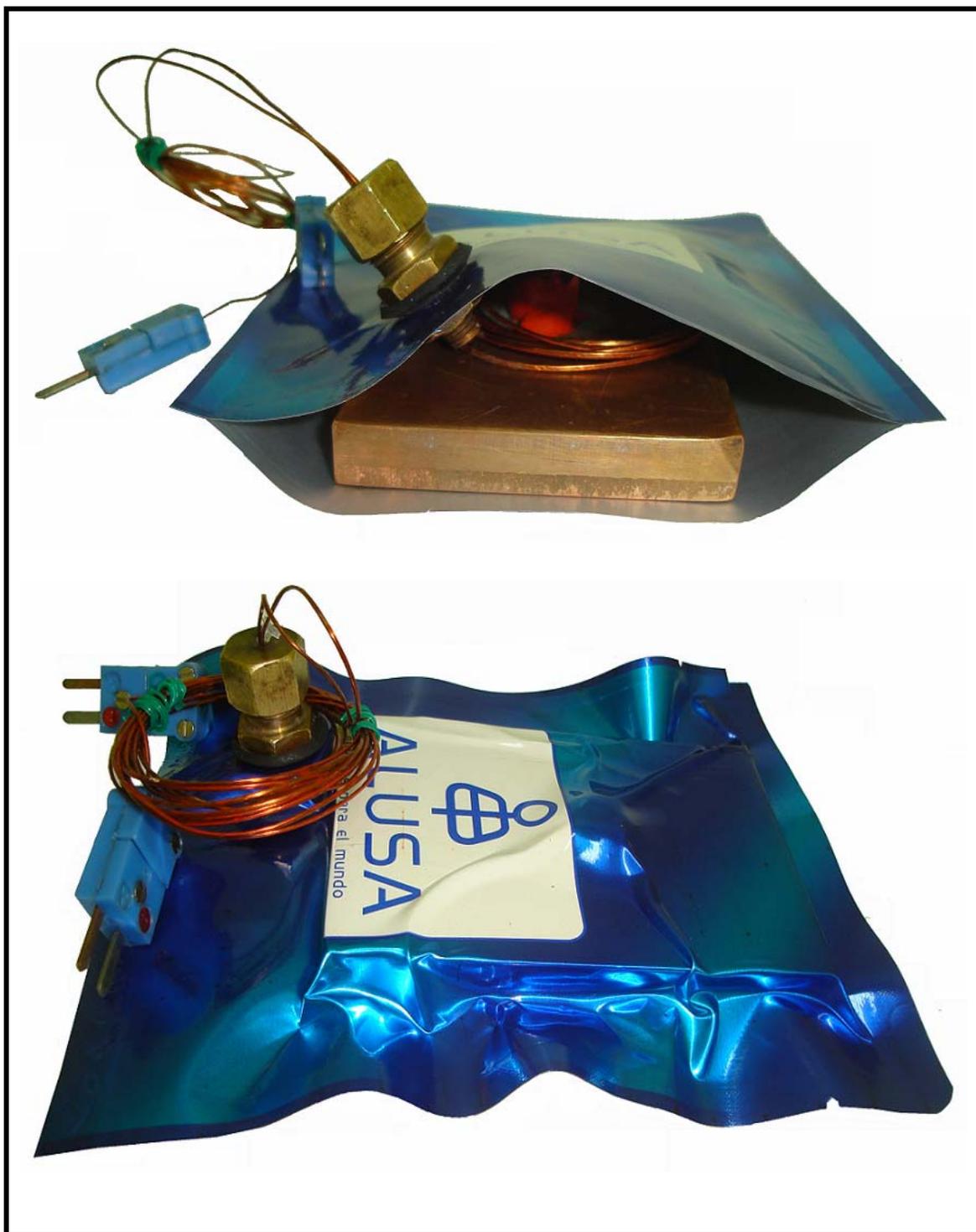


FIGURA 40. Plancha de cobre envasada al vacío en bolsa esterilizable.

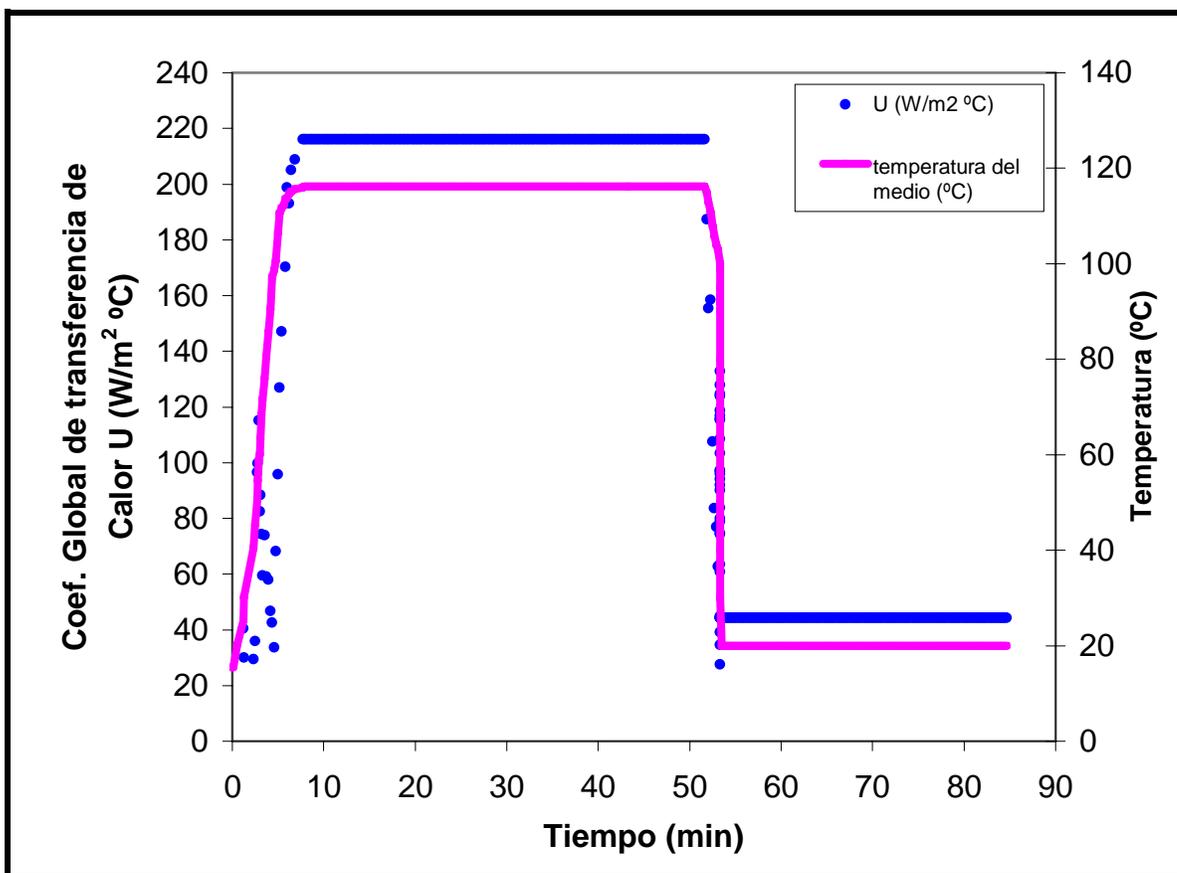


FIGURA 41. Valores del coeficiente U en función del tiempo para las experiencias realizadas.

3.3 Ubicación espacial de termocuplas y BIU en los filetes de jurel envasados en bolsas esterilizables

La ubicación espacial del extremo sensible de las termocuplas en el producto es necesaria para la validación de los perfiles de temperatura simulados con los experimentales. La ubicación espacial del capilar en el interior del producto es necesaria para la verificación del valor esterilizante del tratamiento térmico expresado como F_0 y S (número de reducciones decimales).

Las coordenadas (x, y, z) del extremo sensible de las termocuplas y las BIU insertas en el producto se determinaron utilizando la técnica implementada por PEREZ (2007) que consiste en usar Rayos X para generar imágenes

radiográficas 2D. Para este efecto, cada muestra se ubicó en forma horizontal sobre la superficie del chasis (que contiene la placa), plano XY (FIGURA 42a), y en forma vertical al chasis, plano XZ (FIGURA 42b).

El sistema de Rayos X utilizado, compuesto de un equipo de Rayos X Modelo DXD-350 II, (General Electric Co., Connecticut, EE.UU) (FIGURA 43a) y una reveladora automática de películas radiológicas DAITO Modelo XP 1000, (DAITO Co., Japón) (FIGURA 43b), pertenece al Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.

La dosis de rayos X a que estuvieron expuestas todas las muestras de filetes de jurel fueron de una tensión de pico 42 kVP, intensidad de corriente de 100mA y por 0,03 segundos.

Las imágenes de las radiografías fueron tomadas a escala 1:1 con respecto al tamaño de las muestras. Luego, mediante el uso de un papel milimetrado translúcido y un negatoscopio se determinaron directamente las coordenadas (x,y) y (x,z) correspondiente a la ubicación del extremo sensor de las termocuplas y de las BIU (FIGURA 44).

Las coordenadas físicas obtenidas para cada muestra permitieron esquematizar la ubicación espacial de los puntos involucrados en el modelo digital (software Rhinoceros®) así como encontrar los nodos correspondientes a cada coordenada en el modelo digital simulado (software ALGOR®).

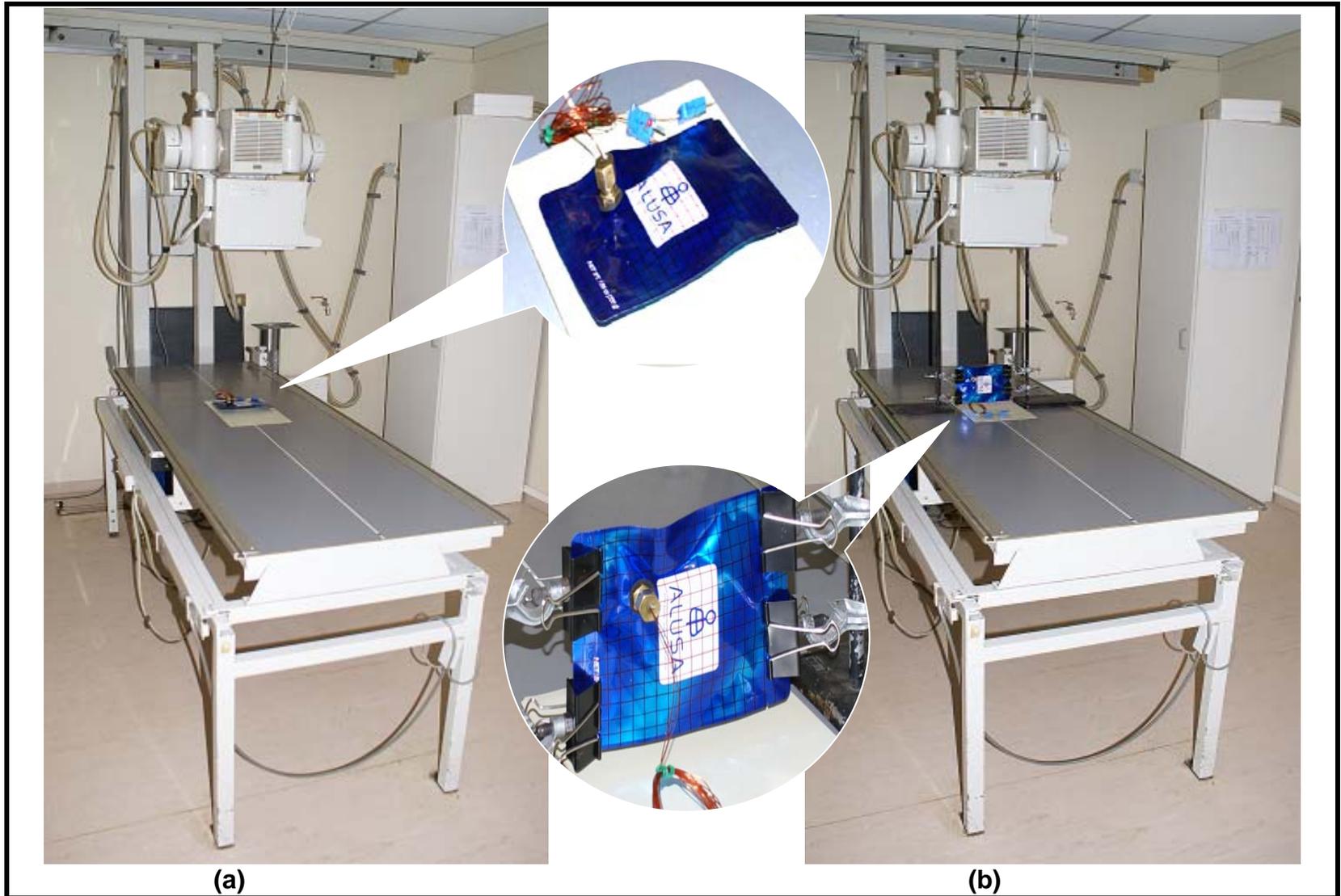


FIGURA 42. Vista superior y lateral de la toma de Rayos X en el producto.



(a) Equipo de Rayos X modelo DXD – 350 General Electric



(b) Equipo revelador modelo XP 1000 Daito

FIGURA 43. Sistema de Rayos X para la ubicación espacial de las termocuplas y las BIU en los cortes de filete.

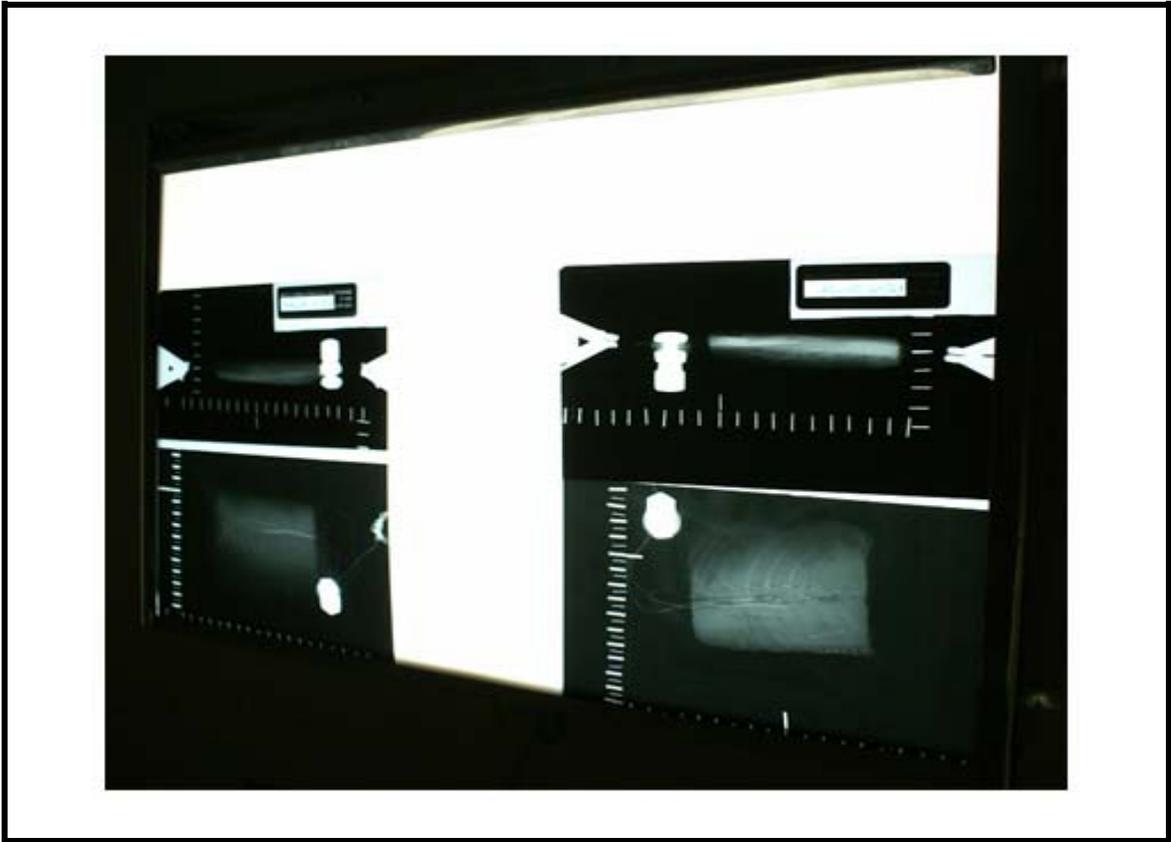


FIGURA 44. Negatoscopio utilizado para la ubicación espacial de las termocuplas y las BIU en los cortes de filete.

3.4 Modelación matemática del proceso de transferencia de calor

Para la representación del proceso de esterilización de filetes de jurel envasados al vacío de formas irregulares complejas, el modelo matemático apropiado es el que considera un proceso de conducción de calor transiente con propiedades térmicas constantes con la temperatura y sujeto a condiciones de borde variables con el tiempo, es decir, temperatura del medio y coeficiente global de transferencia de calor variables con el tiempo.

Se consideró además simetría térmica en base a una evaluación preliminar de distribución de temperatura por ambas caras de las bolsas donde se encontró una distribución uniforme de la temperatura de autoclave ($\pm 0,5$ °C).

El modelo matemático descrito requiere los siguientes supuestos para establecer la solución numérica en elementos finitos.

- (1) El alimento se considera como un sólido de composición uniforme e isotrópico.
- (2) Como no existe líquido de cobertura, la transferencia de calor solo ocurre por conducción en el interior del producto.
- (3) Las bolsas al poseer un alto grado de vacío, no se considera como un factor que afecte la transferencia de calor por conducción durante el proceso.
- (4) Las condiciones del medio, temperatura y coeficiente total de transferencia de calor, son variables en el tiempo.
- (5) Las propiedades térmicas (k y C_p) del producto son constantes con respecto a la temperatura.
- (6) La densidad (ρ) del producto se considera constante desde que el cambio de volumen del producto es despreciable.

En base a lo expresado, el modelo matemático completo se sustenta en las siguientes: ecuación de gobierno, condiciones iniciales y condiciones de borde:

3.4.1 Ecuación de gobierno. La siguiente ecuación general tridimensional representa la transferencia de calor por conducción en el interior del alimento o material isotrópico y homogéneo:

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k(T) \frac{\partial T}{\partial z} \right) = C(T) \frac{\partial T}{\partial t} \quad (3.3)$$

Considerando propiedades térmicas (k y C) constantes con la temperatura, ésta ecuación es expresada en coordenadas rectangulares como sigue:

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} = \frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} \quad (3.4)$$

siendo $\alpha = k/C$ la difusividad térmica del producto (m^2/s), k la conductividad térmica ($W/m K$), y C el calor específico volumétrico ($J/m^3 K$).

3.4.2 Condiciones iniciales. La Ecuación (3.5) indica que la temperatura inicial es uniforme en todos los puntos del dominio, mientras la Ecuación (3.6) indica que la temperatura inicial de cada punto (nodo) del dominio para la etapa de enfriamiento es la condición alcanzada al finalizar la etapa de calentamiento (tiempo t_g).

$$\text{Etapa de calentamiento: } T(x, y, z, 0) = T_{in} ; \text{ para todo } x, y, z, t = 0 \quad (3.5)$$

$$\text{Etapa de enfriamiento: } T_{in}(x, y, z, t_g) = T_g(x, y, z) ; \text{ para todo } x, y, z, t = t_g \quad (3.6)$$

3.4.3 Condiciones de borde considerando un dominio 3D. Las ecuaciones (3.7, 3.8, 3.9, y 3.10), representan la variación de temperatura en el autoclave y del coeficiente global de transferencia de calor $[T_a(t)]$ y $[U(t)]$ durante las etapas de calentamiento y enfriamiento.

Las condiciones de asimetría geométrica son representadas por el dominio irregular complejo compuesto por las superficies S_1 y S_2 (FIGURA 45). Las condiciones de simetría térmica, similares condiciones de calentamiento/enfriamiento por ambas superficies S_1 y S_2 , fueron verificadas en un trabajo anterior (ALARCON, 2008) en donde se encontró una distribución de temperatura uniforme en el interior del mismo autoclave utilizado en el presente trabajo.

Etapa de calentamiento:

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_1(t) [T_{a1}(t) - T_{S1}]_{x,y,z} \text{ sobre la superficie limite } S_1 ; t > 0 \quad (3.7)$$

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_2(t) [Ta_2(t) - T_{S_2}]_{x,y,z} \text{ sobre la superficie limite } S_2 ; t > 0 \quad (3.8)$$

Etapa de enfriamiento:

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_3(t) [Ta_3(t) - T_{S_1}]_{x,y,z} \text{ sobre la superficie limite } S_1 ; t > 0 \quad (3.9)$$

$$k \cdot \frac{\partial T}{\partial n}(x, y, z, t) = U_4(t) [Ta_4(t) - T_{S_2}]_{x,y,z} \text{ sobre la superficie limite } S_2 ; t > 0 \quad (3.10)$$

donde:

U Coeficiente total de transferencia de calor, que incorpora el coeficiente convectivo de transferencia de calor y el efecto de la resistencia térmica del envase flexible.

Ta Temperatura del medio.

Ts Temperatura de la superficie del material.

$\partial T / \partial n$ Gradiente de temperatura normal de la superficie.

S Es la porción de superficie límite expuesta a las condiciones de borde, lo cual es indicado como dos porciones superficiales en el problema a resolver (S_1, S_2).

3.5 Simulación del tratamiento térmico de formas complejas

El sistema de simulación de procesos térmicos para productos de formas complejas envasados al vacío en bolsas esterilizables fue implementado por PEREZ (2007), NAVARRO (2007), ALARCÓN (2008) y ACEVEDO (2008). Con este sistema se estimaron los tiempos de proceso que se llevarían a cabo en las pruebas experimentales.

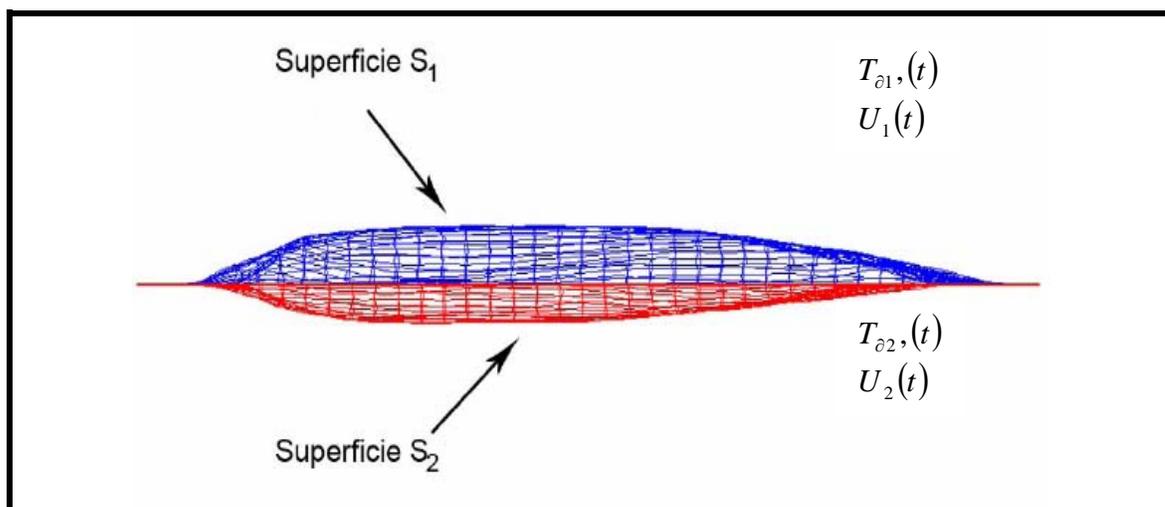


FIGURA 45. Superficies expuestas al tratamiento térmico.

Las etapas necesarias para realizar las simulaciones preliminares y definitivas de los procesos térmicos se describen a continuación:

3.5.1 Obtención del modelo digital 3D. Para obtener los modelos digitales de los modelos físicos se utilizó la metodología implementada por PINO (2004), RODRIGUEZ (2005) y PÉREZ (2007). Este procedimiento se basa en los principios de ingeniería reversa, el cual involucra la digitalización 3D y modelado geométrico mediante la tecnología CAD (Computer-Aided Design).

3.5.1.1 Trazado de mallas. Para capturar las superficies de los modelos físicos se utilizó el procedimiento de *Reconstrucción de Superficies a partir de una Malla de Puntos*. Así, el primer paso fue el trazado de mallas (filas y columnas) sobre ambas superficies de la bolsa vacía (FIGURA 46), ésta condición facilita un mallado homogéneo y permite obtener un modelo más claro y definido al momento de capturar los puntos sobre cada superficie. Esta cualidad no se logra en un 100% si el mallado se realiza después del envasado del producto en la bolsa (NAVARRO, 2007; ALARCÓN, 2008).

El tamaño de malla por lo general depende del tamaño de la bolsa, en este caso el mallado fue trazado para obtener cuadrados de red de 1cm^2 de área (NAVARRO, 2007; ALARCÓN, 2008). Es importante destacar que mientras mas pequeño sea el tamaño de la malla trazada sobre la bolsa, mayor será la similitud del modelo digital al modelo físico.

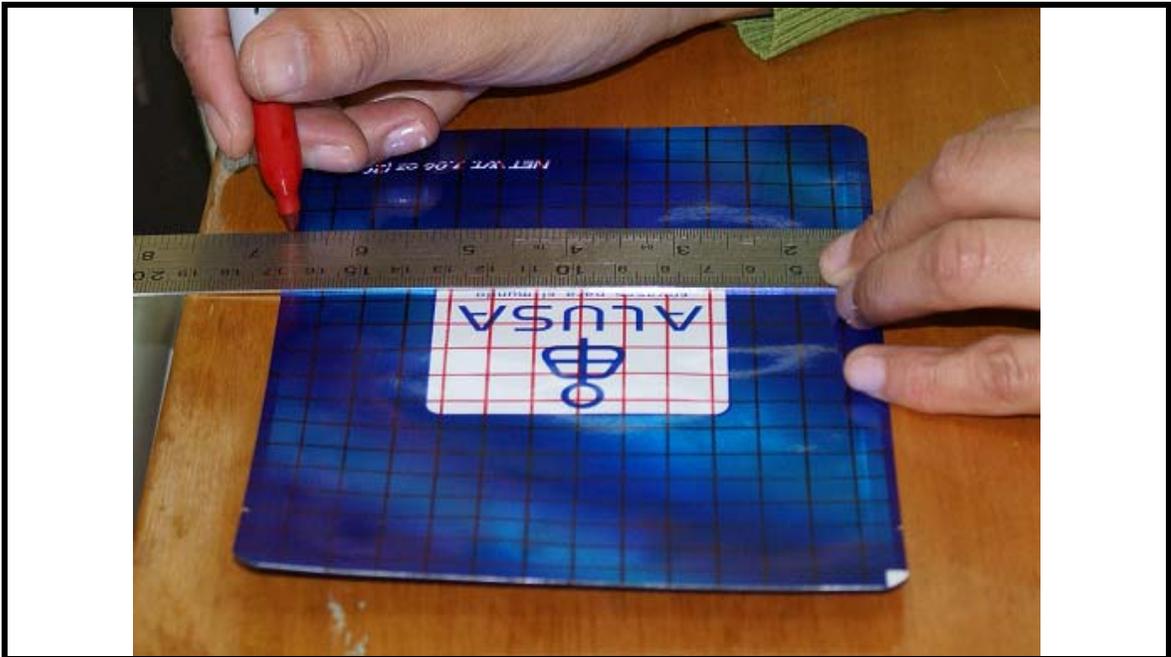


FIGURA 46. Trazado de malla sobre la bolsa esterilizable.

3.5.1.2 Captura de puntos. Es la segunda etapa a seguir, y consiste en capturar la ubicación espacial (coordenadas x , y , z) de cada punto de la malla trazada sobre el modelo físico mediante el Sistema de Adquisición de Datos 3D compuesto por el Brazo Digitalizador de precisión Microscribe G2L™, FIGURA 47 (Inmersion Co., San José, CA, USA), con exactitud de punta aguja de 0,64mm, conectado mediante el puerto serial RS-232 ó USB al Computador Personal Pentium 4 de 3.0 Mhz, 2 Gb RAM y 256 Mb en video, con sistema operativo Microsoft® Windows® XP Profesional Service Pack 3. El sistema se complementa con el software CAD Rhinoceros® 3.0 basado en curvas NURBS

(Non-Uniform Rational B-Spline), (Robert McNeel & Associates, Seattle, WA, USA). Este software permite registrar las coordenadas XYZ desde el sistema MicroScribe G2L emulando el ingreso de datos por teclado.



FIGURA 47. Brazo Digitalizador 3D.

El modelo físico fue montado sobre una plataforma de madera mediante una masilla removible de manera tal que la superficie fuese accesible por completo para la punta del brazo digitalizador. Una vez que el digitalizador y Rhinoceros establecieron comunicación se selecciona el método de captura de datos *POINT GRID* o grilla de puntos al cual se debe ingresar la matriz (números de

filas y columnas) de los puntos que fueron trazados anteriormente sobre la superficie de la bolsa esterilizable. Las coordenadas XYZ de cada punto se ingresó localizando la punta fina del digitalizador sobre cada intersección de la malla (FIGURA 48). La captura de puntos se realiza hasta obtener una nube de puntos que al finalizar Rhinoceros genera automáticamente una superficie y muestra su representación geométrica digital en base a las curvas NURBS (FIGURA 49).

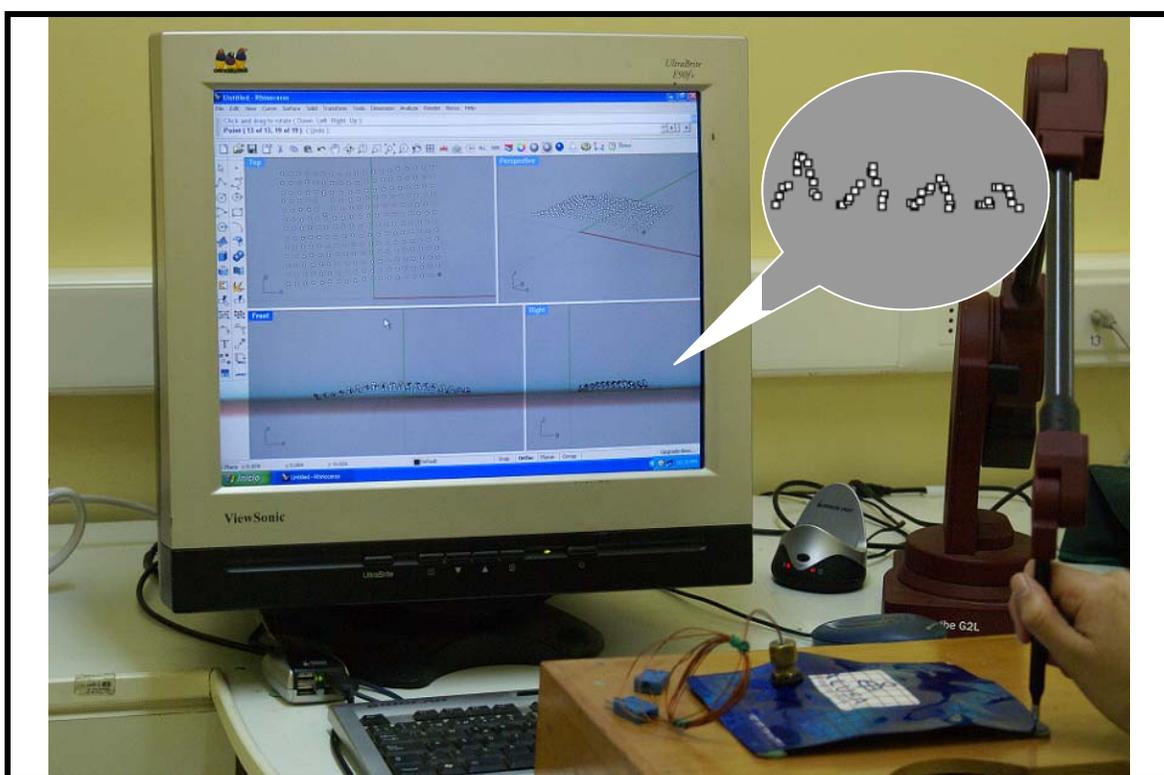


FIGURA 48. Captura de puntos con el sistema de digitalización 3D.

3.5.1.3 Modelado Geométrico. Una vez obtenida las superficies digitales, correspondientes a cada lado de la bolsa esterilizable, fue necesario juntarlas en un archivo de tal forma de tenerlas en un mismo escenario para su modelado y unión en un sólido digital (FIGURA 50).

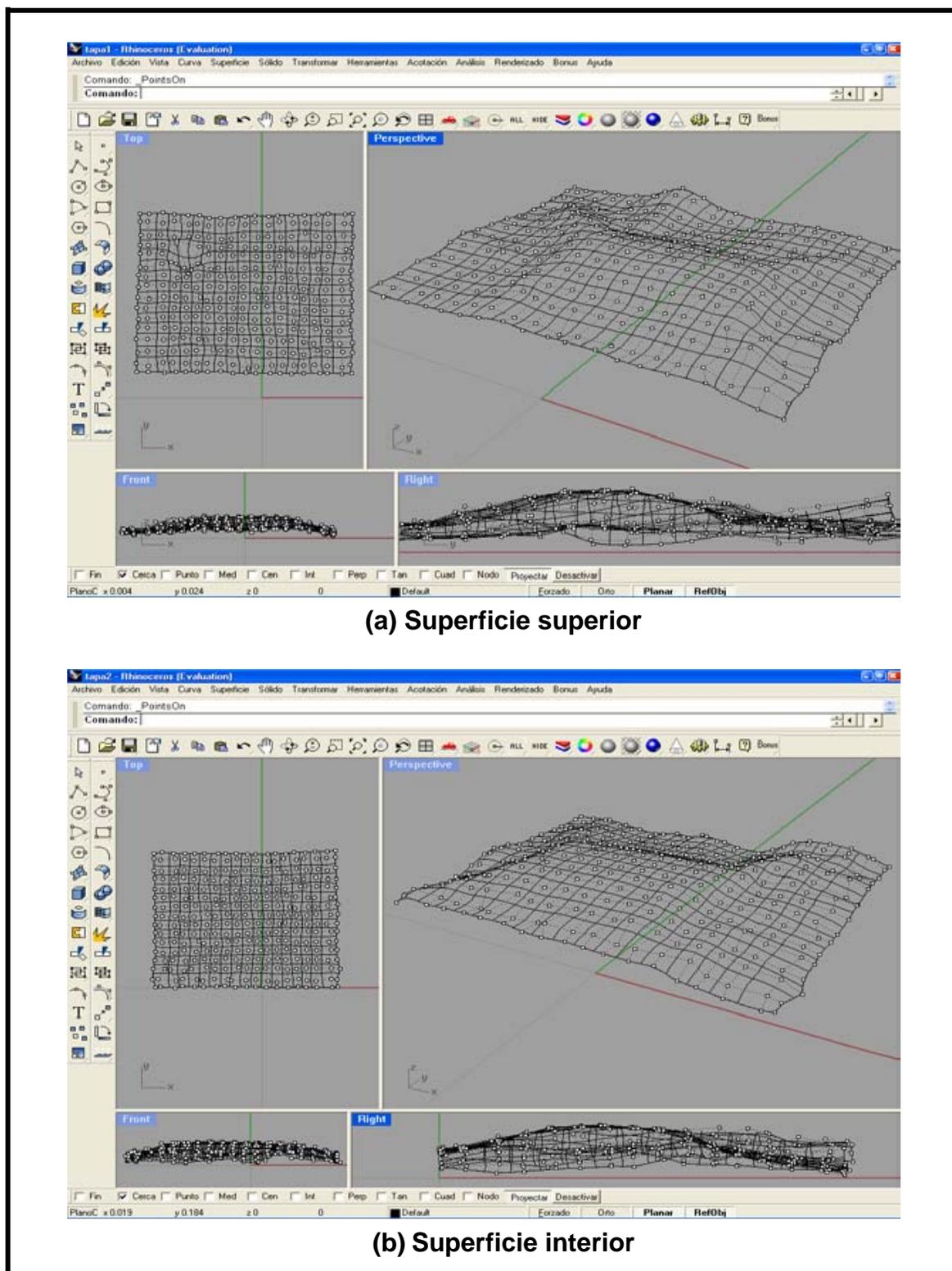
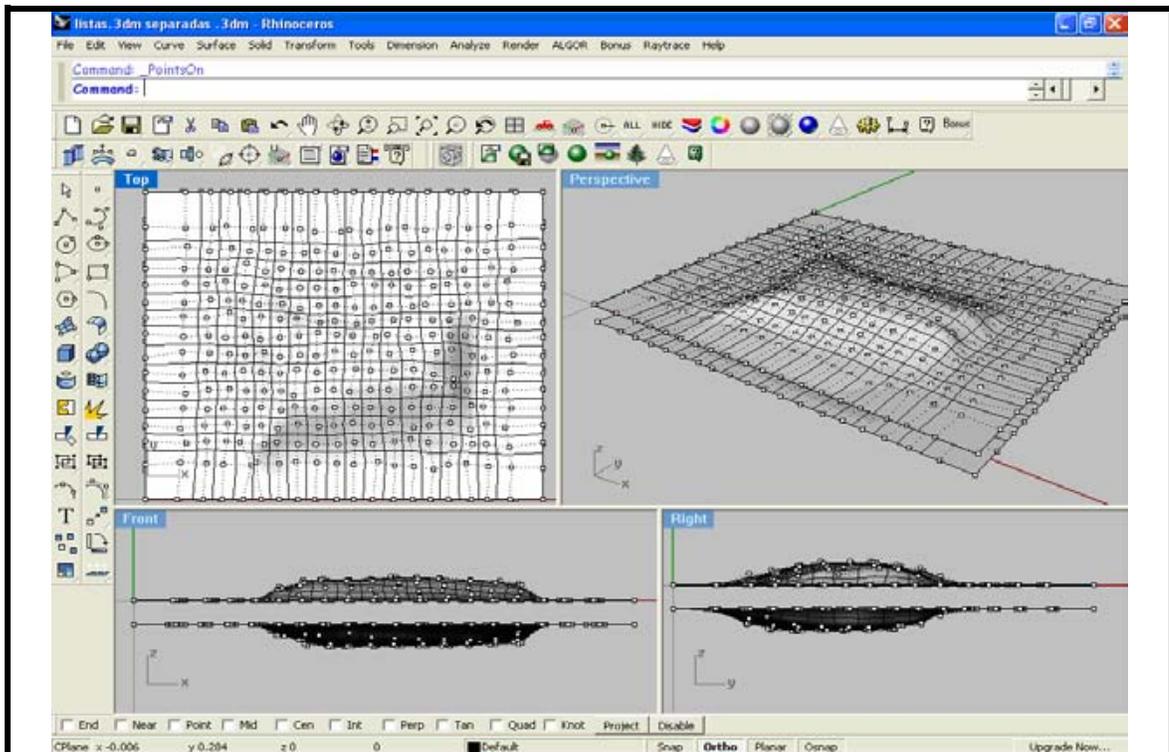
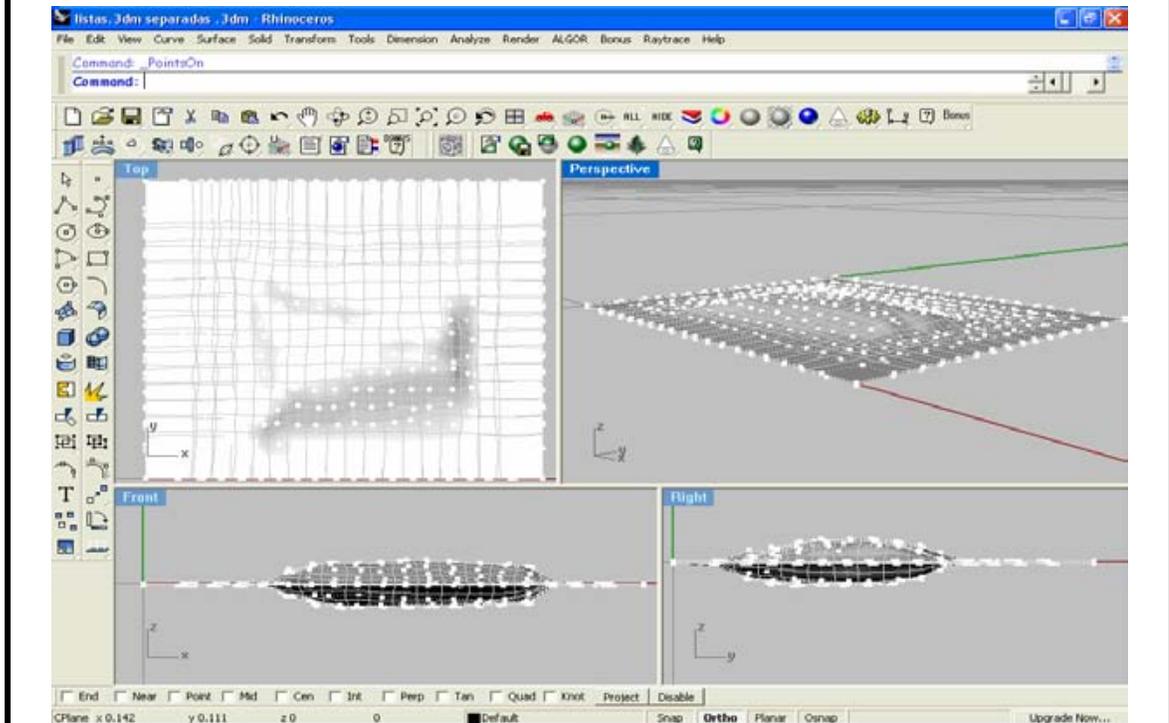


FIGURA 49. Superficies de las bolsas esterilizables generados con el software Rhinoceros®.



a) Representación digital de las superficies



b) Unión de las superficies y afinamiento de detalles

FIGURA 50. Modelado geométrico en Rhinoceros®.

El modelado de las superficies se realizó hasta un nivel de precisión nanométrica mediante la opción *Puntos de Control* en Rhinoceros®. El manejo de los puntos de control implicó cortar, suavizar bordes y juntar los modelos digitales de las dos superficies, de manera tal que se transforme en un solo modelo digital sólido “idéntico” al modelo físico (FIGURA 51).

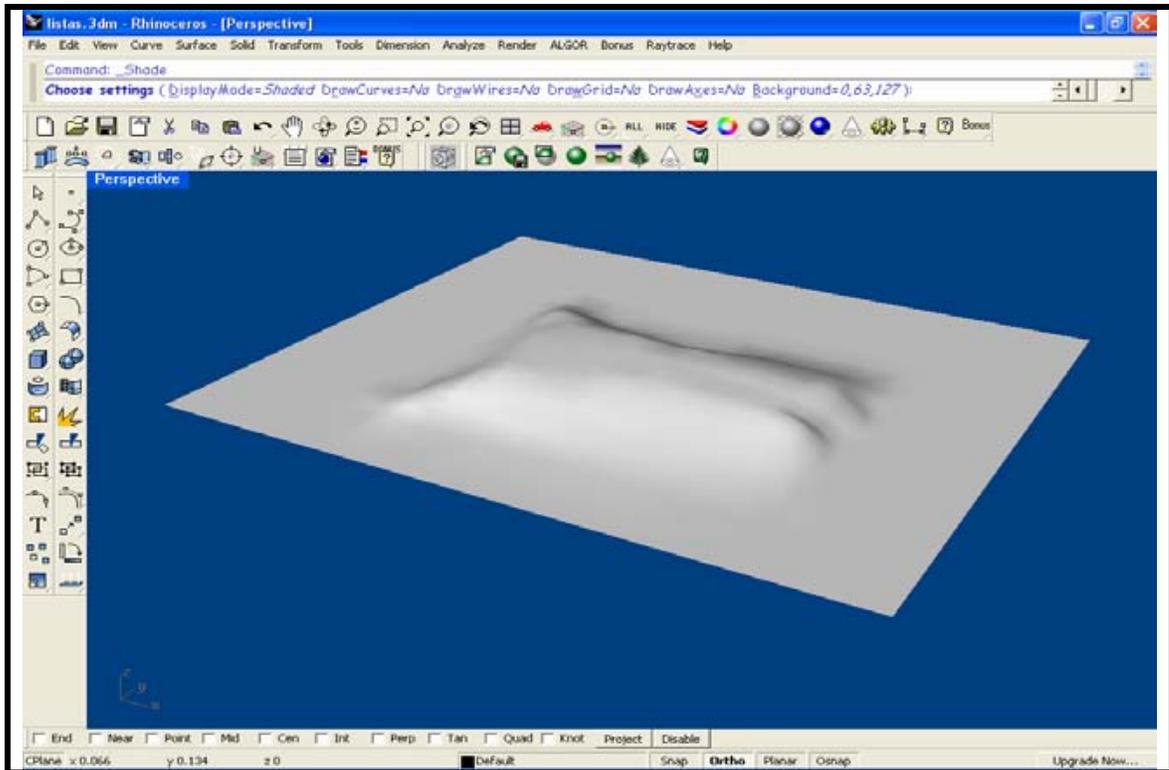


FIGURA 51. Modelo sólido digital de una bolsa esterilizable.

3.5.2 Análisis y simulación del proceso térmico en ALGOR®. Una vez creado el modelo geométrico digital en el software Rhinoceros®, éste puede ser transferido directamente al software de Análisis y Simulación por el Método de Elementos Finitos ALGOR® v.21.1 SP1 (ALGOR, Inc., Pittsburg, PA, U.S.A) gracias a la Tecnología InCAD de ALGOR que permite el intercambio directo de datos CAD/CAE (Rhinoceros/ALGOR). Esto permite mantener intacta la información no sólo geométrica sino también del sistema de unidades entre otros.

Los modelos digitales 3D de Rhinoceros® son exportados directamente a ALGOR® utilizando el comando MESH (ALGOR MENU:Mesh) (FIGURA 52).

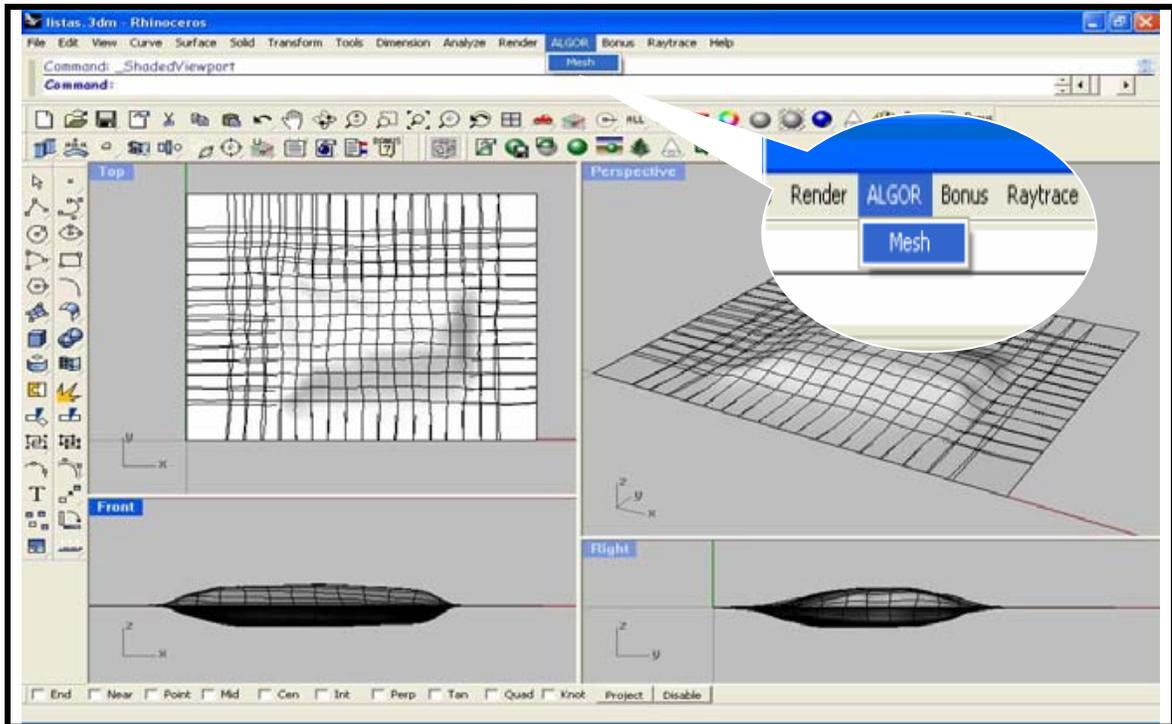


FIGURA 52. Exportación del modelo digital desde el software CAD al CAE.

3.5.2.1 Elección del escenario de diseño. Una vez abierto el modelo geométrico digital en ALGOR® el programa solicita especificar el tipo de análisis que se desea realizar. De acuerdo al modelo matemático que representa el proceso de esterilización de los filetes de jurel envasados en bolsas esterilizables (Sección 3.4), se selecciona en **Tipo de Análisis de Transferencia de Calor** la opción “*Transient Heat Transfer*” (Transferencia de Calor Transiente) (FIGURA 53), donde la historia tiempo-temperatura del proceso térmico para los puntos interiores del dominio serían los resultados requeridos.

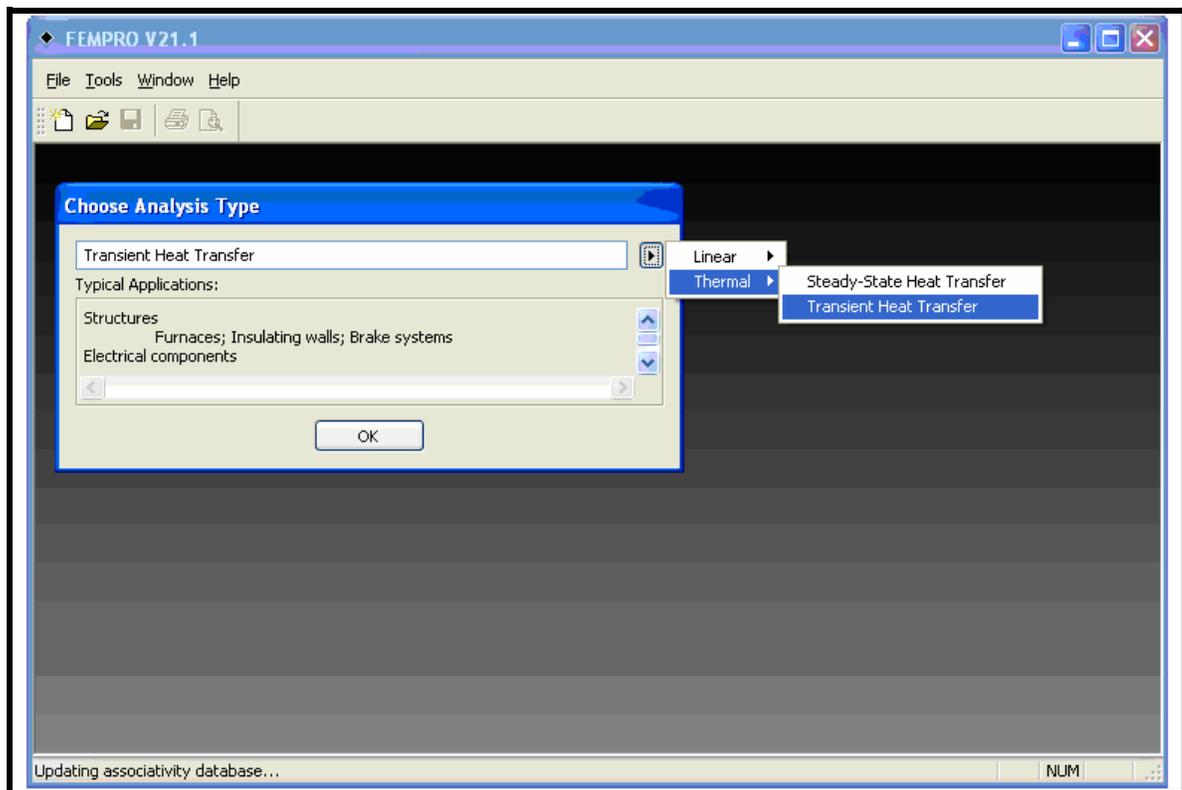


FIGURA 53. Elección del escenario de diseño.

3.5.2.2 Generación de la malla. Consiste en crear una malla de elementos que discretizarán el dominio continuo del alimento para su posterior análisis numérico. Para ello debe ser ingresado el valor absoluto de la medida que tendrán los elementos y ALGOR® generará de forma automática el mallado. Pero antes de crear el mallado del dominio 3D del alimento, debe ser creada una malla de superficie que genera elementos 2D solo en la superficie del modelo y además debe ser elegido que tipo de elementos se desea en la malla: solo ladrillos, sólo tetraedros, o una mezcla de ellos. En el caso de la presente investigación se optó por un tipo de malla mixto “**Bricks/Tetrahedra**” (ladrillos/tetraedros) (FIGURA 54) y un tamaño de malla de 3 mm (FIGURA 55). Esta opción genera una malla de la más alta calidad y con el menor número de elementos posibles. En la FIGURA 56 se muestra el dominio 3D mallado en Elementos Finitos.

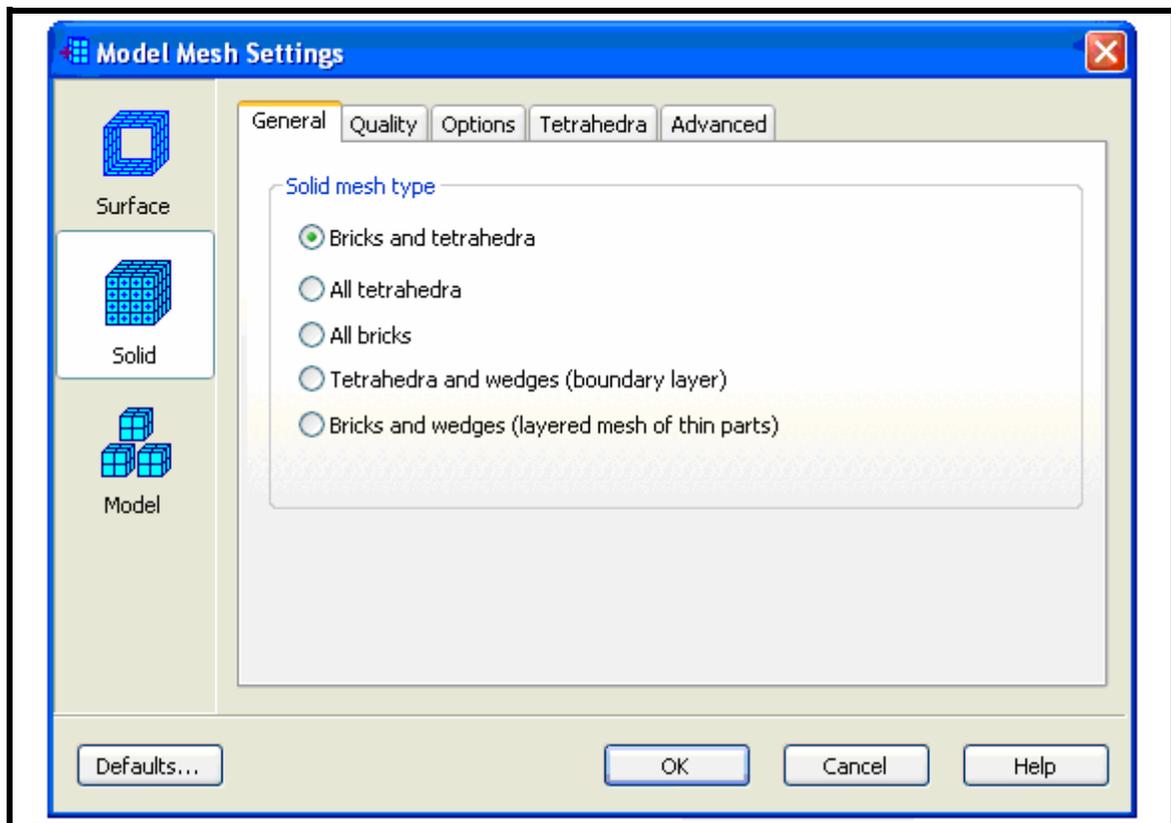


FIGURA 54. Elección del tipo de malla del sólido.

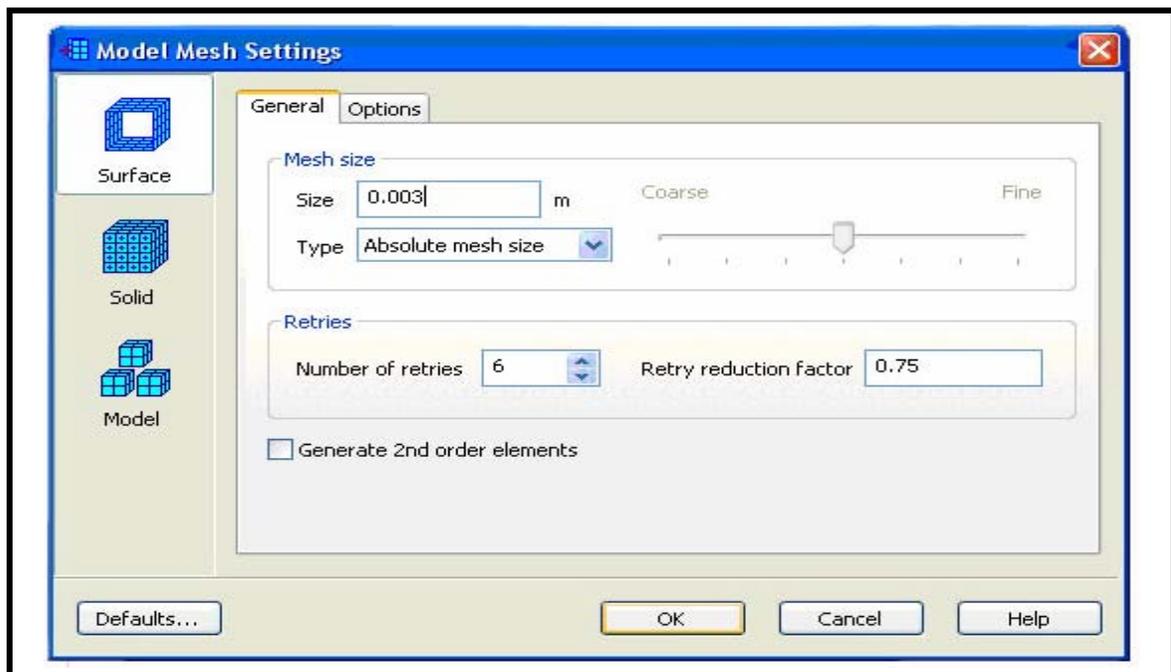


FIGURA 55. Generación del tamaño de malla absoluto.

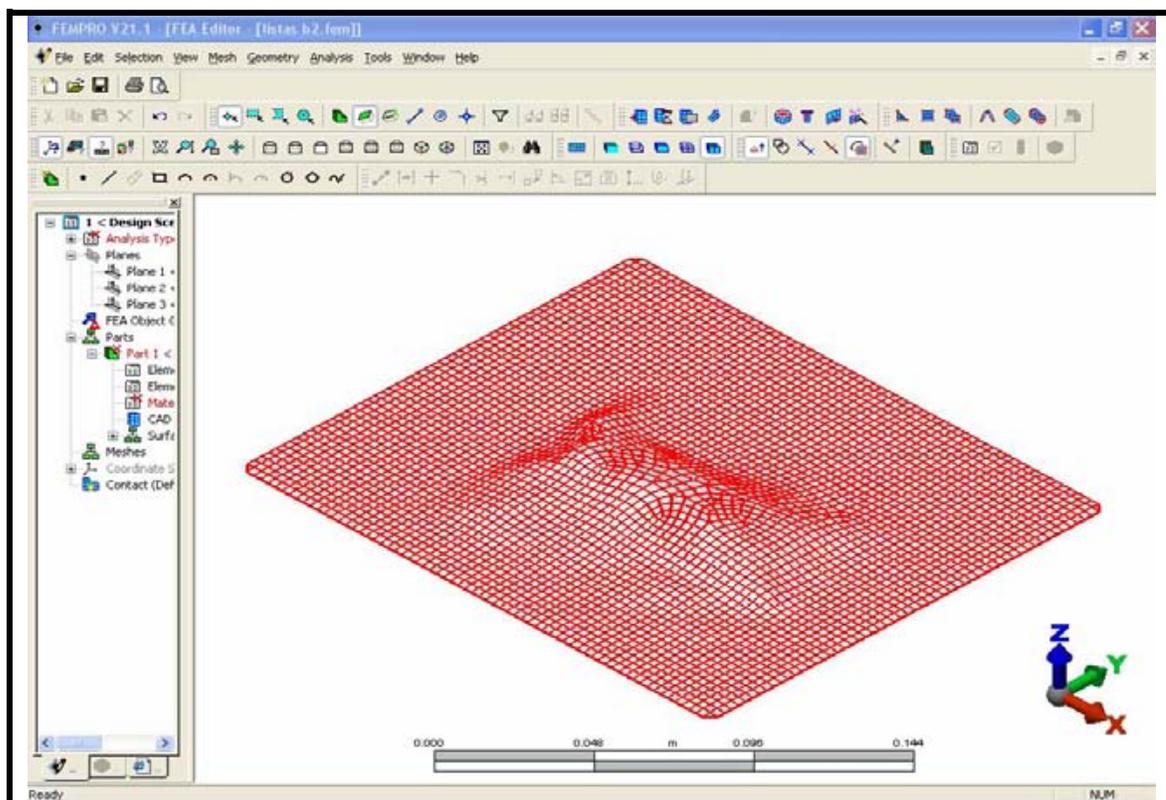


FIGURA 56. Modelo mallado en ALGOR®.

3.5.2.3 Definición de los elementos. Consiste en definir que tipo de elementos se analizará. Ya que estos pueden ser isotrópico o bien ortotrópico (FIGURA 57). Se utilizó el modelo isotrópico por la relativa homogeneidad del alimento analizado, en este caso filetes de jurel (PEREZ, 2007).

3.5.2.4 Especificación del material de los elementos. En esta etapa se ingresan las propiedades termofísicas del alimento analizado en la presente investigación, es decir, densidad másica (ρ), conductividad térmica (K), y calor específico (C_p) (FIGURA 58). Las propiedades se estimaron en base a la composición proximal del Jurel (ANEXO 1), utilizando el Software **FoodProperty** v.1.0 (WAMFoodLabTM, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile) disponible online en <http://www.wamfoodlab.uach.cl/>.

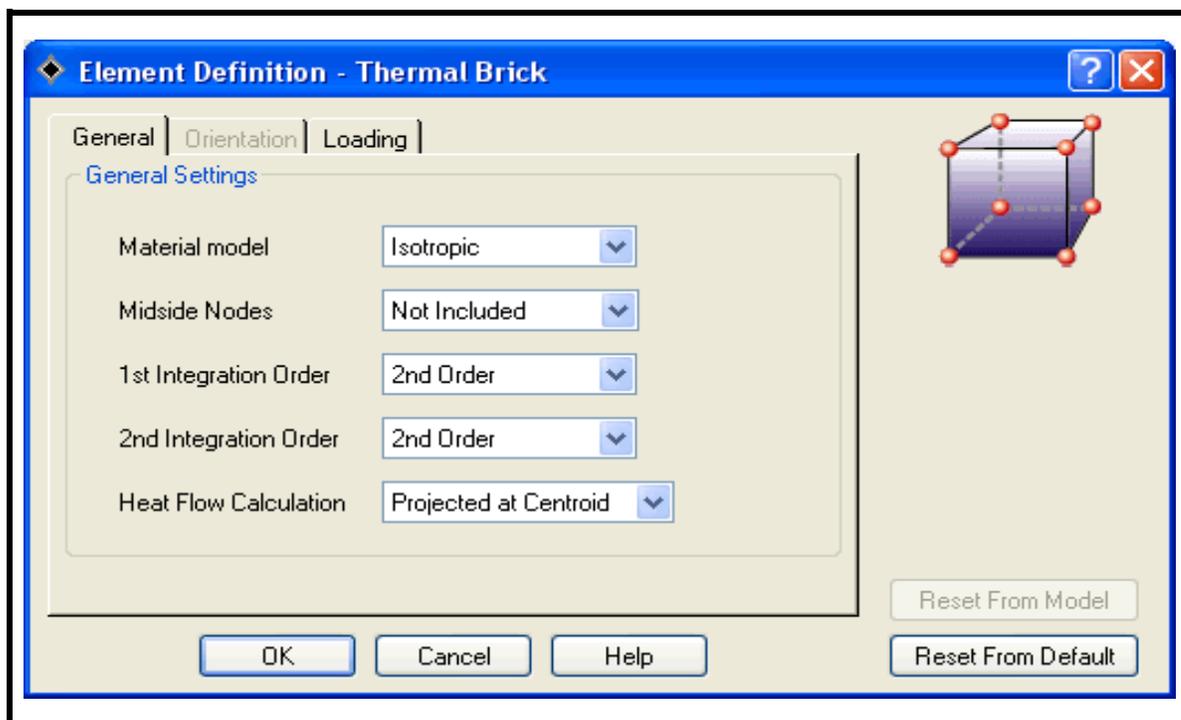


FIGURA 57. Definición de elementos.

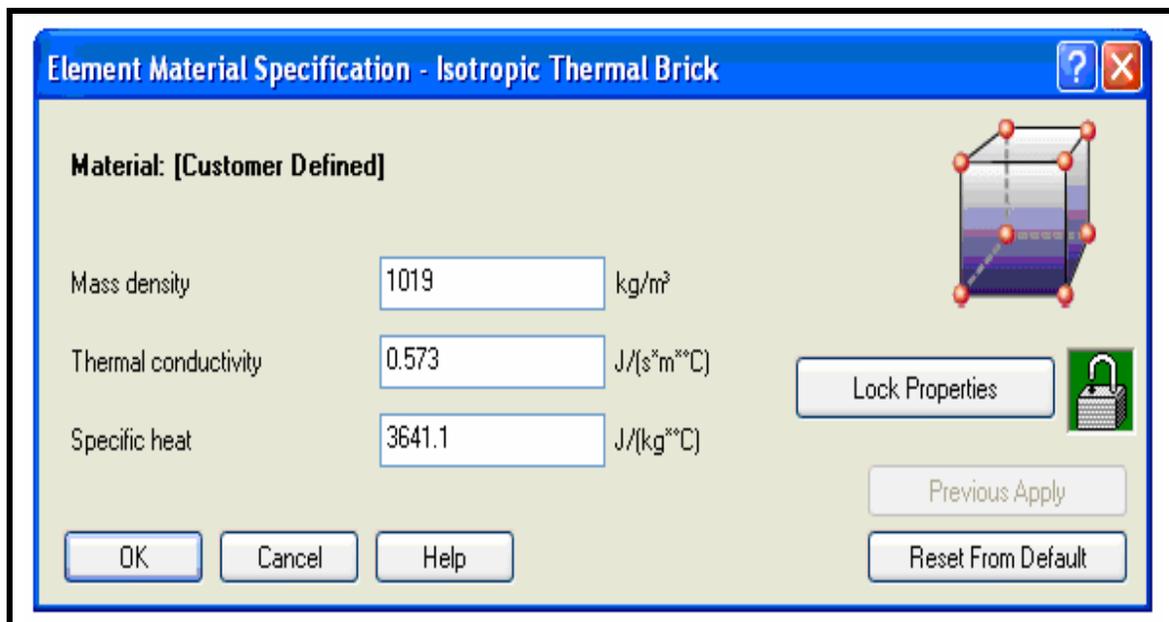


FIGURA 58. Propiedades termofísicas del material seleccionado.

Para realizar la simulación en ALGOR® se utilizaron las propiedades termofísicas a 100 °C (ANEXO I). El modelo matemático (sección 3.4) establece que las propiedades termofísicas son constantes con la temperatura para el rango de trabajo de los tratamientos térmicos.

3.5.2.5 Ingreso de los parámetros de tiempo y temperatura nodal. Consiste en especificar el tiempo total de análisis (*Time*) en segundos, el número de pasos (*Steps*) del tiempo total y el intervalo de salida de los resultados (*Output interval*). Esto determinará la duración en segundos del proceso a simular. En el CUADRO 11 se detallan los parámetros ingresados para el caso particular de un filete de jurel envasado al vacío en bolsas esterilizables (FIGURA 59). La cantidad de número de pasos es obtenida del cociente entre el tiempo total y el tamaño de los pasos deseados.

Durante esta etapa además es ingresada la temperatura nodal por defecto (*Default nodal temperature*) que es la temperatura inicial experimental del producto en estudio (FIGURA 60).

CUADRO 11. Parámetros del caso particular de una de las muestras en estudio.

Tiempo total del análisis (s) (<i>Time</i>)	4832
Número de pasos del tiempo total (<i>Steps</i>)	4832
Intervalo de salida (<i>Output interval</i>)	1

3.5.2.6 Especificación de las cargas de superficie. Es aquí donde se seleccionara el área del modelo donde se aplicarán las cargas, es decir, las superficies donde se verificará la transferencia de calor por convección.

Experimentalmente todas las superficies de la bolsa esterilizable son sometidas primero a la acción del vapor saturado y finalmente a la acción del agua fría. Para cada una de las superficies se definieron el coeficiente global de transferencia de calor (U) y la temperatura del medio (T_{∞}) en función del tiempo, por lo tanto, se utilizaron dos curvas de cargas (*load curve*), para representar su variación durante el proceso de esterilización y enfriamiento (FIGURAS 61 y FIGURA 62).

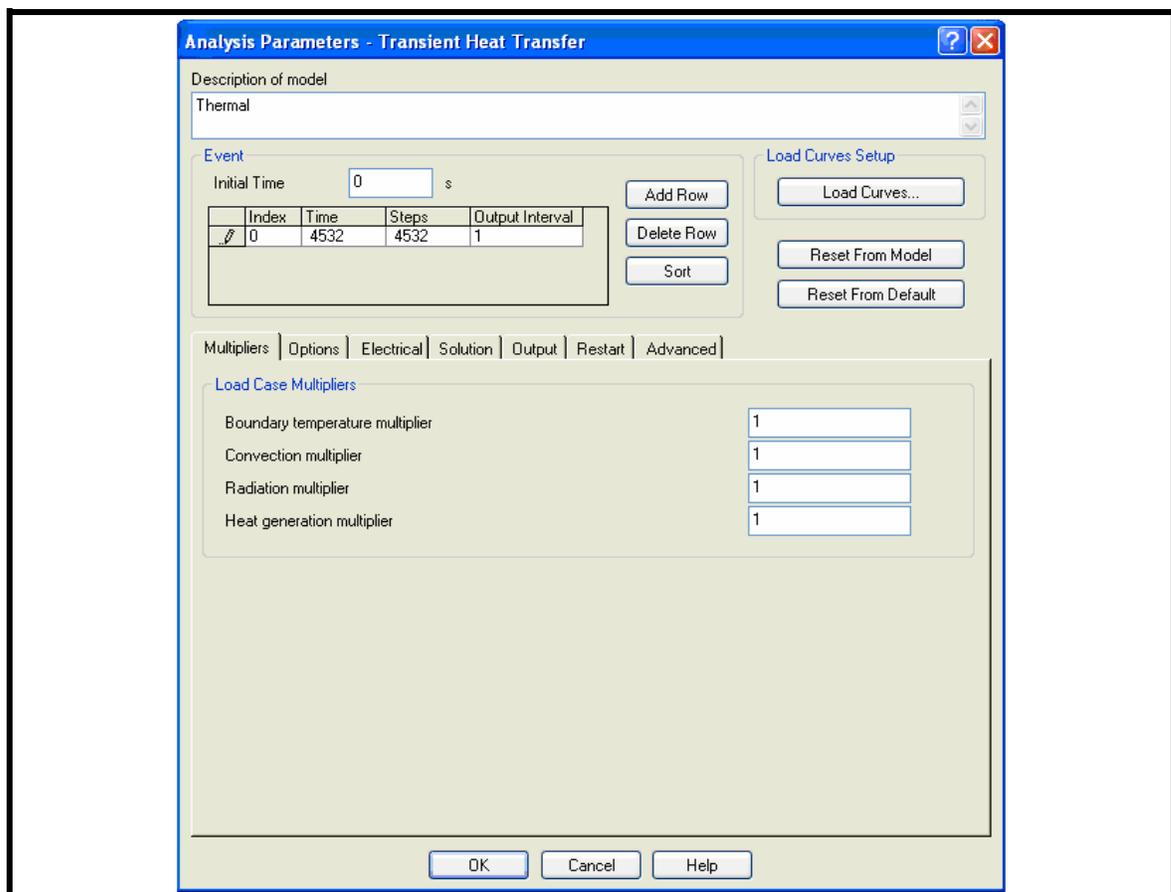


FIGURA 59. Ingreso del tiempo de proceso y paso de tiempo.

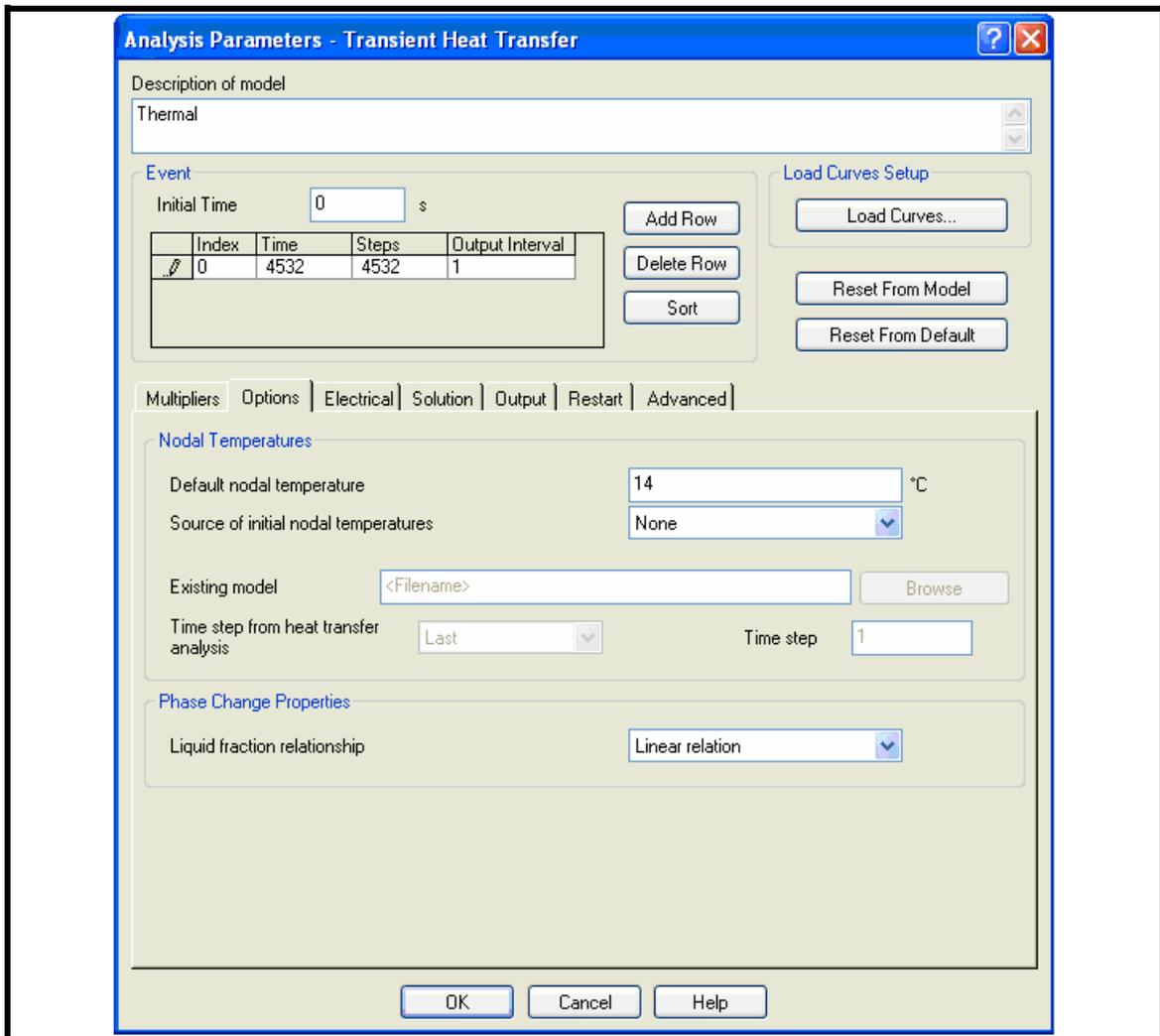


FIGURA 60. Ingreso de la temperatura inicial o nodal del modelo.

Una vez creadas las curvas de carga para la temperatura del medio (**Load Curve 1**) y para el coeficiente global de transferencia de calor (**Load Curve 2**), se procede a asignar ambas curvas al análisis de Elementos Finitos (FIGURA 63). Una vez completado el paso citado, se puede apreciar unos pequeños iconos de forma de “L” y de color amarillo (FIGURA 64) indicando que a esos nodos se han aplicado cargas (*loads*) exitosamente.

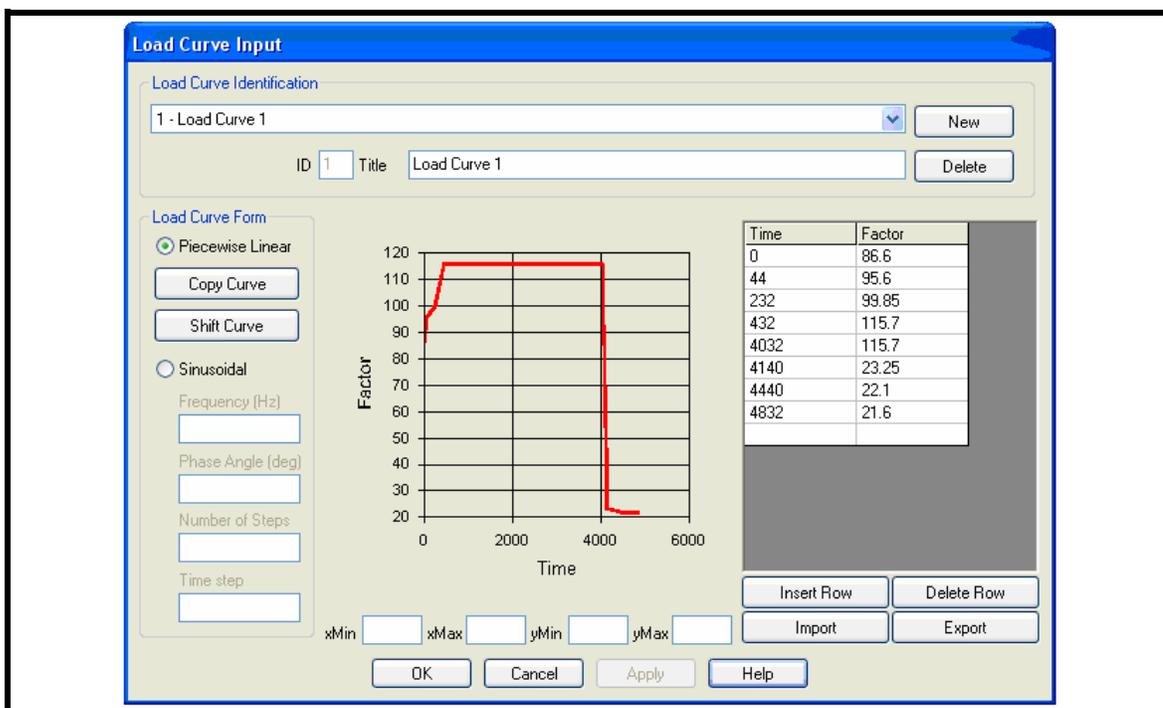


FIGURA 61. Ingreso curva de carga de temperatura del medio, para el proceso de esterilización.

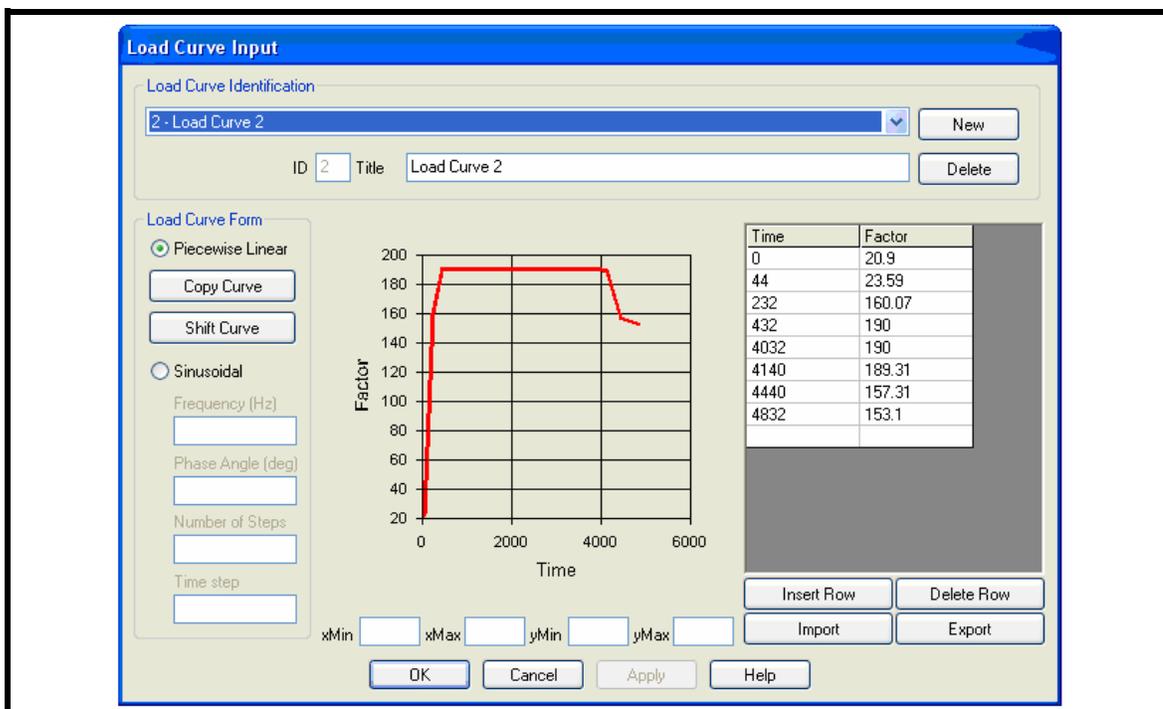


FIGURA 62. Ingreso curva de carga del coeficiente global de transferencia de calor para el proceso de esterilización.

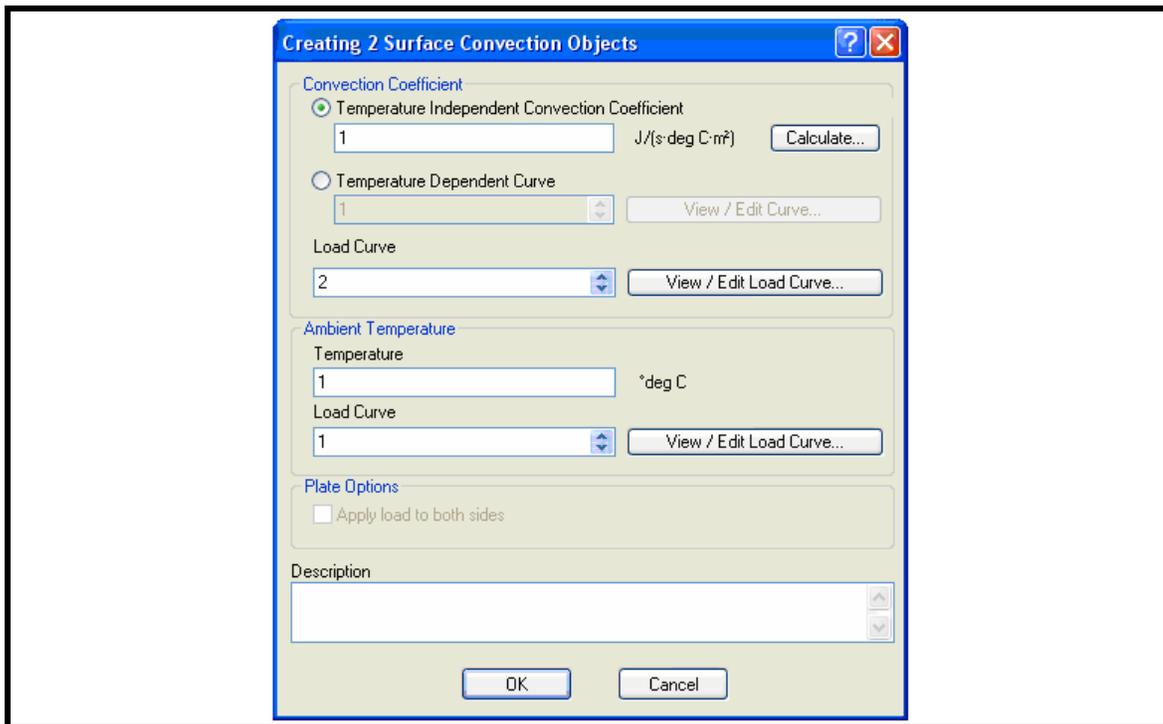


FIGURA 63. Asignación de las curvas de cargas al modelo digital.

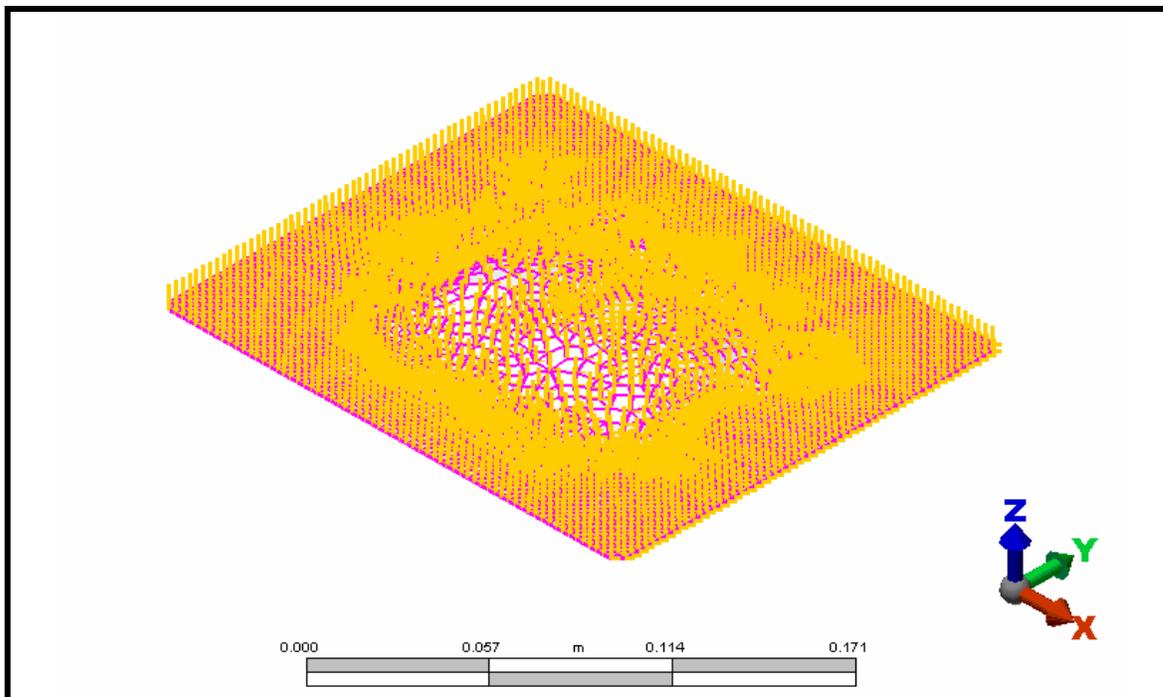


FIGURA 64. Modelo digital con cargas listas para el proceso de simulación térmica.

3.5.2.7 Análisis. Consiste en la ejecución del análisis o simulación numérica una vez que se tienen ingresados todos los datos anteriores. ALGOR® va mostrando el progreso de la simulación en una ventana (FIGURA 65) donde se pueden ir viendo detalles como el paso de tiempo en que se están realizando los cálculos, el tiempo transcurrido, el consumo del disco duro, entre otros.

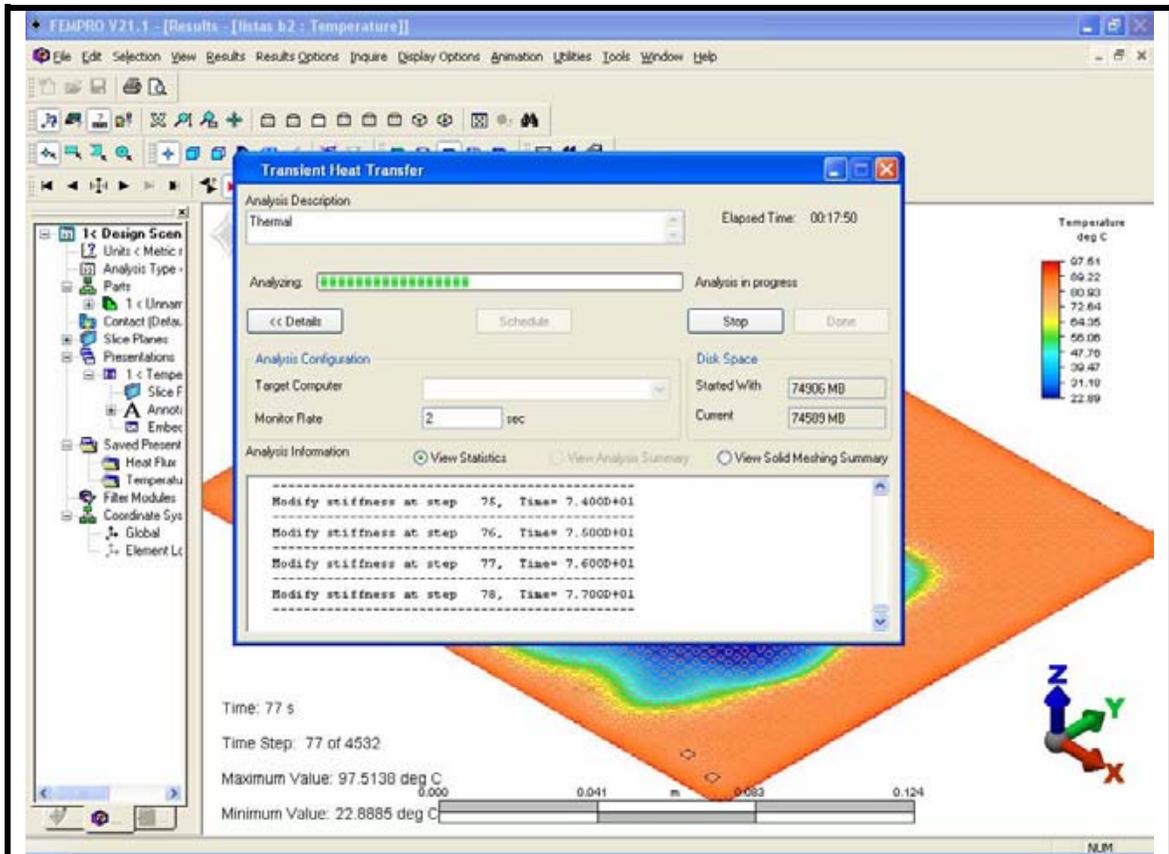


FIGURA 65. Ventana del análisis del proceso en curso.

3.5.2.8 Resultados. Finalizada la simulación del tratamiento de esterilización se realizaron las siguientes acciones para obtener toda la información referente a la simulación térmica:

- Búsqueda de la ubicación física del nodo de la termocupla en el modelo digital a partir de las coordenadas rectangulares (x, y, z) localizadas previamente en el producto mediante rayos X.

- Búsqueda de los nodos correspondientes a los extremos del capilar (E_1 y E_2) en el modelo digital a partir de las coordenadas rectangulares (x, y, z) obtenidas por radiografía.
- Búsqueda del nodo de más lento calentamiento, el cual es obtenido a través de la exportación de datos desde ALGOR® a Microsoft® Excel (en un archivo de extensión *.dat) a intervalos regulares de tiempo. El punto de más lento calentamiento correspondería al nodo que se repite al ordenar todos los nodos de menor a mayor temperatura para cada uno de los intervalos de tiempo evaluados.
- Búsqueda del perfil de temperatura de los nodos ubicados (termocupla, capilar y más frío). Los datos de tiempo temperatura de las etapas de calentamiento y enfriamiento son exportados desde ALGOR® a Microsoft® Excel.

3.6 Ajuste entre las curvas simuladas y experimentales

El ajuste entre las curvas simuladas y experimentales fue expresado mediante el valor estadístico RMSE (Root Mean Square Error, Raíz Cuadrada del Error Cuadrático Medio), el cuál es expresado en forma absoluta ($^{\circ}\text{C}$) y en forma relativa (%) (Ecuaciones 3.11 y 3.12). Los valores experimentales tiempo/temperatura correspondieron al nodo del extremo sensor de la termocupla.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_i^n (T_i - T_i^*)^2}{N}} \quad (3.11)$$

$$\%RMSE = 100 \sqrt{\frac{\sum_i^N \left[\frac{(T_i - T_i^*)}{T_i} \right]^2}{N}} \quad (3.12)$$

donde:

T_i Temperaturas experimentales.

T_i^* Temperaturas simuladas.

N Número total de temperaturas experimentales.

Para la etapa de calentamiento los valores de RMSE (°C) y RMSE (%) se determinaron hasta el momento en que el producto comienza a enfriarse, y para la etapa de enfriamiento estos valores fueron determinados desde cuando el producto comienza a enfriarse hasta el final del proceso. Además, se adoptó un criterio de un valor máximo de 5% para el RMSE (%) (CALIFANO, 1981; CLELAND y EARLE, 1984; ZHANG y CAVALIERI, 1991; MORALES-BLANCAS *et al.*, 1999).

3.7 Estimación del número de microorganismos sobrevivientes en las BIU

En base a lo expuesto en la sección 2.4.3.4, una vez aplicado el tratamiento de esterilización, la estimación de la población de microorganismos sobrevivientes en las BIU se dedujo mediante el número de reducciones decimales (S) para cada punto evaluado de la Unidad Indicadora Biológica. El perfil de tiempo/temperatura de los puntos evaluados de las BIU se obtuvo mediante la Simulación 3D del tratamiento térmico.

Para la obtención del número de reducciones decimales del proceso (S_{proceso}) se utilizó la ecuación (2.10). La obtención del número de microorganismos sobrevivientes (N_i) se obtuvo de la Ecuación (2.9), conociendo la población inicial (N_0).

3.8 Evaluación del proceso térmico

En la literatura especializada, el valor F así como el valor S (número de reducciones decimales) son utilizados para expresar la letalidad o valor

esterilizante de un proceso. El cálculo de los tratamientos térmicos de la presente investigación estuvieron basados en el “*esporulamiento económico*”, es decir, en el esporulamiento de microorganismos que no plantean ningún peligro a la salud pública pero que tienen a menudo resistencia térmica más alta que el *C. botulinum* (TOLEDO, 1991).

Para calcular los diferentes valores de F_0 de proceso se utilizaron los perfiles de tiempo/temperatura del punto más frío de cada filete de jurel (PÉREZ, 2007; NAVARRO, 2007). Estos datos fueron obtenidos de la simulación de procesos térmicos para la inactivación de esporas de *G. stearothermophilus*.

El valor del F_0 de proceso se calculó mediante la siguiente ecuación (MORALES-BLANCAS y TORRES, 2003b):

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

Para evaluar el proceso térmico por etapas de calentamiento y enfriamiento se utilizó la siguiente ecuación:

$$\left(F_{T_{ref}}^Z\right)_{proceso} = \int_{t_0}^{t_g} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} + \int_{t_g}^{t_f} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (3.14)$$

y, para evaluar el tratamiento térmico para las temperaturas sin ($T < 100$ °C) y con importancia letal ($T > 100$ °C) se utilizó la siguiente ecuación:

$$\left(F_{T_{ref}}^Z\right)_{proceso} = \int_{t_0}^{t_{<100^{\circ}C}} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} + \int_{t_{\geq 100^{\circ}C}}^{t_g} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} + \int_{t_g}^{t_{\geq 100^{\circ}C}} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} + \int_{t_{<100^{\circ}C}}^{t_f} \frac{dt}{10^{(T_{ref}-T(t))/z}} \quad (3.15)$$

donde:

t_0 Tiempo inicial del proceso (min)

t_{CUT}	Tiempo de elevación de la temperatura (min)
$t_{Operador}$	Tiempo del Operador (min)
t_{Enf}	Tiempo de inicio del enfriamiento (min)
t_g	Tiempo final a la temperatura de esterilización e inicio del enfriamiento (min)
$t_{<100^{\circ}C}$	Tiempo en que el producto alcanza los 100°C (min)
$t_{>100^{\circ}C}$	Tiempo en que el producto sobrepasa los 100°C (min)
t_f	Tiempo final del proceso de esterilización (min)

Para calcular el F_0 se utilizó el método de integración numérica del trapecio (CHAPRA y CANALE, 1988).

El tiempo de tratamiento térmico se determinó fijando el tiempo de operador para un ciclo completo de calentamiento y enfriamiento, en la cual se verifique que:

$$\left(F_{Tref}^Z\right)_{proceso} \approx \left(F_{Tref}^Z\right)_{requerido} \quad (3.16)$$

En base a la Ecuación (3.16), y lo citado en la sección 2.4.4, se podría determinar la letalidad en forma adimensional a partir de los datos tiempo-temperatura para los puntos correspondientes a la ubicación de la termocupla, los extremos del capilar bioindicador, y del punto de más lento calentamiento/enfriamiento de la siguiente forma:

$$Letalidad = \frac{F_{proceso}}{F_{requerido}} = \frac{S_{proceso}}{S_{requerido}} \quad (3.17)$$

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados del estudio conducente a la factibilidad del uso de Unidades Indicadores Biológicos (BIU) de *Geobacillus stearothermophilus* para la evaluación de los tratamientos de esterilización de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables. Se postula que las BIU pueden utilizarse como método de verificación de los estudios de penetración de calor realizados por las plantas procesadoras de conservas de baja acidez.

4.1 Concentración inicial de la Unidad Indicadora Biológica

El promedio de la concentración de esporas de *G. stearothermophilus* de la solución madre fue de $1,69 \times 10^5 \pm 0,24 \times 10^5$ esporas/ml ($\log 5,22 \pm 0,06$), $3,37 \times 10^5 \pm 0,47 \times 10^5$ esporas/ampolla, la que no concuerda totalmente con el rango característico de la ampolla bioindicador **Sterikon® plus** indicados en la ficha técnica respectiva, $5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ (MERCK, 2006).

A partir del recuento obtenido de la concentración de la solución madre y en base a lo establecido en la literatura especializada (TOLEDO, 1991; PFLUG 1987), fue posible estimar la dosis necesaria de suspensión de esporas para la confección de las Unidades Indicadoras Biológicas, siendo de 10 μ L. Así, el promedio de los recuentos obtenidos a partir de esta dosis fue de $2,0 \times 10^3 \pm 0,18 \times 10^3$ esporas/BIU ($\log 3,30 \pm 0,04$). Los resultados de los recuentos de la solución madre y de las BIU se detallan en el ANEXO II.

4.2 Determinación de la influencia de la BIU en la distribución de temperatura durante el tratamiento térmico

Las curvas experimentales obtenidas de los datos de las termocuplas ubicadas

al exterior e interior de las Unidades Indicadoras Biológicas, para un tratamiento térmico ad-hoc de 116 °C x 42 min, se presentan en las FIGURAS 66, 67 y 68 observándose una superposición gráfica. Al respecto, los valores de diferencia relativa de F_0 y S , calculados a partir de los perfiles de temperatura correspondientes a las termocuplas, no sobrepasaron el 5,6% (CUADRO 12).

En base a los resultados obtenidos queda demostrado que el material de la BIU, en este caso vidrio borosilicato, no presentó resistencia térmica importante frente a la velocidad de penetración de calor. En este contexto, se puede considerar que el efecto esterilizante del tratamiento térmico, expresado como el número de ciclos logarítmicos reducidos (S) en la BIU, no se verá afectado por el material y tamaño de la BIU.

CUADRO 12. Valores de F_0 y S obtenidos para los datos tiempo-temperatura de las BIU.

Muestra	Ubicación termocupla en la BIU	F_0 (min)	S	Diferencia relativa (%)
1	Exterior	7,51	3,76	5,593
	Interior	7,09	3,55	
2	Exterior	7,47	3,74	4,819
	Interior	7,11	3,56	
3	Exterior	6,63	3,32	1,357
	Interior	6,54	3,27	

4.3 Simulación de los tratamientos térmicos aplicados

Los tiempos de los tratamientos térmicos, aplicados a los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, se determinaron mediante

simulación térmica para cumplir con los criterios de *Esporulación Económico* para productos que serían almacenados y distribuidos en áreas a temperatura ambiente.

Para la estimación de los valores de $(F_0)_{\text{requerido}}$ se utilizó el valor D_0 correspondiente al valor que implicaría una mayor termorresistencia ($D_0 = 2,0$ min) reportado por MERCK (2006). En el CUADRO 13 se reportan los valores de $(F_0)_{\text{requerido}}$ para diferentes ciclos logarítmicos a reducir durante los tratamientos térmicos.

CUADRO 13. Valores de $(F_0)_{\text{requerido}}$ para alcanzar diferentes efectos esterilizantes (S) de los tratamientos térmicos.

Parámetros	Número de ciclos logarítmicos (S)		
	4	5	6
D_0 (min)	2,0		
N_0 (esporas/BIU)	2×10^3		
N_F (esporas/BIU)	2×10^{-1}	2×10^{-2}	2×10^{-3}
F_0 (min)	8,0	10,0	12,0

En base a los datos del CUADRO 12, para la presente investigación se definieron dos tratamientos **A** y **B** (CUADRO 14), el primero para cumplir un valor esterilizante o número de reducciones decimales (S) de 4, y el segundo para un valor S de 5. Los tiempos de procesamiento (CUT y Tiempo del Operador) se determinaron por simulación para las muestras de mayor tamaño (relación volumen/área).

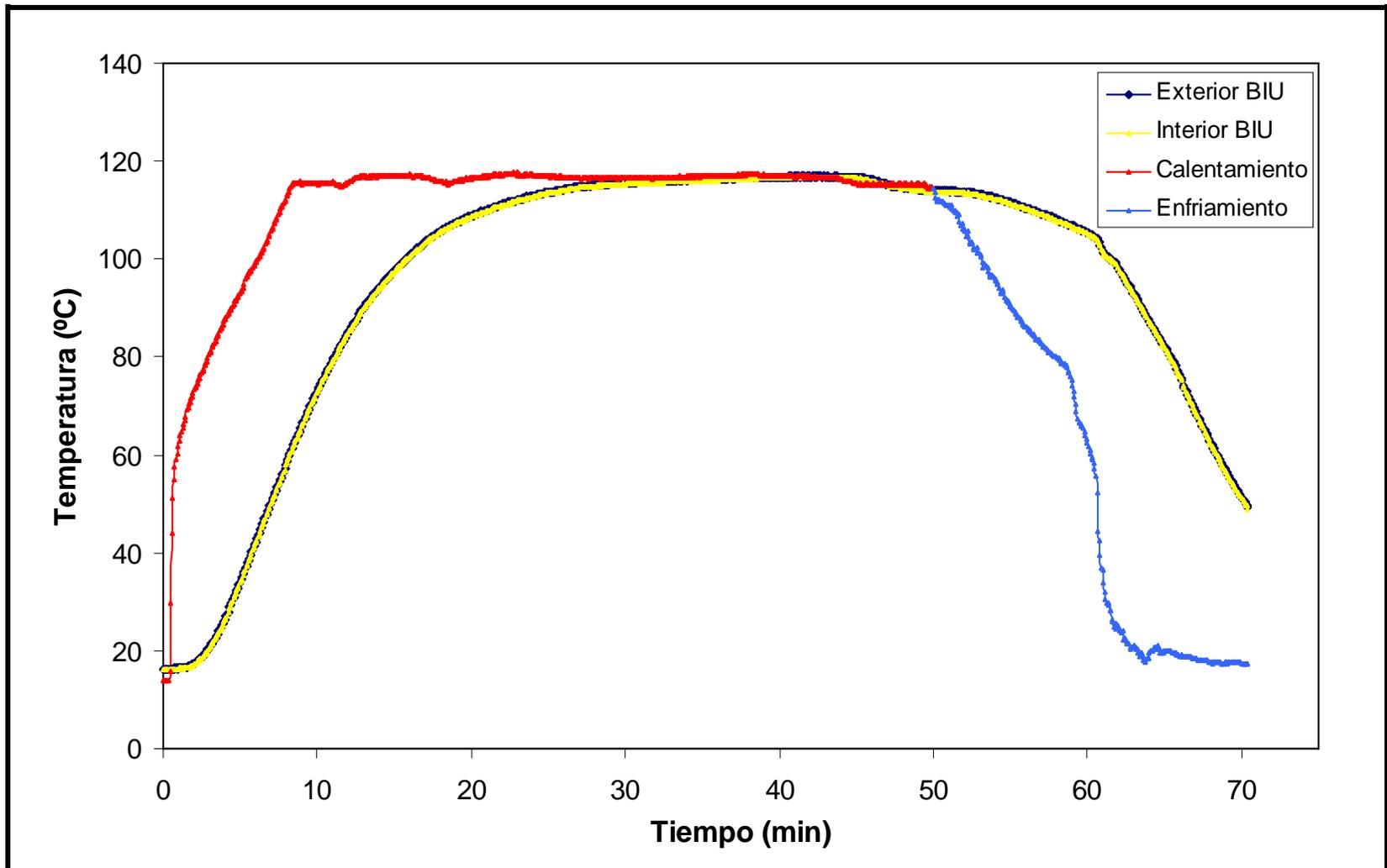


FIGURA 66. Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 1.

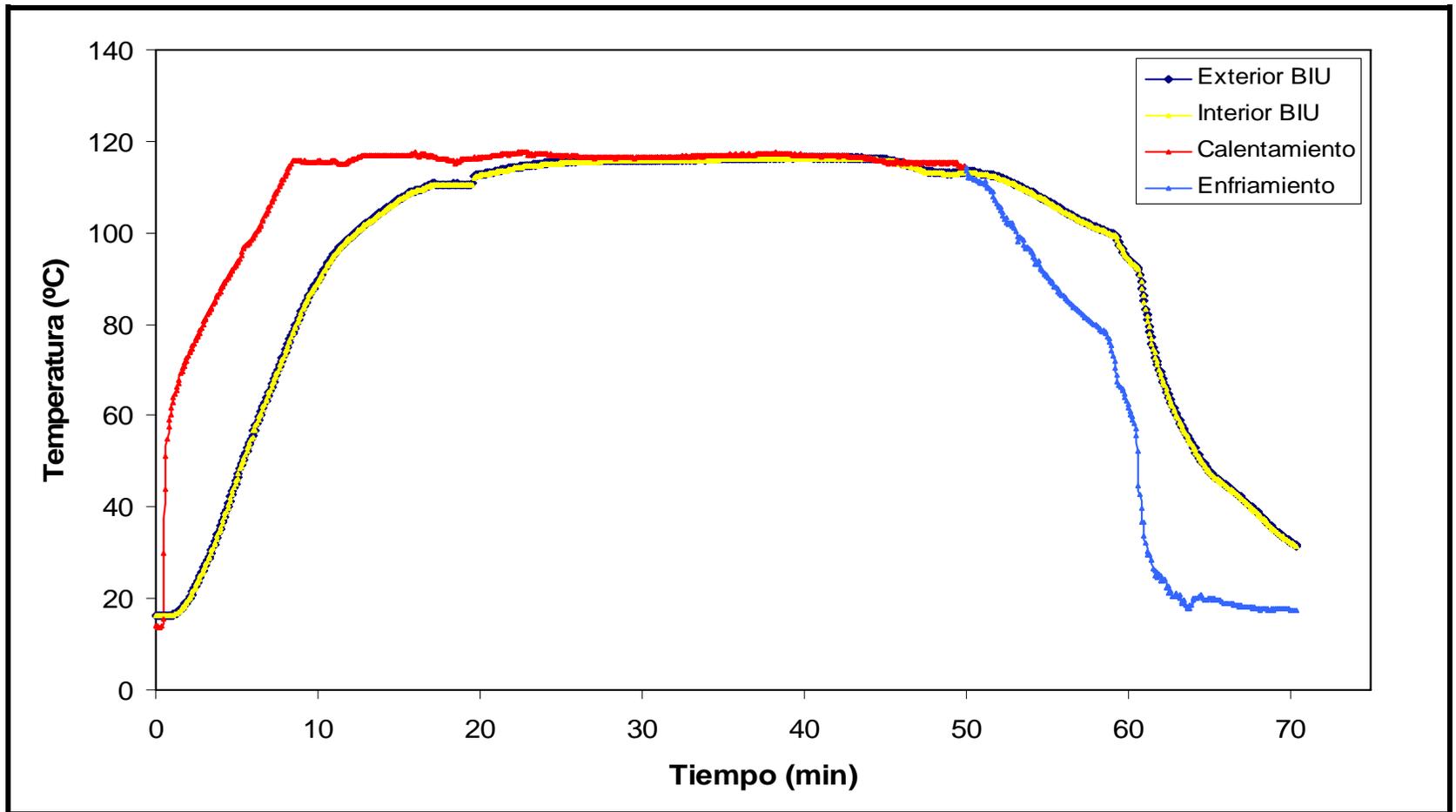


FIGURA 67. Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 2.

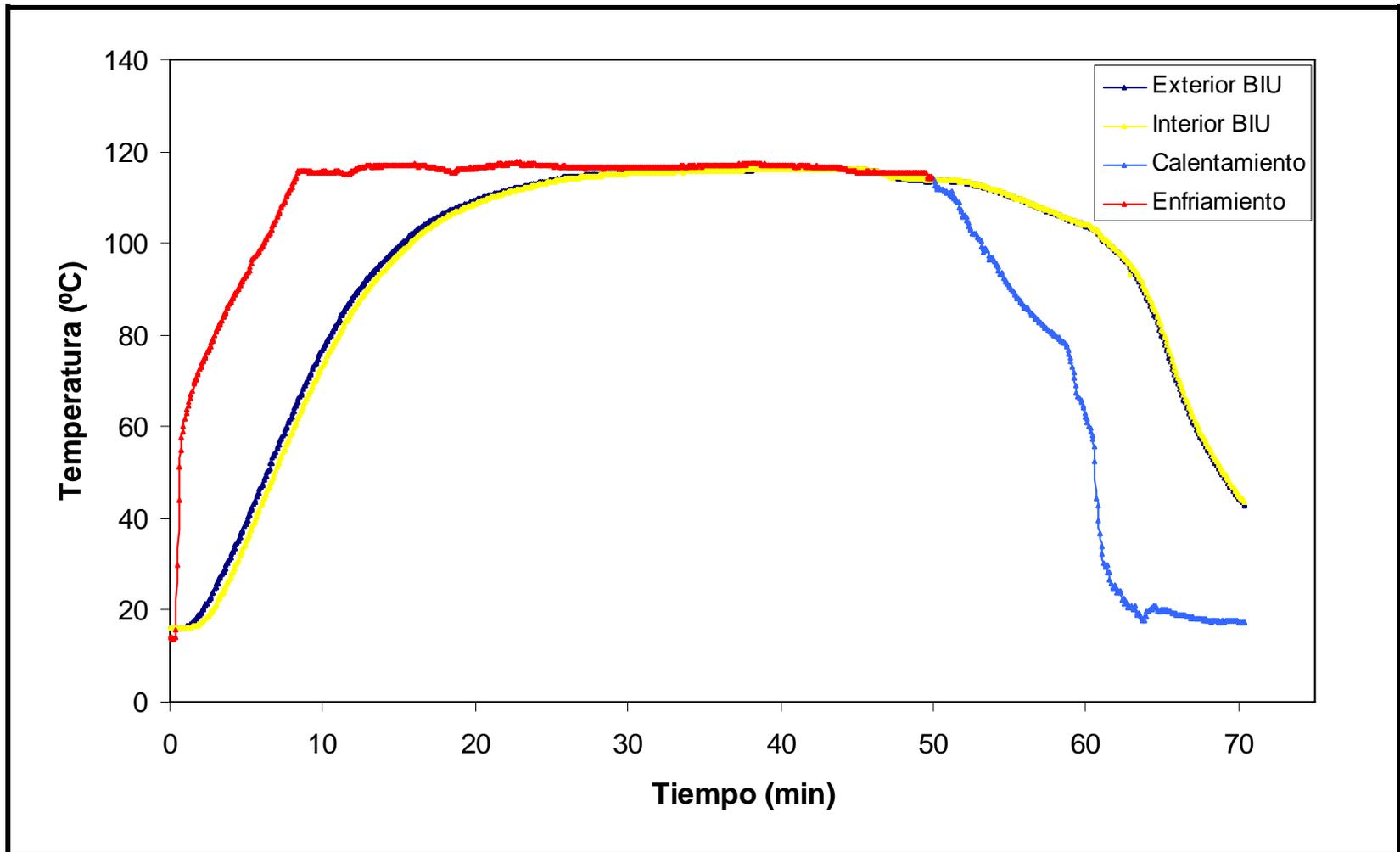


FIGURA 68. Perfiles de temperatura de las termocuplas ubicadas al exterior e interior de la BIU de la muestra 3.

Para realizar las simulaciones de los tratamientos térmicos para cada muestra de jurel envasado al vacío en bolsa esterilizable, primeramente fue necesario obtener una réplica digital del modelo físico para luego ser sometido a un Análisis y Simulación por el Método de Elementos Finitos de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 3.5.

CUADRO 14. Caracterización del proceso térmico.

Tratamiento	Temperatura de autoclave (°C)	Tiempo elevación de temperatura, CUT (min)	Tiempo del operador (min)	Muestras tratadas
A	116 ± 0,5	8 a 9	55	3
B			60	3
Número de experiencias				6

4.3.1 Modelo digital 3D. Todas las muestras de los tratamientos fueron digitalizadas y modeladas geométricamente de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 3.5.1. Los modelos digitales 3D generados en Rhinoceros® a partir de cada una de las bolsas de jurel analizadas muestran que cada modelo difiere uno de otro en cuanto a su forma y parámetros de tamaño, área superficial y volumen (CUADRO 15).

En las FIGURAS 69 y 70 se muestran los modelos digitales de las muestras A-II y B-II. El resto de los modelos digitales (se pueden encontrar en el ANEXO III. De acuerdo a los datos mostrados en el CUADRO 15 las muestras filetes A-II y B-II son las de mayor dimensión característica (L^*), por lo tanto constituirían la condición mas adversa de acuerdo a la teoría de velocidad de penetración de calor.

CUADRO 15. Parámetros de tamaño de las muestras evaluadas.

Muestra	Área superficial (cm ²)	Volumen (cm ³)	$L^* = \frac{\text{Volumen}}{\text{Area}}$ (cm)
A-I	283,10	82,38	0,29
A-II	263,19	102,57	0,39
A-III	260,32	95,32	0,37
B-I	308,20	98,89	0,32
B-II	228,41	76,78	0,34
B-III	310,85	98,78	0,32

4.3.2 Modelo mallado, FEA. El mallado del modelo digitalizado y modelado en Rhinoceros® es una de las etapas más complejas para realizar un análisis de transferencia de calor por el Método de Elementos Finitos en ALGOR®. Si el modelo digital no se encuentra perfecto o en correctas condiciones desde el punto de vista de uniones, bordes, ejes, etc, el modelo digital no será mallado para un análisis FEA (NAVARRO, 2007). Por lo tanto, el hecho que ALGOR® haya podido generar la malla indica que el modelo digital capturado es válido para su posterior análisis.

El tamaño absoluto promedio de malla aplicado para todos los casos fue de 3 mm. Este tamaño fue determinado por PÉREZ (2007) en base a un análisis de convergencia numérica para cortes de jurel envasados en bolsas esterilizables de tamaño individual similares al utilizado en la presente investigación.

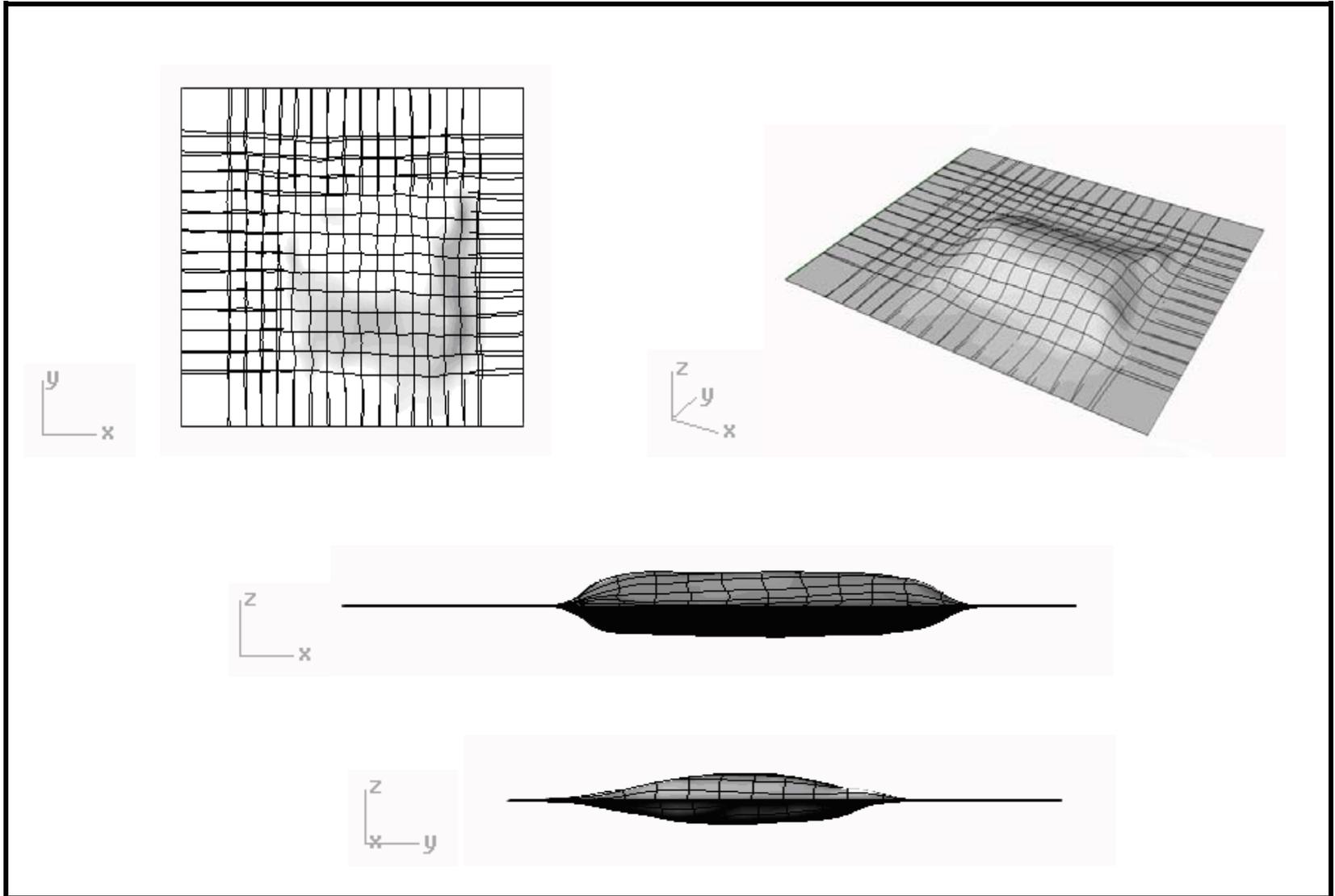


FIGURA 69. Modelo digital 3D de la muestra A-II visualizado en distintos planos.

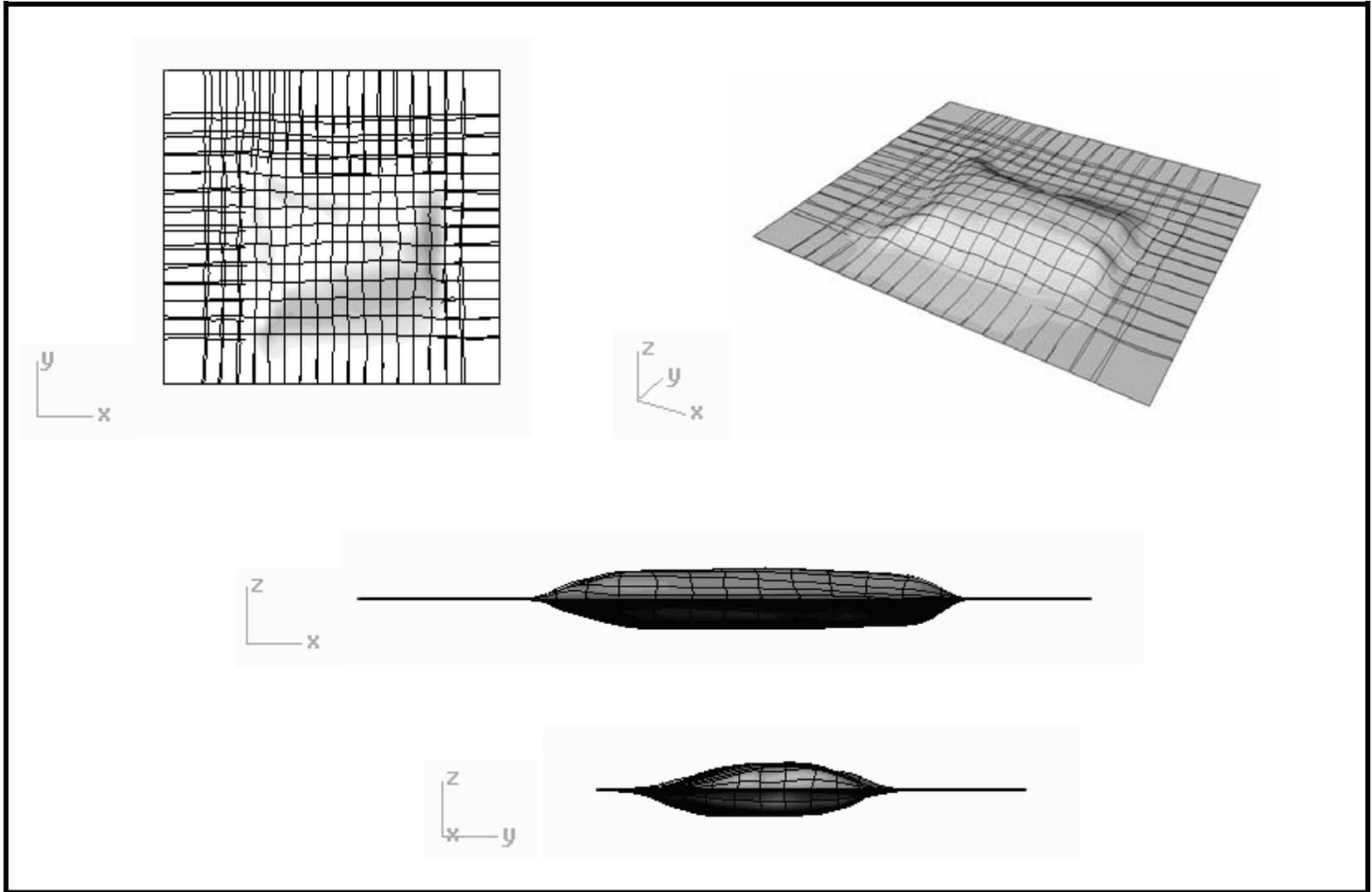


FIGURA 70. Modelo digital 3D de la muestra B-II visualizado en distintos planos.

Los modelos digitales de los filetes de jurel (A-II y B-II), con su respectiva malla generada en ALGOR®, se pueden observar en las FIGURAS 71 y 72. El resto de los modelos mallados FEA se pueden ver en el ANEXO IV.

En el CUADRO 16, se presentan las estadísticas resultantes de los modelos digitales analizados en ALGOR®, estas comprenden principalmente el número y tipo de elementos (tetraedros, pirámides, cuñas y ladrillos), así como el número de nodos generados, gasto computacional, y tiempo de simulación (tiempo de ejecución del programa). En relación a los datos obtenidos se puede verificar que cada objeto físico es único (LAN y FANG, 2003) difiriendo uno de otro en cuanto a su forma y tamaño, lo que se ve reflejado en la cantidad y el tamaño de elementos, y estos a su vez, en el número de nodos generados y en los tiempos de simulación. Dependiendo del modelo analizado, ALGOR® generó en algunos casos, solo dos tipos de elementos, tetraedros y pirámides (muestra A-I). Los tipos de elementos pueden visualizarse en la FIGURA 14.

4.3.3 Diagrama de contorno. Una vez finalizada la simulación del tratamiento térmico a través de ALGOR® es posible obtener una serie de datos del modelo en estudio. Uno de ellos es el diagrama de contorno, que permite visualizar como ocurre la penetración de calor durante el proceso térmico de cada muestra. Este diagrama además permite visualizar, en diferentes escalas de colores, la variación de la temperatura en el dominio a través del tiempo de proceso. En las FIGURAS 73 y 74, puede observarse el corte aplicado en el plano (XZ) a la altura del punto de más lento calentamiento/enfriamiento de las muestras A-II y B-II, respectivamente. También se puede observar como el diagrama de contorno va cambiando de color desde el centro hacia los extremos de cada muestra. En el ANEXO V se pueden encontrar los diagramas de contorno del resto de las muestras evaluadas.

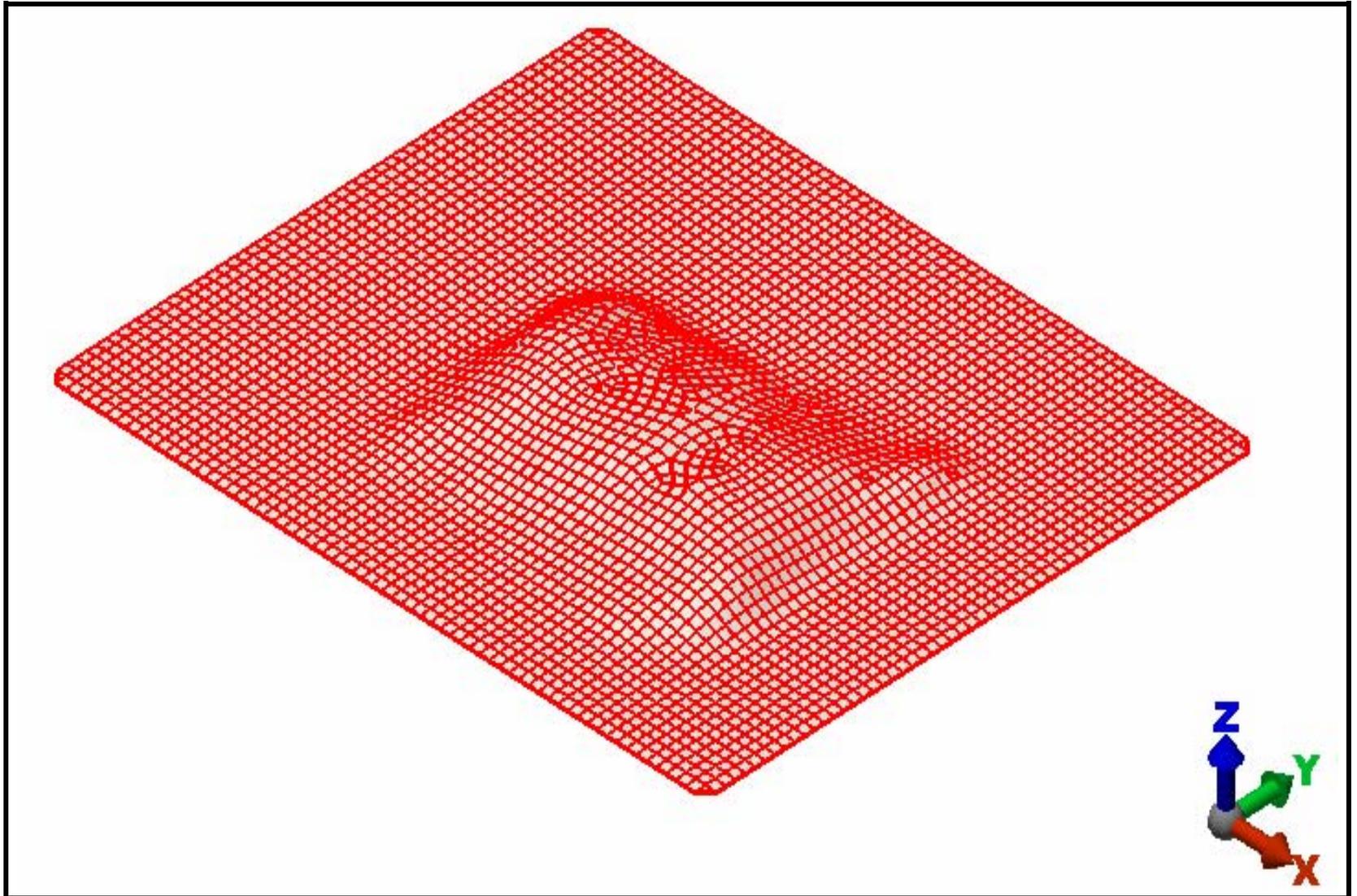


FIGURA 71. Modelo mallado (FEA) de la bolsa A-II.

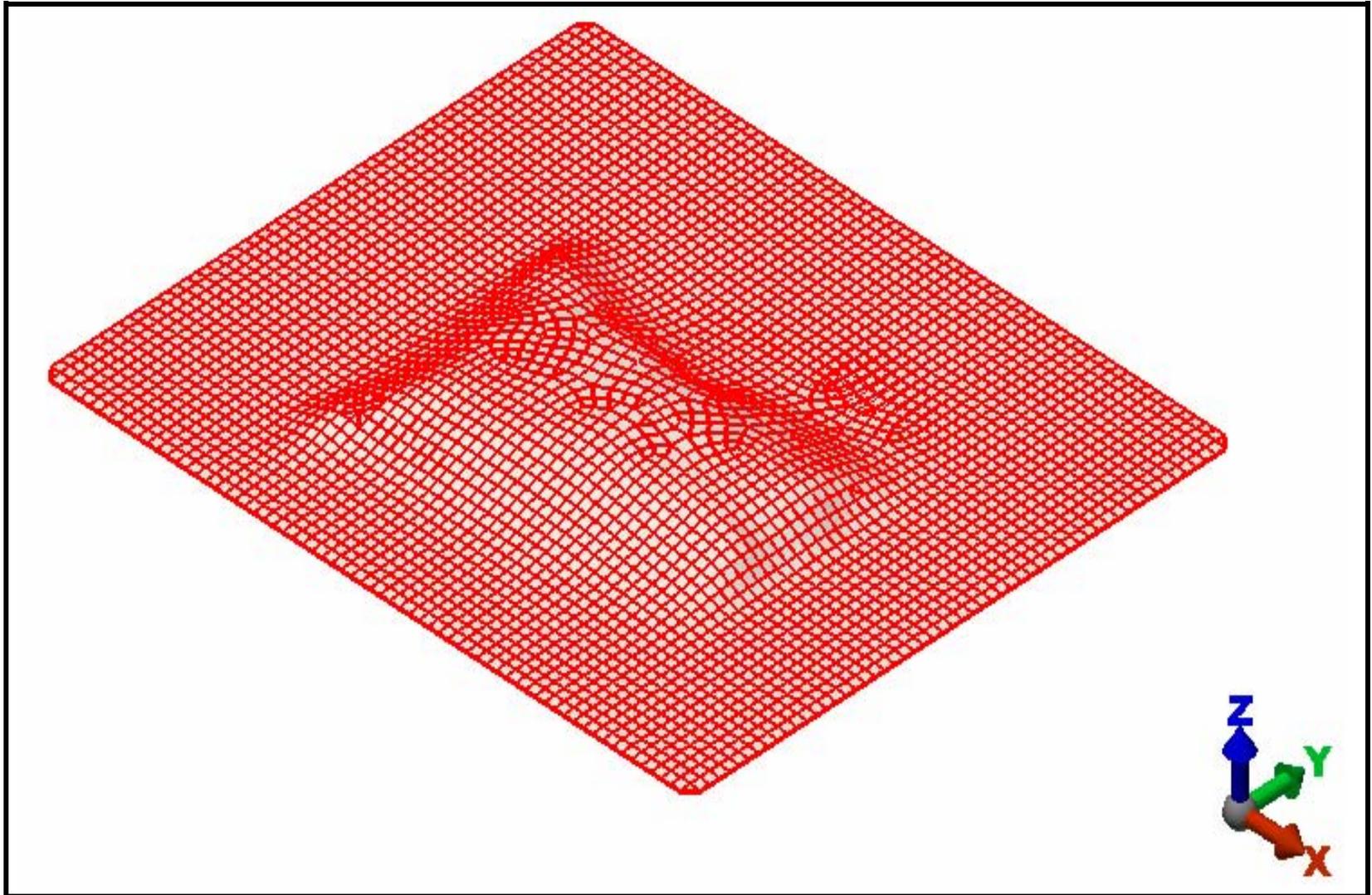


FIGURA 72. Modelo mallado (FEA) de la bolsa B-II.

CUADRO 16. Estadísticas de los modelos digitales de filetes de jurel en bolsas esterilizables.

Muestras		A-I	A-II	A-III	B-I	B-II	B-III
Número de nodos		22784	18148	17987	18116	18779	18311
Número de elementos	Tetraedros	40567	21185	20118	19073	20187	19996
	Pirámides	2754	2830	3953	3391	2783	2314
	Cuñas	0	435	727	640	599	608
	Ladrillos	0	3259	3925	3886	4592	3375
	TOTAL	43321	27709	28723	26990	28161	26293
HDD total (Gb)		8,98	6,64	7,01	7,07	7,41	7,93
Tiempo de simulación (h)		19,83	12,66	13,24	14,78	13,99	15,10

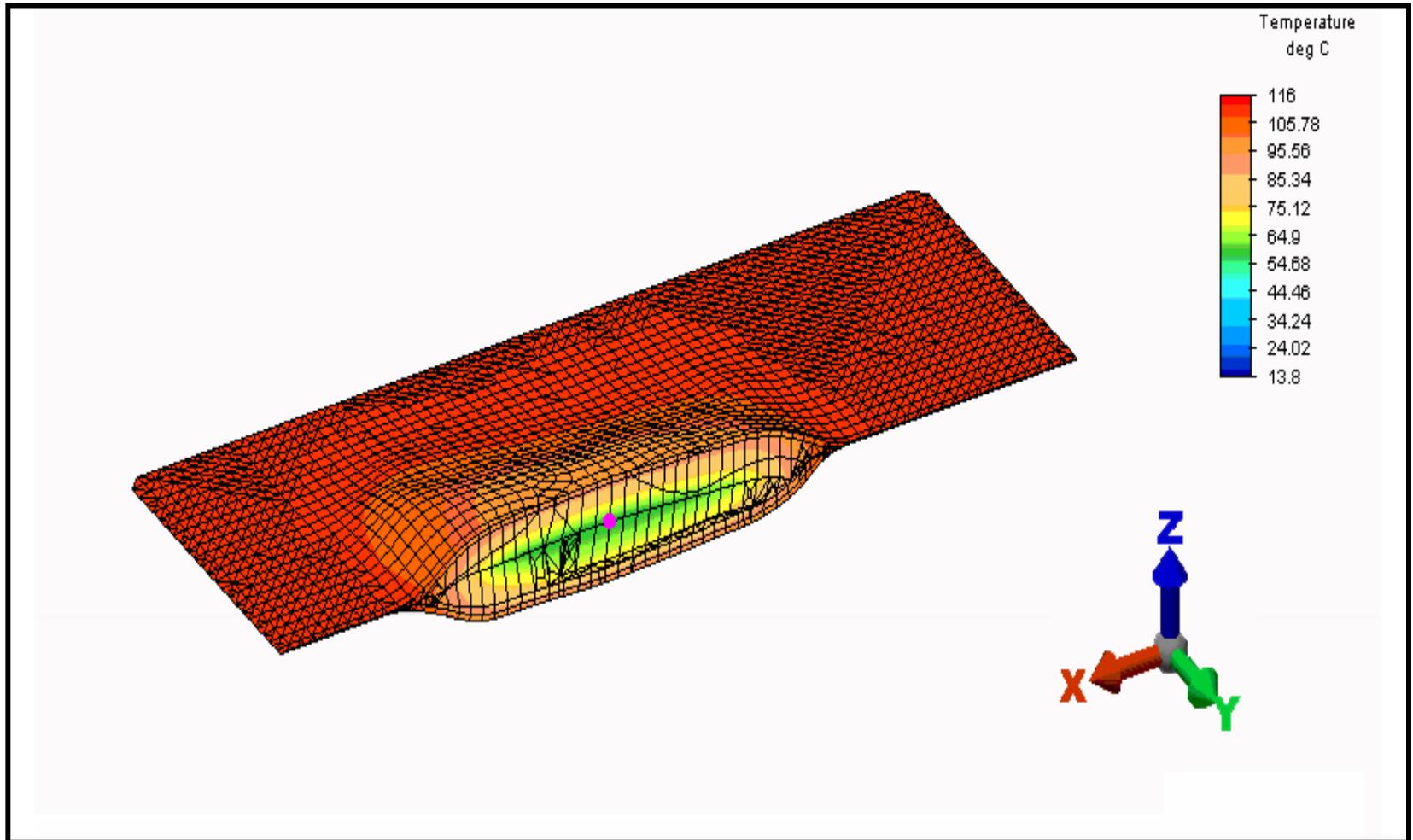


FIGURA 73. Corte longitudinal del diagrama de contorno de la bolsa A-II.

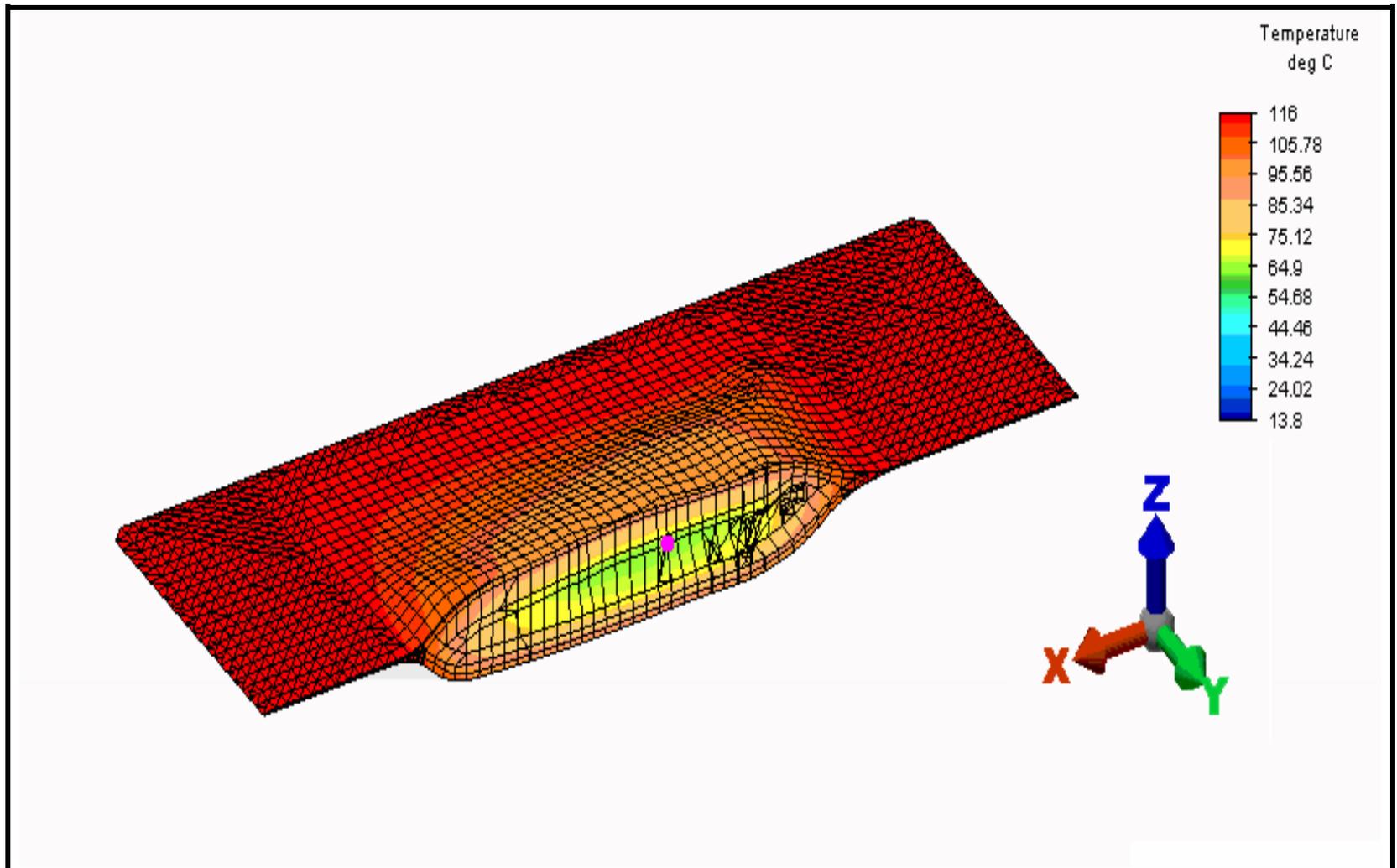


FIGURA 74. Corte longitudinal del diagrama de contorno de la bolsa B-II.

4.4 Comparación de perfiles de temperatura experimentales y simulados

En la FIGURAS 75 y 76 se presentan los perfiles de temperatura experimentales de las muestras sometidas a los tratamientos de esterilización de 55 y 60 min, respectivamente. Como se puede observar las curvas de penetración de calor obtenidas para cada tratamiento, representan las curvas típicas de un tratamiento de esterilización en conservas de baja acidez, sin embargo, esto no refleja que el extremo sensible de la termocupla haya sido inserta en el centro térmico o en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento de las muestras analizadas.

En el caso de los perfiles de temperatura del Tratamiento **A** (116 °C x 55 min), se observa cierta uniformidad en ellas para todas las muestras, mientras que en el caso del Tratamiento **B** (116 °C x 60 min) se observa diferencias en las curvas reflejando que la termocupla de la muestra B-I estaría mas cerca al centro térmico del producto mientras que las termocuplas correspondientes a las muestras B-II y B-III se encontrarían más cerca de la superficie del producto.

4.4.1 Ubicación del extremo sensible de las termocuplas. Las termocuplas insertas en la zona de mayor espesor de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables se localizaron por medio de radiografías en los planos XY y XZ. Éstas se pueden observar en las FIGURAS 77 y 78 de las muestras A-II y B-II, respectivamente. Las radiografías del resto de modelos se pueden encontrar en el ANEXO VI.

4.4.2 Ajuste entre curvas simuladas y experimentales. Una vez encontradas las coordenadas (x, y, z) de las termocuplas (CUADRO 17) y las BIU, a partir de las radiografías, se realizó la búsqueda del nodo correspondiente para cada modelo analizado en ALGOR®. En el ANEXO VII se presenta los nodos pertenecientes a cada termocupla y extremos de las BIU de todas las muestras tratadas.

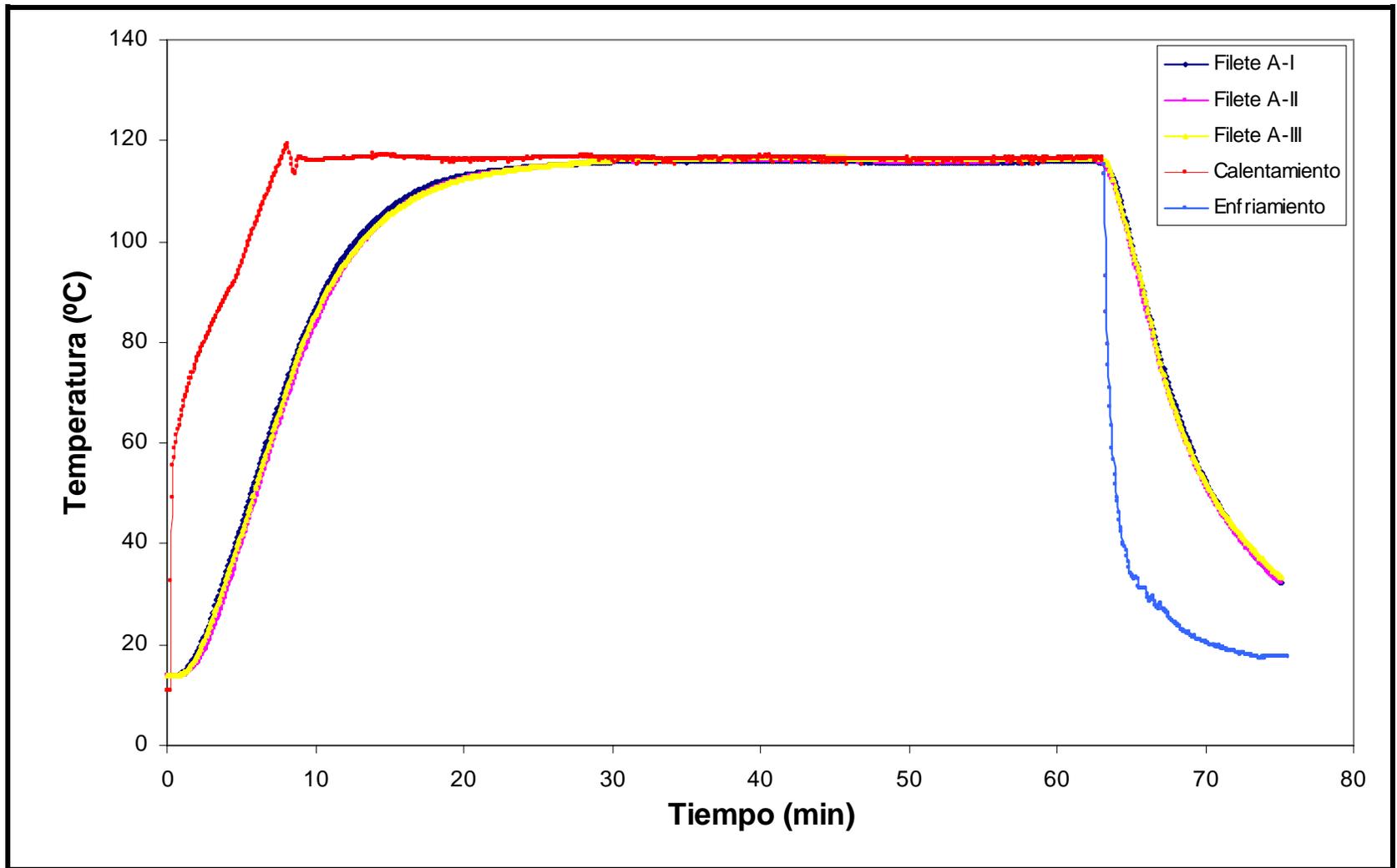


FIGURA 75. Curvas experimentales del tratamiento de esterilización “A” (116 °C x 55 min) de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.

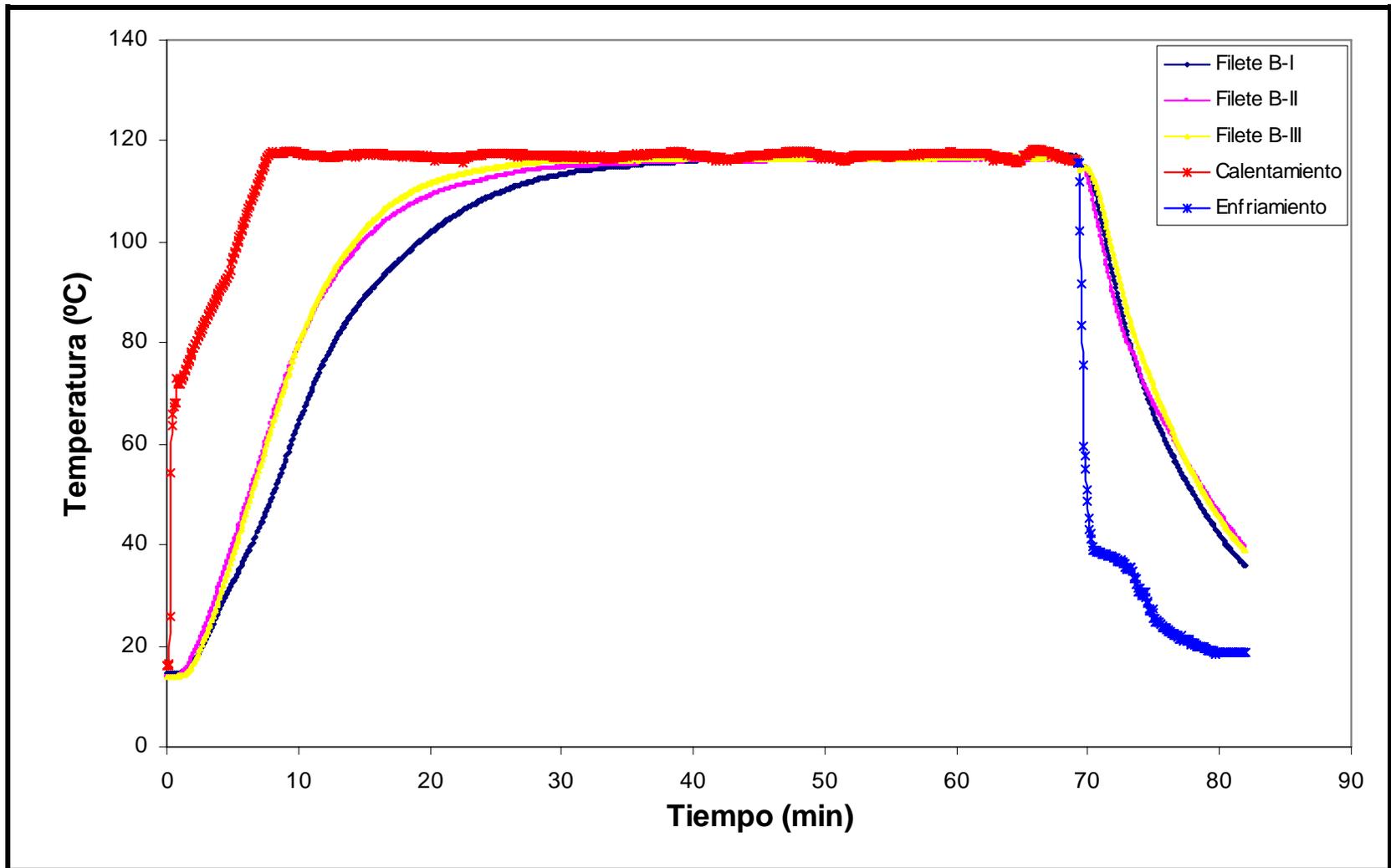


FIGURA 76. Curvas experimentales del tratamiento de esterilización “B” (116 °C x 60 min) de los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables.

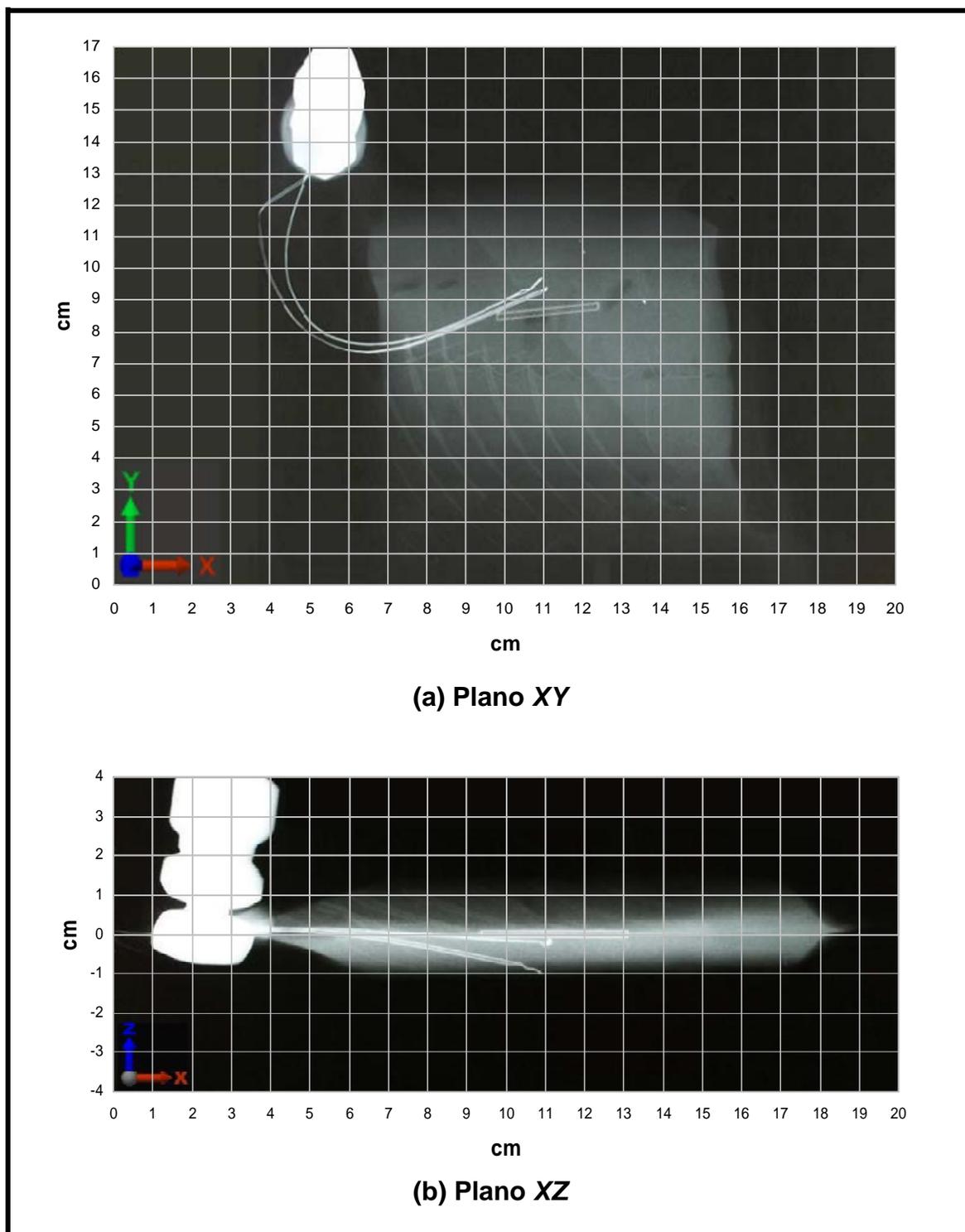


FIGURA 77. Ubicación de las coordenadas (x, y, z) de las termocuplas y de la BIU por medio de radiografía para la muestra A-II.

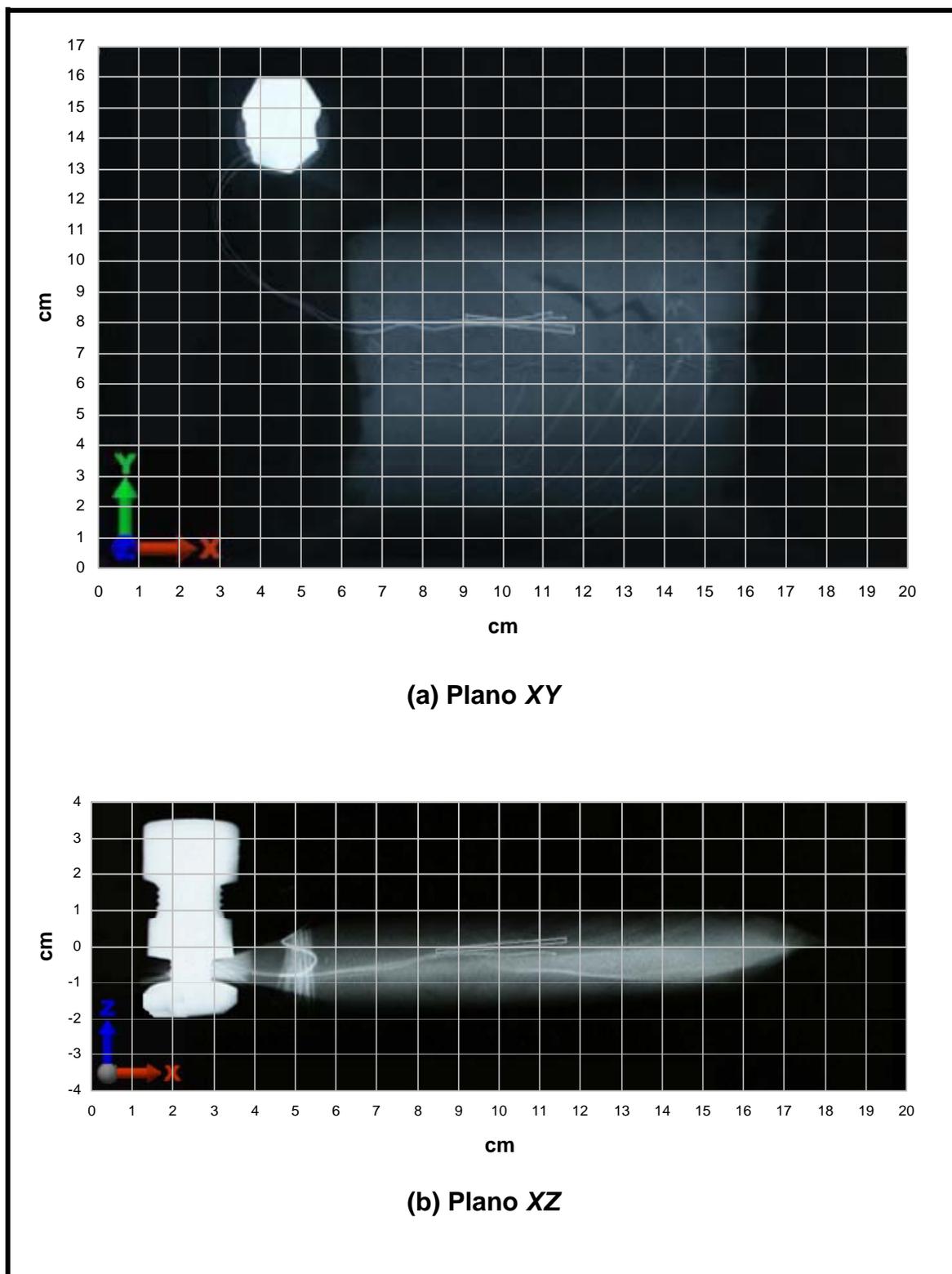


FIGURA 78. Ubicación de las coordenadas (x, y, z) de las termocuplas y de la BIU por medio de radiografía para la muestra B-II.

CUADRO 17. Coordenadas (x, y, z) de las termocuplas para las muestras evaluadas.

Muestra	Termocupla	Coordenadas nodo (m)		
		x	y	z
A-I	1	0,12513400	0,08175720	-0,00001336
A-II	1	0,11189600	0,09467680	-0,00032860
A-III	1	0,11822700	0,07364490	-0,00267244
B-I	2	0,12207300	0,08246150	0,00021384
B-II	2	0,11236800	0,08502770	0,00030763
B-III	1	0,10191600	0,09030040	0,00052614

Los modelos con sus nodos correspondientes se presentan en las FIGURAS 79 y 80, pertenecientes a las muestras A-II y B-II. El resto de modelos se pueden encontrar en el ANEXO VIII. En cada muestra analizada la ubicación de la termocupla con respecto al punto de mas lento calentamiento/enfriamiento entregada por ALGOR® no coinciden, como puede observarse en el plano XY y XZ. Esto puede explicarse debido a que experimentalmente la termocupla por ser un instrumento de medida muy flexible es imposible en la práctica localizarlo en el centro de la parte de mayor espesor del filete. A lo anterior se suma, que debido a la asimetría geométrica es imposible saber a priori la ubicación exacta del punto de mas lento calentamiento/enfriamiento (PEREZ, 2007; NAVARRO, 2007; ALARCÓN, 2008; ACEVEDO, 2008).

El ajuste entre las curvas simuladas y experimentales fue expresado mediante el estadístico RMSE tanto en términos absolutos ($^{\circ}\text{C}$) como relativos (%). En el CUADRO 18 se presentan los valores de las muestras para los Tratamiento A y B sometidas a 116°C por 55 y 60 min (tiempo operador), respectivamente. De las muestras tratadas a 55 min la que presenta el valor mayor de RMSE en la etapa de calentamiento y enfriamiento, y del proceso completo, es la muestra A-II con valores de 2,78% ($1,41^{\circ}\text{C}$), 2,42% ($1,47^{\circ}\text{C}$) y 2,73% ($1,42^{\circ}\text{C}$), respectivamente. Para las muestras tratadas durante 60 min se puede deducir que la muestra que presenta un mayor valor de RMSE durante la etapa de calentamiento, enfriamiento y el proceso total es la B-I con un valores de 2,29% ($1,46^{\circ}\text{C}$), 5,15% ($2,78^{\circ}\text{C}$) y 2,93% ($1,73^{\circ}\text{C}$), respectivamente. En consecuencia los mayores valores de RMSE obtenidos durante ambos tratamiento térmicos fueron durante la etapa de enfriamiento. Esto tendría su explicación en las características del medio de enfriamiento, que al principio es un flujo de agua y al final es por inmersión al llenarse el autoclave.

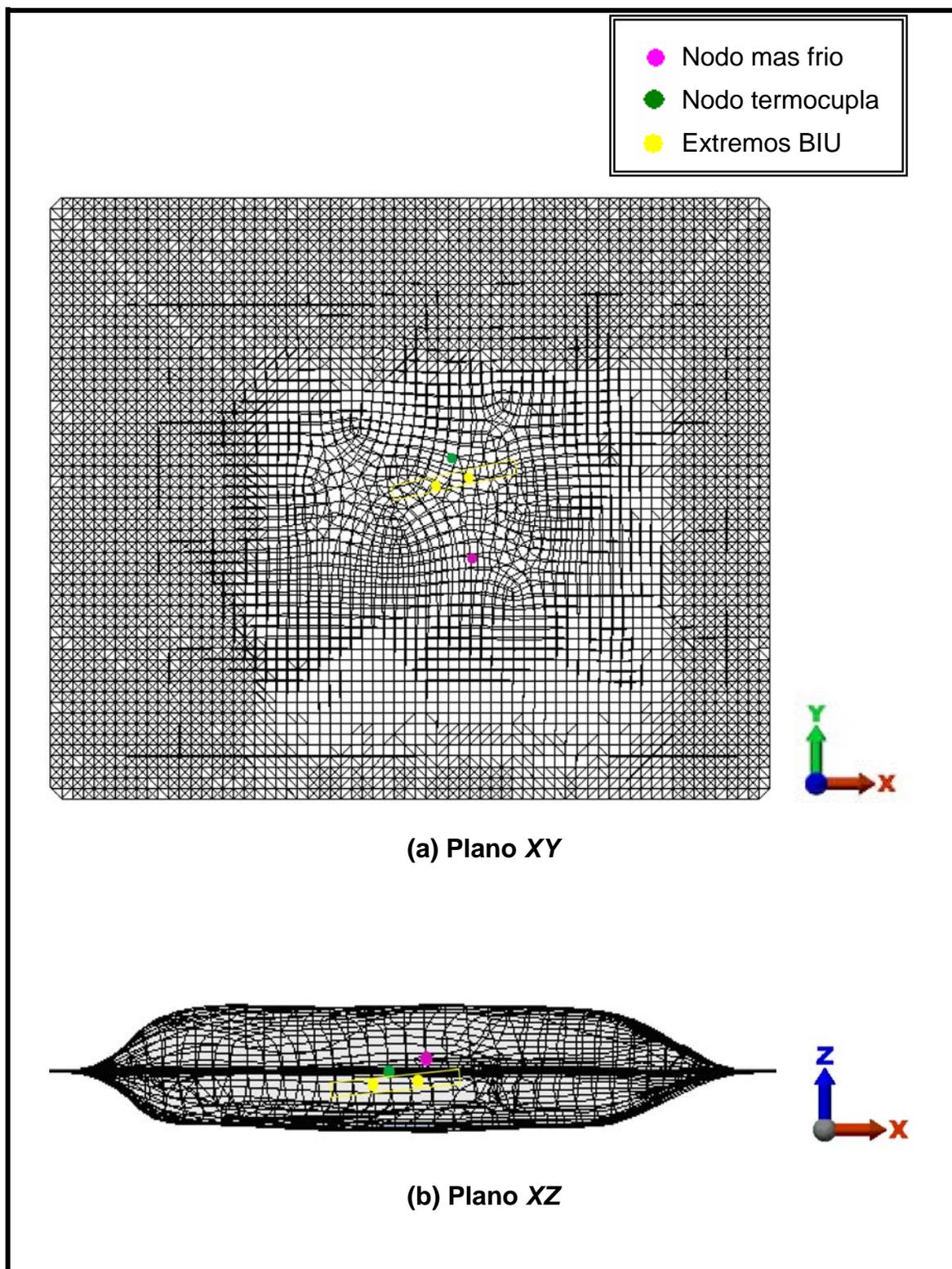


FIGURA 79. Localización de los nodos de la termocupla, mas frío y BIU del modelo digital correspondiente a la muestra A-II.

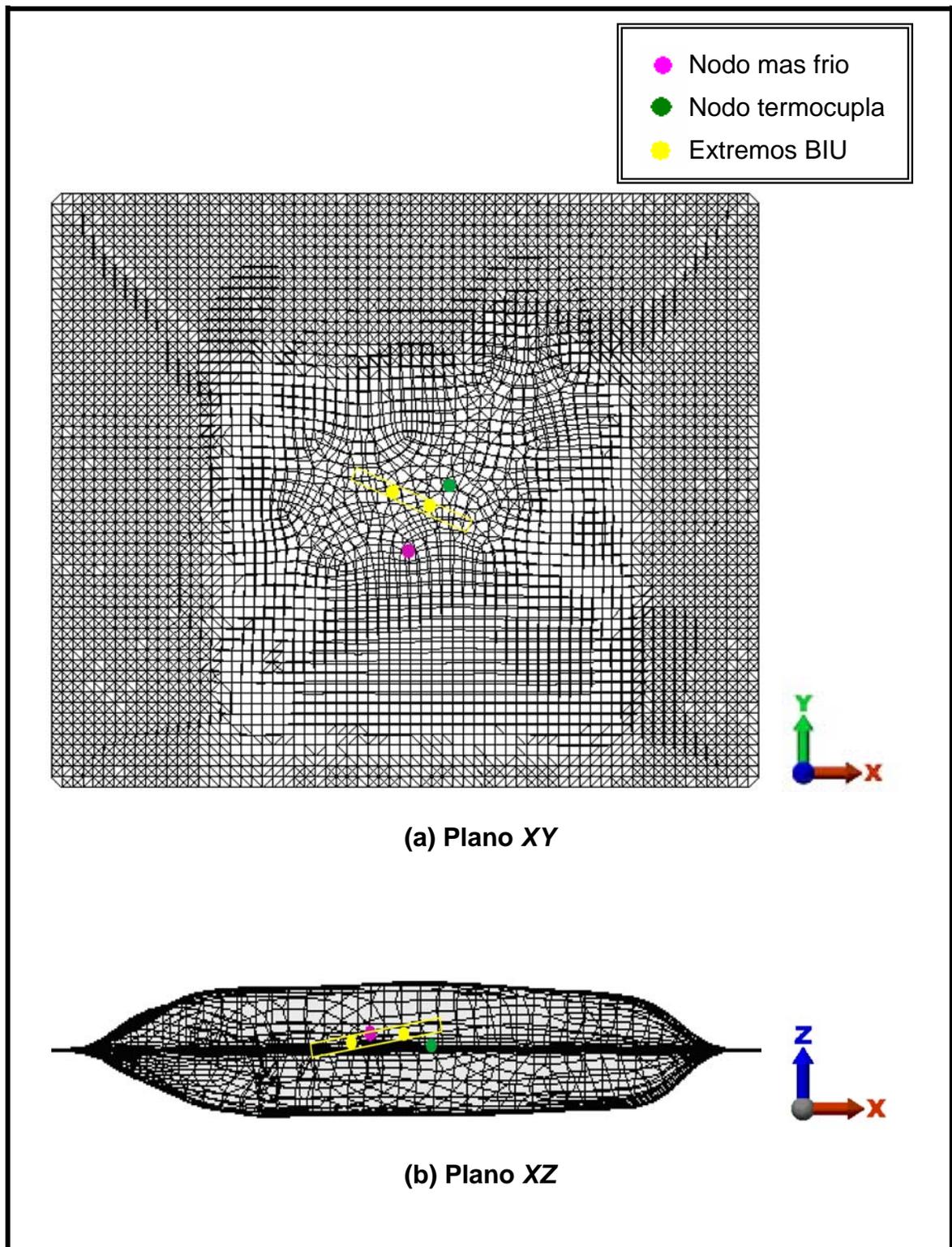


FIGURA 80. Localización de los nodos de la termocupla, mas frío y BIU del modelo digital correspondiente a la muestra B-II.

CUADRO 18. Valores de RMSE por etapas para el proceso de esterilización de filetes.

Muestras	Etapa calentamiento		Etapa enfriamiento		Proceso completo	
	RMSE (°C)	RMSE (%)	RMSE (°C)	RMSE (%)	RMSE (°C)	RMSE (%)
A-I	1,090	1,490	0,806	1,466	1,050	1,486
A-II	1,410	2,783	1,474	2,416	1,420	2,728
A-III	0,764	1,543	1,149	2,385	0,834	1,698
B-I	1,456	2,293	2,778	5,150	1,732	2,932
B-II	0,570	1,565	3,055	3,968	1,013	1,866
B-III	0,409	0,913	2,463	3,422	1,031	1,576

En el caso del ajuste entre curvas simuladas y experimentales para temperaturas con real importancia letal, es decir, mayores a 100 °C, los mayores valores de RMSE fueron obtenidos en la etapa de enfriamiento. Para el caso de los filetes tratados a 55 min (tiempo de operador) el máximo valor obtenido fue de 0,795% (0,86 °C) perteneciente a la muestra A-III y para las muestras tratadas a 60 min el mayor valor de RMSE fue de 2,55% (2,70 °C) correspondiente a la muestra B-II (CUADRO 19). El mejor ajuste de las curvas experimentales para temperaturas sobre 100 °C, con efecto letal importante, permite un cálculo apropiado del valor esterilizante o letalidad del proceso térmico a partir de la historia tiempo-temperatura simulados.

Los perfiles de temperatura experimentales y simulados de las muestras A-II y B-II se muestran en las FIGURAS 81 y 82, respectivamente. El resto de las muestras A-I, A-III, B-I y B-III se presentan en el ANEXO IX.

Los valores de RMSE reportados están cercanos del criterio ingenieril establecido (5%), y se encuentran dentro del rango reportado en la literatura específica de productos de origen marino tratados térmicamente en bolsas esterilizables, CUADRO 7, (PEREZ, 2007; NAVARRO, 2007; ALARCON, 2008; ACEVEDO, 2008). Lo anterior demuestra la validez de la metodología de simulación de procesos térmicos de alimentos de formas complejas implementada por MORALES-BLANCAS et al. (2004; 2005; 2006)

CUADRO 19. Valores de RMSE para el proceso de esterilización considerando temperaturas con importancia letal ($T > 100\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Muestra	RMSE					
	Calentamiento		Enfriamiento		Proceso completo	
	($^{\circ}\text{C}$)	(%)	($^{\circ}\text{C}$)	(%)	($^{\circ}\text{C}$)	(%)
A-I	0,483	0,454	0,558	0,507	0,485	0,455
A-II	0,370	0,343	0,592	0,545	0,379	0,351
A-III	0,229	0,197	0,856	0,795	0,267	0,235
B-I	0,935	0,917	1,237	1,123	0,947	0,292
B-II	0,447	0,410	2,036	1,970	0,566	0,531
B-III	0,230	0,179	2,699	2,554	0,551	0,515

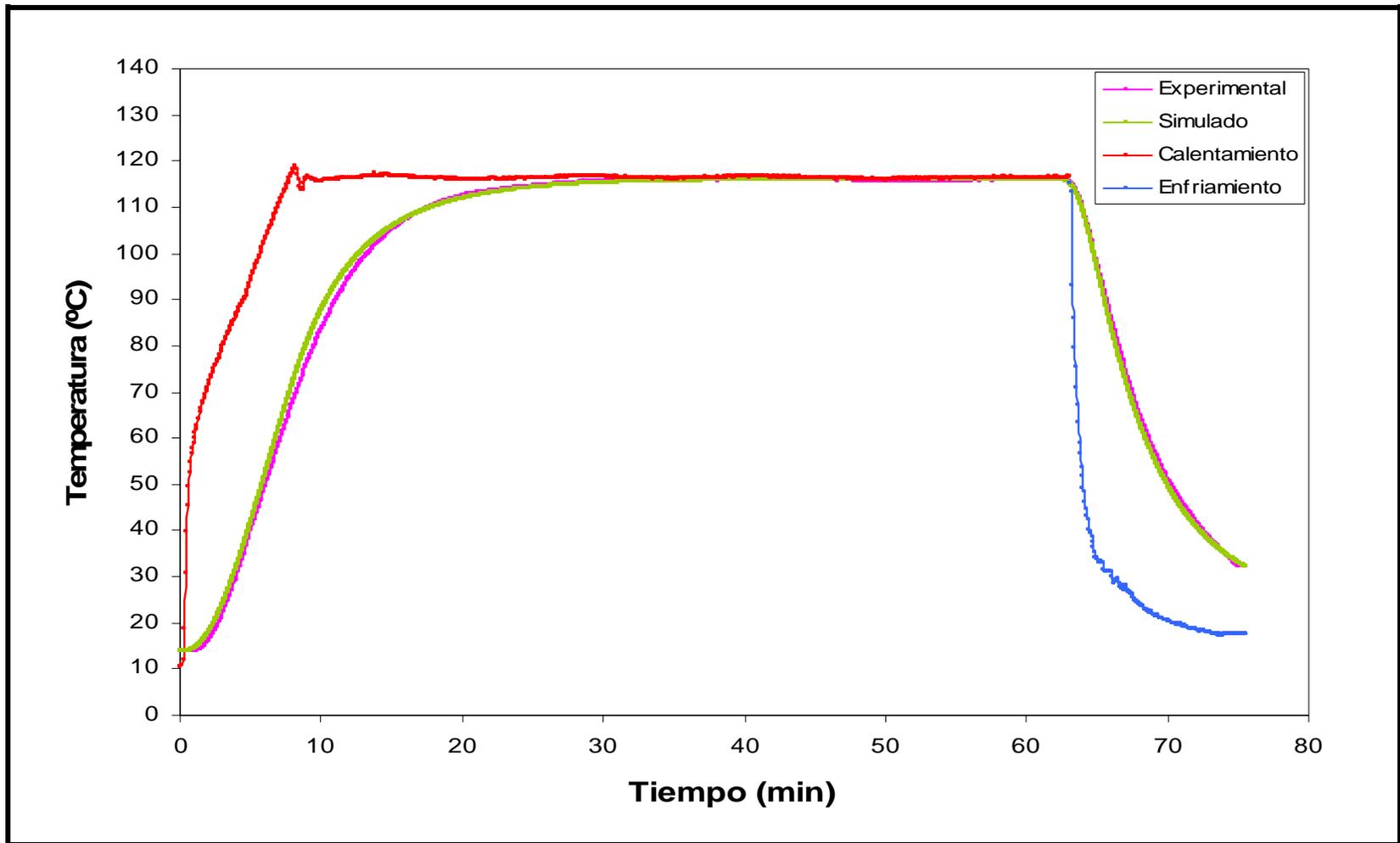


FIGURA 81. Perfiles tiempo/temperatura experimental y simulado de la muestra A-II.

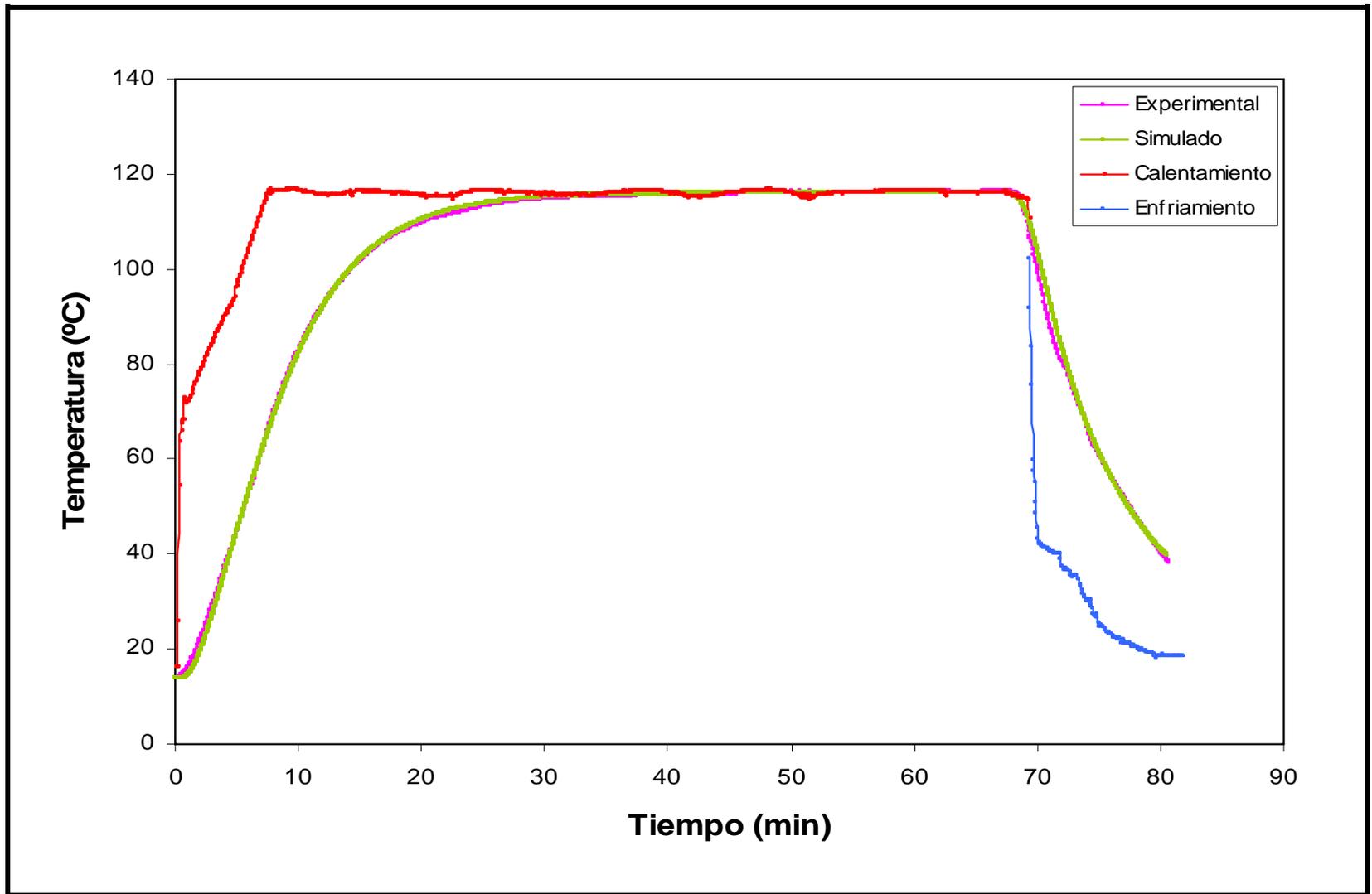


FIGURA 82. Perfiles tiempo/temperatura experimental y simulado de la muestra B-II.

4.5 Determinación de la letalidad del tratamiento térmico

Determinar la letalidad de un tratamiento térmico mediante la cinética de penetración de calor no es una tarea fácil, si nos referimos a realizarlo de forma experimental, sobre todo al tratarse de productos no simétricos geoméricamente, como es el caso de los filetes de jurel. A simple vista se puede determinar que el punto de más lento calentamiento/enfriamiento se encontraría en la parte de mayor espesor del filete, pero al momento de la inserción de la termocupla, es casi improbable lograr el objetivo inicial tal como se demostró en las FIGURAS 79 y 80.

Una vez validados los resultados experimentales con los simulados (sección 4.4), se puede obtener la ubicación exacta del punto de más lento calentamiento/enfriamiento de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables, y el correspondiente historia tiempo/temperatura utilizado para evaluar la letalidad del tratamiento térmico.

En el CUADRO 20 se muestran las coordenadas tridimensionales (x , y , z) del punto de más lento calentamiento/enfriamiento en las muestras evaluadas. Asimismo, se presenta el nodo correspondiente a dicho punto, resultante del análisis con ALGOR. Este procedimiento ha sido validado en trabajos anteriores (PÉREZ, 2007; NAVARRO, 2007; ALARCON, 2008; ACEVEDO, 2008).

El “error” asociado a la diferencia en la ubicación de la termocupla con el nodo de más lento calentamiento/enfriamiento fue evaluado mediante la comparación de los valores de F_0 (CUADRO 21) calculado a partir de los perfiles de temperatura simulados. Los resultados obtenidos demuestran que la probabilidad de insertar el extremo sensor de la termocupla en el punto de mas lento calentamiento/enfriamiento sería mas un factor de suerte que de destreza.

CUADRO 20. Coordenadas correspondientes al nodo más frío en los cortes de filetes evaluados.

Muestra	Nodo	Coordenadas nodos (m)		
		<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
A-I	9755	0,10423200	0,06994960	0,00031478
A-II	10190	0,11743100	0,06723600	0,00182470
A-III	10888	0,11661100	0,07606350	0,00152529
B-I	11191	0,10808200	0,06662940	-0,00085617
B-II	11103	0,10082600	0,06614910	0,00248120
B-III	11454	0,09666280	0,08105750	0,00042736

CUADRO 21. Valores de $(F_0)_{\text{procesos}}$ calculados para los perfiles de temperatura de la termocupla y del punto de más lento calentamiento/enfriamiento.

Muestra	F_0 (min) termocupla	F_0 (min) nodo mas frío	Error relativo (%)
A-I	10,71	10,17	5,23
A-II	10,02	8,69	15,37
A-III	11,04	10,93	1,00
B-I	11,65	10,54	10,53
B-II	10,91	10,29	5,94
B-III	13,42	13,22	1,55

En el CUADRO 22 se muestran los valores de F_0 por etapas del proceso térmico calculados con el perfil de temperaturas del nodo más frío, y considerando los parámetros cinéticos del *G. stearothermophilus*. Los resultados demuestran que los valores $(F_0^Z)_{proceso}$ son mayores que los valores de $(F_0^Z)_{requerido}$ de 8 y 10 min (CUADRO 12) correspondientes a los Tratamientos A (116 °C x 55 min) y B (116 °C x 60 min), respectivamente.

CUADRO 22. Valores de F_0^Z (proceso) en minutos del nodo más frío a tiempos de operador de 55 y 60 minutos.

Primer tratamiento				
Muestra	CUT	Tiempo operador (55 min)	Tiempo enfriamiento	Tiempo global
A-I	4,259E-07	9,998	0,175	10,173
A-II	6,905E-09	8,462	0,227	8,689
A-III	7,085E-07	10,675	0,251	10,926
Segundo tratamiento				
Muestra	CUT	Tiempo operador (60 min)	Tiempo enfriamiento	Tiempo global
B-I	5,397E-10	10,274	0,266	10,540
B-II	9,198E-08	10,113	0,180	10,294
B-III	1,328E-07	13,061	0,155	13,216

Del CUADRO 22 también se puede ver claramente que el CUT no aporta significativamente al F_0 global del proceso, ya que sus valores son tan pequeños que tienden a cero. En cambio el tiempo del operador es la fase que tiene una mayor incidencia en el F_0 global en relación a las tres etapas del proceso. Por otro lado, la fase de enfriamiento aporta entre 1,2 y 2,3% sobre el valor F_0 global, la cual puede considerarse despreciable.

En el CUADRO 23 se presentan los valores de F_0 para el proceso de esterilización considerando temperaturas con ($T > 100$ °C) y sin ($T < 100$ °C) importancia letal. De los datos obtenidos se puede observar que las temperaturas mayores a 100 °C aportan entre 97,5 y 98,8% al valor del F_0 global, siendo mayor el aporte en la etapa de calentamiento.

CUADRO 23. Valores de $F_{0(\text{proceso})}$ en minutos del nodo mas frío a temperaturas con ($T > 100$ °C) y sin ($T < 100$ °C) importancia letal.

Primer tratamiento (tiempo de operador 55 min)					
Muestra	Calentamiento		Enfriamiento		Tiempo Global
	T < 100°C	T > 100°C	T > 100°C	T < 100°C	
A-I	3,118E-03	9,995	0,174	1,176E-03	10,173
A-II	8,293E-09	8,469	0,219	1,519E-03	8,689
A-III	7,085E-07	10,764	0,161	1,142E-03	10,926
Segundo tratamiento (tiempo de operador 60 min)					
Muestra	Calentamiento		Enfriamiento		Tiempo Global
	T < 100°C	T > 100°C	T > 100°C	T < 100°C	
B-I	5,397E-10	10,386	0,153	1,409E-03	10,540
B-II	9,198E-08	10,113	0,179	1,222E-03	10,294
B-III	1,328E-07	13,061	0,154	1,270E-03	13,216

4.6 Evaluación microbiológica de la letalidad de los tratamientos térmicos aplicados

Para evaluar microbiológicamente la letalidad de los tratamientos de esterilización aplicados durante la presente investigación, primero se debió ubicar las coordenadas (x , y , z) de los extremos de la solución E_1 y E_2 de las BIU —en cada muestra— siguiendo el mismo procedimiento descrito en la sección 4.4.1 (CUADRO 24). Seguidamente, se calculó el F_0 para la historia tiempo-temperatura de cada nodo de E_1 y E_2 . El F_0 de la BIU se calculó del promedio de los puntos evaluados. Estos resultados demuestran que ambos tratamientos de esterilización aplicados (116 °C x 55 y 60 min) alcanzaron la letalidad preestablecida, ya que en todos los casos los valores de $(F_0)_{\text{proceso}}$ fueron superiores al valor de $(F_0)_{\text{requerido}}$ de 8,0 y 10 min, respectivamente. Estos valores de F_0 (CUADRO 25) como era de esperarse resultaron mayores a los valores de F_0 obtenidos a partir del nodo de más lento calentamiento/enfriamiento (CUADRO 22), esto debido a que la BIU no fue ubicada en el punto de más lento calentamiento/enfriamiento al momento de su inserción, por lo que recibió mas tratamiento térmico.

En las FIGURAS 77 y 78 se pueden apreciar los puntos extremos E_1 y E_2 de las BIU en los modelos A-II y B-II, respectivamente. El resto de las muestras evaluadas por medio de radiografía se pueden encontrar en el ANEXO VI.

A partir de los valores de $(F_0)_{\text{proceso}}$ obtenidos para los puntos (E_1 y E_2) evaluados de cada Unidad Indicadora Biológica inserta en las muestras de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, se estableció el número de reducciones decimales (S) mediante el concepto de “efecto esterilizante” o “eficiencia esterilizante”.

La estimación del número de reducciones decimales de los puntos (E_1 y E_2) nos permitió calcular el número final de microorganismos sobrevivientes (N_f) en

cada BIU a partir de una población inicial (N_0) de $2,00 \times 10^3$ esporas por BIU. El CUADRO 26 presenta el número de microorganismos sobrevivientes a partir del número de reducciones decimales de proceso (S_{proceso}) citados en 2.4.3.4.

CUADRO 24. Coordenadas (x, y, z) correspondientes a las Unidades Indicadoras Biológicas.

Muestra	Extremo en la	Coordenadas nodos (m)		
	BIU	x	y	z
A-I	E ₁	0,10537200	0,08213370	-0,00085129
	E ₂	0,11514700	0,08105230	0,00140138
A-II	E ₁	0,10740500	0,08734740	-0,00245915
	E ₂	0,11555100	0,08870040	-0,00196528
A-III	E ₁	0,11468100	0,07030950	-0,00210735
	E ₂	0,12532200	0,07098660	-0,00234271
B-I	E ₁	0,11771800	0,08089210	-0,00099380
	E ₂	0,12593400	0,08662120	-0,00166867
B-II	E ₁	0,09658500	0,08297840	0,00093037
	E ₂	0,10702000	0,07953220	0,00229654
B-III	E ₁	0,09567860	0,09268650	0,00439540
	E ₂	0,10536200	0,09291240	0,00082677

CUADRO 25. Valores de $(F_0^Z)_{proceso}$ en minutos de ambos extremos del capilar bioindicador para los tratamientos aplicados.

Primer tratamiento (116 °C x 55 min)			
Muestra	Ubicación BIU	Proceso Global	Promedio
A-I	E1	10,447	10,458
	E2	10,469	
A-II	E1	9,372	9,409
	E2	9,446	
A-III	E1	11,166	11,193
	E2	11,220	
Segundo tratamiento (116°C x 60 min)			
Muestra	Ubicación BIU	Proceso Global	Promedio
B-I	E1	11,434	11,852
	E2	12,271	
B-II	E1	10,839	10,684
	E2	10,529	
B-III	E1	13,635	13,615
	E2	13,594	

De acuerdo al CUADRO 26 se puede deducir que los valores de $S_{proceso}$ promedios son mayores al número de reducciones decimales que se deseaban reducir, ya que, en todos los casos los valores esterilizantes superaron el valor de 4 y 5 reducciones decimales ($S_{requerido}$) para los Tratamientos **A** (116 °C x 55 min) y **B** (116 °C x 60 min), respectivamente.

CUADRO 26. Valores estimados de microorganismos sobrevivientes en cada Unidad Indicadora Biológica (ufc/BIU).

Muestra	Ubicación	$F_{0\text{proceso}}$	S_{proceso}	Promedio S_{proceso}	σ	N_f
A-I	E ₁	10,447	5,224	5,229	±0,008	1,180E-02
	E ₂	10,469	5,235			
A-II	E ₁	9,372	4,686	4,704	±0,026	3,950E-02
	E ₂	9,446	4,723			
A-III	E ₁	11,166	5,583	5,596	±0,019	5,065E-03
	E ₂	11,220	5,610			
B-I	E ₁	11,434	5,717	5,926	±0,296	2,370E-03
	E ₂	12,271	6,136			
B-II	E ₁	10,839	5,419	5,342	±0,110	9,102E-03
	E ₂	10,529	5,264			
B-III	E ₁	13,635	6,818	6,807	±0,014	3,117E-04
	E ₂	13,594	6,797			

Una vez realizados los tratamientos de esterilización y estimado el número de reducciones decimales para cada BIU insertada en los cortes de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables, los datos obtenidos se corroboraron mediante la incubación de las BIU -las que fueron retiradas manualmente del filete (FIGURA 83). Las BIU fueron incubadas junto a un BIU patrón (sin tratamiento) por un periodo de 48 horas a 60 ± 2 °C.

En el CUADRO 27 se presentan los resultados obtenidos de cada muestra una vez incubadas las BIU. Como era de esperarse todas las muestras esterilizadas resultaron negativas, es decir, presentaron color violeta una vez que estas fueron incubadas a 60 ± 2 °C por 48 h.

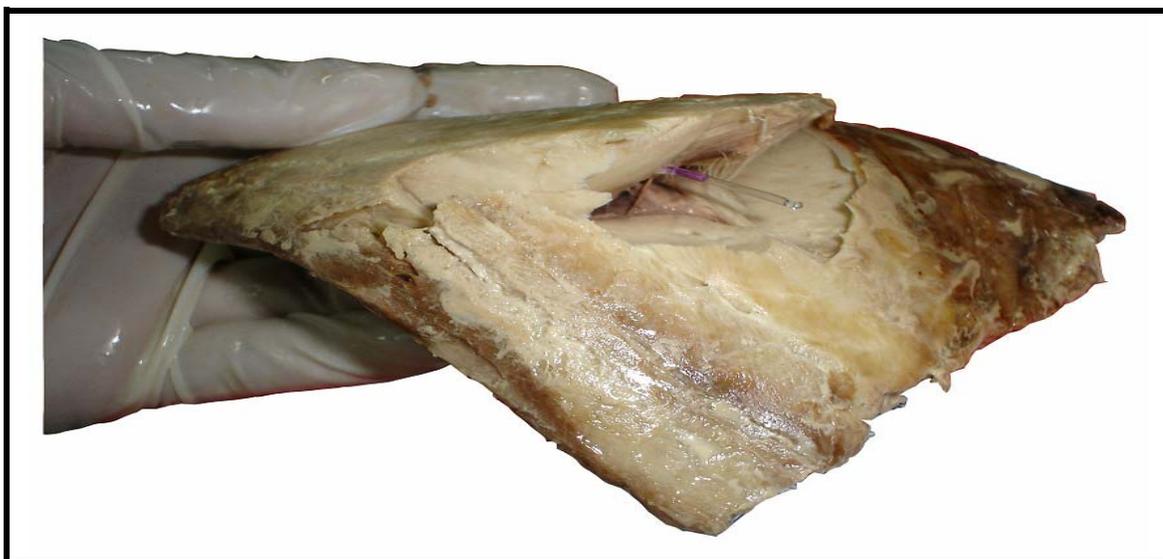


FIGURA 83. Retiro de la BIU al interior del filete de jurel envasado al vacío en bolsa esterilizable.

CUADRO 27. Resultados obtenidos de las BIU una vez incubadas.

Tiempo de operador 55 minutos		
Muestra	Color	Resultado
A-I	Violeta	Negativo
A-II	Violeta	Negativo
A-III	Violeta	Negativo
BIU patrón	Amarillo	Positivo
Tiempo de operador 60 minutos		
Muestra	Color	Resultado
B-I	Violeta	Negativo
B-II	Violeta	Negativo
B-III	Violeta	Negativo
BIU patrón	Amarillo	Positivo

En relación a las BIU patrones (sin tratamiento) incubadas, estas presentaron color amarillo. Esto era de esperarse ya que estas BIU no fueron tratadas térmicamente. En la FIGURA 84, puede visualizarse el color característico de las BIU cuando estas resultan positivas (amarillo) y negativas (violeta).

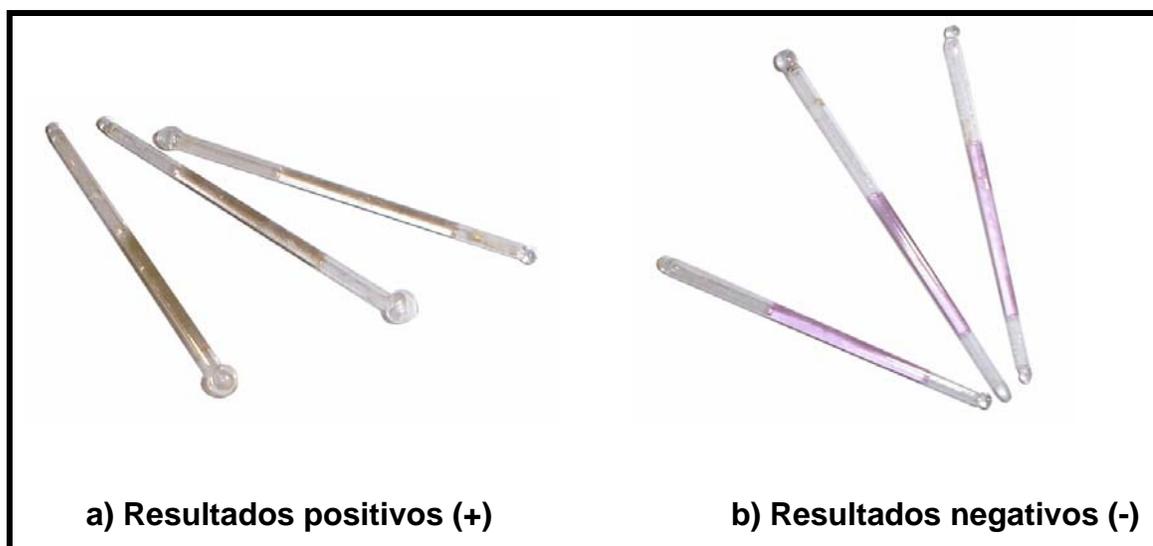


FIGURA 84. Resultados positivos (+) y negativos (-) de las Unidades Indicadoras biológicas.

Para evaluar la confiabilidad de las BIU insertas en los filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables se calculó el error relativo (%) asociado a la ubicación de éstas con respecto al punto de más lento calentamiento/enfriamiento. La comparación se realizó con los valores F_0 obtenidos a partir de las curvas de temperatura de ambos puntos (CUADRO 28). El error relativo osciló entre 2,44% y 12,43%. Estos valores, además de demostrar que sólo en algunos casos las BIU fueron ubicadas cerca al punto de más lento calentamiento/enfriamiento de la muestra, también nos permiten estimar que los porcentajes de error asociados a la ubicación de las BIU, con respecto al centro térmico, en la siguiente etapa se comportarán de manera similar.

La localización de los nodos correspondientes a las BIU y el punto de más lento calentamiento/enfriamiento pueden visualizarse claramente en el ANEXO VIII.

CUADRO 28. Valores de F_0 para los extremos de la BIU y del punto de más lento calentamiento/enfriamiento.

Muestra	F_0 (min) BIU	F_0 (min) nodo mas frío	Error relativo (%)
A-I	10,46	10,17	2,80
A-II	9,41	8,69	8,29
A-III	11,19	10,93	2,44
B-I	11,85	10,54	12,43
B-II	10,68	10,29	3,79
B-III	13,62	13,22	3,02

4.7 Verificación del uso de las BIU en los tratamientos térmicos

Una vez validados los tratamientos de esterilización aplicados para alcanzar un cierto nivel de esterilidad comercial, mediante el uso de Unidades Indicadoras Biológicas, el siguiente paso asociado a la verificación de la confiabilidad del uso de las BIU en tratamientos de esterilización fue aplicar a tratamientos térmicos que no alcancen la letalidad preestablecida de un F_0 de 8,0 minutos. Para lograr esta condición se sometieron a tratamientos de esterilización de 116 °C por un tiempo de operador de 45 y 50 minutos, 10 muestras de filetes de jurel envasadas al vacío en bolsas esterilizables (cinco muestras por tratamiento) con sus respectivas BIU insertas en la parte de mayor espesor de éstos.

Los tiempos de esterilización aplicados fueron obtenidos mediante la digitalización 3D y modelado geométrico en Rhinoceros®, y posterior simulación térmica en ALGOR® de una muestra de filete de jurel típico y envasada al vacío

en una bolsa esterilizable con características similares a las utilizadas durante la presenta etapa de investigación.

Los resultados obtenidos una vez incubadas las BIU como era de esperarse para ambos tratamientos resultaron positivos (CUADRO 29), es decir, los tratamientos de esterilización aplicados no lograron producir una letalidad de F_0 de 8 min ($S = 4$). Esto se reflejó, en el viraje a color amarillo de las BIU producto de los derivados ácidos originados por el crecimiento de organismos al interior de éstas una vez que fueron incubadas.

CUADRO 29. Resultados obtenidos de las BIU una vez incubadas.

Tiempo de operador 45 minutos		
Muestra	Color	Resultado
C-I	Amarillo	Positivo
C-II	Amarillo	Positivo
C-III	Amarillo	Positivo
BIU patrón	Amarillo	Positivo
Tiempo de operador 50 minutos		
Muestra	Color	Resultado
D-I	Amarillo	Positivo
D-II	Amarillo	Positivo
D-III	Amarillo	Positivo
BIU patrón	Amarillo	Positivo

En relación al número de reducciones decimales alcanzadas por cada tratamiento, esta se calculó por simulación térmica del punto de más lento calentamiento de la muestra patrón utilizada. En el CUADRO 30 se presentan los valores de S_{proceso} obtenidos y una estimación del número de microorganismos sobrevivientes para cada tratamiento a partir de un N_0 de

$2,00 \times 10^3$ esporas/BIU. Como puede observarse los valores de S_{proceso} obtenidos estuvieron por debajo del valor de $S_{\text{requerido}}$ (4 ciclos).

CUADRO 30. Valores estimados de microorganismos sobrevivientes en cada Unidad Indicadora Biológica.

Tiempo de operador (min)	$F_{0(\text{proceso})}$ (min)	S_{proceso}	N_f (esporas/BIU)
45	6,400	3,200	1,262E+00
50	5,167	2,584	5,215E+00

4.8 Análisis de los factores que influyen en el uso de las BIU.

Una vez verificada la factibilidad del uso de las BIU en filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables se procederá a evaluar, mediante simulación 3D, su aplicabilidad en filetes de diferentes composiciones y tamaño.

4.8.1 Evaluación en filetes de diferentes alimentos. Para evaluar la influencia de la composición en la letalidad de los tratamientos térmicos se seleccionó el modelo digital de un filete de jurel típico, analizado previamente, para ser sometido a simulaciones con los mismos parámetros de proceso y numéricos (CUADRO 31) variando solamente las propiedades termofísicas, las cuales dependen fundamentalmente de la composición de los alimentos. Para tal efecto se consideraron cuatro tipos de alimentos (vacuno, pollo, atún, salmón), además del jurel, para tener una buena diversidad de filetes de alimentos con posibilidad de ser procesados en bolsas esterilizables.

En el CUADRO 32 se observa que las diferencias en porcentaje correspondientes a los valores de $(F_0)_{\text{proceso}}$, obtenidos a partir de los perfiles de temperaturas simulados para los diferentes filetes de alimentos, se pueden considerar despreciables desde el punto de vista de letalidad. Por lo tanto, se

puede deducir que la composición de los alimentos no influye significativamente en la letalidad de los tratamientos térmicos. Para todos los casos se consideró que los alimentos presentan composición homogénea. La composición proximal y propiedades termofísicas de los alimentos evaluados por simulación se reportan en el ANEXO X.

CUADRO 31. Parámetros de simulación para todos los alimentos.

Volumen	9,99718111e-005 (+/- 1e-014) m ³
Área Superficial	0,0680584645(+/- 4,1e-009)m ²
Espesor máximo	20 mm
Temperatura nodal por defecto (inicial)	13,9 °C
Tipo de elementos	Bricks/tetrahedra
Modelo del material	Isotrópico
Temperatura de esterilización	116 °C
Tiempo de elevación (CUT)	432 s
Tiempo de operador	3600 s
Tiempo de proceso	4832 s

CUADRO 32. Valores de $(F_0)_{\text{proceso}}$ para filetes de diversos alimentos y de las mismas dimensiones.

Producto	F_0 proceso [producto] (min)	F_0 proceso [jurel] (min)	Diferencia (%)
Vacuno	13,40	13,40	0,00
Pollo	13,27		0,97
Atún	13,39		0,07
Salmón	13,36		0,30

De los resultados simulados se puede desprender que el tipo de alimento no afectaría el uso de las BIU para evaluar el valor esterilizante o letalidad de un proceso térmico, siempre y cuando el tamaño y los parámetros de proceso se mantengan invariables.

4.8.2 Evaluación en filetes de diferentes tamaños. Para evaluar la influencia del espesor de los filetes en la factibilidad de uso de las BIU, se establecieron procesos térmicos de letalidad equivalentes, en este caso valor F_0 de ~8 min ó S de ~4 reducciones decimales. Para el análisis se seleccionó el modelo digital de un filete de jurel típico de espesor ~20 mm, los otros espesores de filetes se consiguieron variando en forma proporcional el espesor del modelo digital utilizando el software Rhinoceros® (FIGURA 85). Las simulaciones se realizaron con los mismos parámetros de proceso y numéricos variando solamente el espesor de los filetes (CUADRO 33).

CUADRO 33. Parámetros de simulación para todos los alimentos.

Volumen	9,99718111e-005 (+/- 1e-014) m ³
Área Superficial	0,0680584645(+/- 4,1e-009)m ²
Espesor máximo	20 mm
Temperatura nodal por defecto (inicial)	13,9 °C
Tipo de elementos	Bricks and tetrahedra
Modelo del material	Isotrópico
Temperatura de esterilización	116 °C
Tiempo de elevación (CUT)	432 s
Tiempo de operador	3600 s
Tiempo de proceso	4832 s

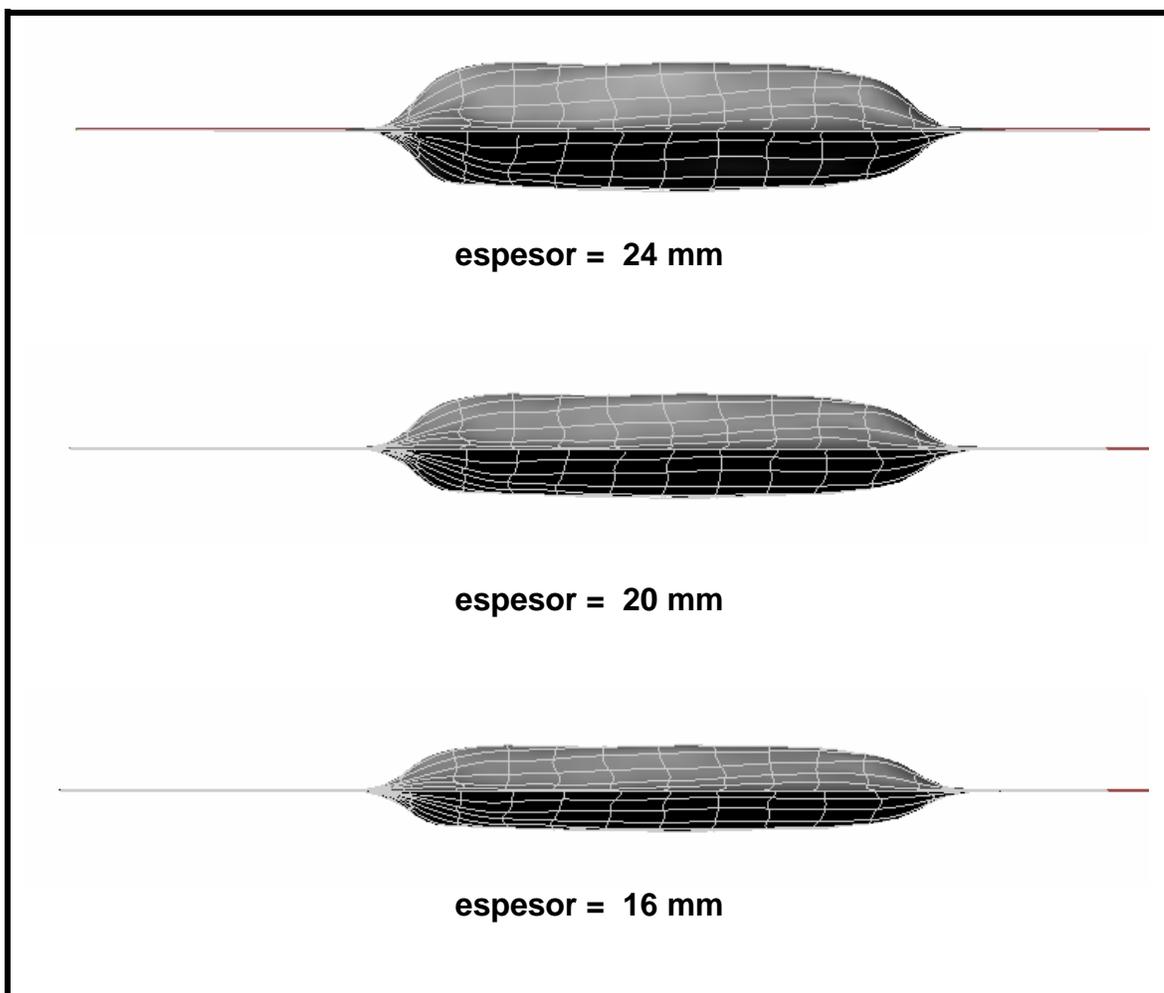


FIGURA 85. Modelos digitales de filetes con diferentes espesores máximos.

A partir de los datos mostrados en el CUADRO 34 se puede desprender que la concentración inicial de esporas, necesarios para alcanzar el valor esterilizante establecido, varía con la ubicación de los nodos de los filetes, y en menor grado con el espesor de los filetes, con excepción del nodo más frío donde el valor es prácticamente el mismo debido a que los procesos térmicos fueron establecidos para la misma letalidad. Esto último lleva a inferir que una BIU con una concentración inicial de $\sim 2.0 \times 10^3$ se podría utilizar para cualquier espesor de filete cuando se quiere evaluar un tratamiento térmico para un valor esterilizante (S) de 4, siempre y cuando se ubique el capilar BIU en el punto más frío. Dado

que como se demostró en la presente investigación, la ubicación de la BIU en el punto más frío es inviable por razones prácticas, se recomendaría colocarlo en la superficie de los filetes dentro del envase. Para tal efecto, sería necesario determinar la concentración de esporas necesarias en la BIU que aunque proporcionaría una mayor cantidad de reducciones decimales, sería equivalente al valor esterilizante preestablecido si se pudiera ubicar el capilar en el punto más frío. En el CUADRO 34 se muestran los valores de N_0 requeridos para las BIU si se ubicara en los puntos correspondientes al *nodo superior filete* (menor distancia de la superficie del filete al punto más frío) y al *nodo esquina filete* (mayor distancia de la superficie del filete al punto más frío) para alcanzar la letalidad preestablecida ($F_0 = 8$ min y $S = 4$) en base al nodo más frío.

CUADRO 34. Valores esterilizantes (F_0 y S) y número inicial de esporas (N_0) por BIU para los filetes de diferentes tamaños.

Item		Espesor filete (mm)				
		16	18	20	22	24
Tiempo operador (s)		2820	2996	3150	3420	3600
Nodo mas frío	$(F_0)_{\text{proceso}}$	8,02	8,00	8,05	8,04	8,01
	S	4,01	4,00	4,03	4,02	4,00
	N_0^*	2,05E+03	2,00E+03	2,12E+03	2,09E+03	2,02E+03
Nodo superior filete	$(F_0)_{\text{proceso}}$	8,82	9,07	9,16	9,27	9,59
	S	4,41	4,54	4,58	4,64	4,80
	N_0^*	5,15E+03	6,86E+03	7,63E+03	8,64E+03	1,25E+04
Nodo esquina filete	$(F_0)_{\text{proceso}}$	10,06	10,83	10,54	11,48	11,61
	S	5,03	5,42	5,27	5,74	5,81
	N_0^*	2,14E+04	5,20E+04	3,71E+04	1,10E+05	1,28E+05

*Calculado para una concentración de esporas finales de $N_f = 2,00E-01$

En base a los dos análisis realizados, se puede mencionar que resulta de mayor importancia tomar en consideración el tamaño del filete frente a la composición al momento de evaluar la posibilidad de utilizar las BIU en la

verificación de los tratamientos térmicos de esterilización. El uso de las BIU sería específico para cada tipo de formato de producto y parámetros de proceso.

4.9 Letalidad equivalente utilizando los parámetros de resistencia térmica del *C. botulinum* y del *B. stearothermophilus*.

Una vez calculados el valor esterilizante o letalidad para todos los tratamientos térmicos en base a los parámetros de resistencia térmica de las esporas del *G. stearothermophilus*, se procedió a calcular la equivalencia en letalidad (F_0 y S) considerando los parámetros de resistencia térmica del *C. botulinum* (CUADRO 35).

CUADRO 35. Valores esterilizantes expresados como F_0 y S en base al *G. stearothermophilus* y *C. botulinum* para los tratamientos térmicos aplicados.

Primer tratamiento (55 min)				
Muestra	<i>G. stearothermophilus</i>		<i>C. botulinum</i>	
	$F_0^{z=8.5}$ proceso	S_{proceso}	$F_0^{z=9.8}$ proceso	S_{proceso}
A-I	10,17	5,09	12,44	62,22
A-II	8,69	4,35	10,72	53,61
A-III	10,93	5,46	13,23	66,17
Segundo tratamiento (60 min)				
Muestra	<i>G. stearothermophilus</i>		<i>C. botulinum</i>	
	$F_0^{z=8.5}$ proceso	S_{proceso}	$F_0^{z=9.8}$ proceso	S_{proceso}
B-I	10,54	5,09	14,64	73,19
B-II	10,29	5,15	12,64	63,19
B-III	13,22	6,61	15,76	78,85

De los resultados mostrados en el CUADRO 35 se puede decir que los tratamientos de esterilización aplicados durante la presente investigación cumplen largamente con la esterilización comercial ($S_{C. botulinum} = 12D$). En base a lo anterior, se visualiza la posibilidad de confeccionar Unidades Indicadoras Biológicas de menor tamaño que contengan un menor número inicial de esporas de *G. stearothermophilus*, cuando se requiera un tratamiento térmico menos severo en beneficio de la calidad nutricional y sensorial.

5. CONCLUSIONES

- Es posible confeccionar capilares de dimensiones y concentraciones definidas a partir de ampollas bioindicadoras de *Geobacillus stearothermophilus* (ATCC7953) disponibles comercialmente, utilizadas para comprobar el funcionamiento y la esterilización en autoclaves.
- Mediante la digitalización 3D (Ingeniería de reversa) y la tecnología CAD/CAE es posible determinar los tiempos de tratamientos térmicos de filetes de jurel envasados al vacío en bolsas esterilizables para alcanzar una letalidad preestablecida.
- Es factible determinar el valor de F_0 correspondiente al punto de más lento calentamiento/enfriamiento mediante la simulación 3D de los procesos térmicos. En todos los casos los valores de F_0 obtenidos experimentalmente fueron superiores a los obtenidos mediante simulación. Las diferencias del error en la determinación del F_0 usando termocuplas y mediante simulación oscilaron entre 1,00% y 15,37%.
- Los resultados de los tratamientos térmicos aplicados mostraron un excelente ajuste entre los perfiles experimentales y simulados. Los valores de RMSE (error estándar de estimación) en el proceso completo para temperaturas de importancia letal (>100 °C) oscilaron entre 0,24% (0,38 °C) y 0,53% (0,57 °C), siendo ambas muy inferiores al criterio ingenieril adoptado (< 5 %).
- La metodología planteada mediante el uso de Unidades Indicadoras Biológicas puede ser utilizada para verificar el tratamiento de esterilización

de otros tipos de alimentos que varíen en cuanto a su composición y tamaño, siendo esta última la característica más importante a considerar para la determinación de la concentración inicial de esporas en la BIU dependiendo a su vez de la letalidad que se desee alcanzar.

- Un método de verificación simple y rápido, a partir de la metodología planteada, sería de suma utilidad para las plantas conserveras para evaluar las desviaciones propias del proceso reduciendo los factores de seguridad actualmente utilizados al determinar la letalidad de los tratamientos térmicos en forma experimental (termocuplas) o mediante métodos fórmula.

6. RESUMEN

El principal objetivo de la presente investigación fue estudiar la factibilidad del uso de Unidades Indicadoras Biológicas (BIU) de esporas de *Geobacillus stearothermophilus* en la evaluación de tratamientos de esterilización de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables. Mediante la captura de las coordenadas (x , y , z) desde las superficies de las bolsas esterilizables, usando un brazo robótico de precisión (Microscribe-G2L™) y la utilización de un software de modelado geométrico basado en NURBS (Non-Uniform Rational B-spline, Rhinoceros®), fue posible obtener los modelos digitales 3D de las muestras evaluadas. Luego, el modelo matemático para la conducción de calor sujetos a condiciones de borde convectivas y variables con el tiempo y temperatura, fue resuelto mediante el software de simulación basado en el Método de Elementos Finitos (ALGOR®). La ubicación de las BIU y termocuplas al interior de las muestras evaluadas fue obtenida mediante Rayos X. Los valores del error estándar de estimación ó RMSE (*Root Mean Square Error*) para temperaturas con importancia letal (> 100 °C) obtenidas expresadas en porcentajes, estuvieron muy por debajo del criterio ingenieril adoptado de 5%. Las reducciones decimales de proceso, fueron calculadas en base al valor F_0 y tiempo de reducción decimal D_0 . Los resultados obtenidos demuestran que la metodología propuesta puede utilizarse para verificar la letalidad de cualquier tratamiento térmico de esterilización de alimentos envasados al vacío en bolsas esterilizables mediante el uso de las BIU. La evaluación de la posible utilización de las BIU en filetes de diversos alimentos y en filetes de diferentes espesores fue realizada mediante simulación 3D resultando el tamaño del filete el parámetro mas importante a considerar para la confección de las BIU de acuerdo la letalidad que se desee alcanzar en los tratamientos térmicos.

SUMMARY

The main goal of this research was to study the feasibility of use Biological Indicators Units (BIU) with *Geobacillus stearothermophilus* spores in order to evaluate sterilization treatment of foods vacuum packed in retortable pouches. By the capture of coordinates (x, y, z) from surfaces of pouches, using a precision robotic arm (Microscribe-G2L™) and a software of geometry modelling based on NURBS (Non-Uniform Rational B-Spline, Rhinoceros®) were possible to obtain 3D digital models of the evaluated samples. Then, the mathematical model for heat conduction, under convective boundary and time/temperature variable conditions, was solved by simulation software based on the Finite Element Method (ALGOR®). The location of the BIU and thermocouples inside of the evaluated samples was obtained by X-rays. The values of Root Mean Square Error (RMSE) for temperatures with lethal importance (> 100 °C), expressed in percentage, were less than the adopted engineering criterion of 5%. The process decimal reductions, were calculated on the basis of F_0 -value and decimal reduction time (D_0). The results obtained demonstrate that the methodology proposed can be used to evaluate the lethality of any sterilization treatment of foods vacuum packed in retortable pouches by using BIU. The evaluation about of possible use of the BIU in fillets of different foods and different thickness was achieved by simulation 3D showing that fillet thickness is the parameter most important for BIU manufacture depending upon lethality that is required for a sterilization process.

7. BIBLIOGRAFIA

- ABDUL GHANI, A. y FARID M. 2005. A Numerical Simulation Study on Thermal Sterilization of Food in Pouches using Computational Fluid Dynamics (CFD). Association for Computing Machinery New Zealand Bulletin, 1 (2). (On line).
<http://oldwww.acm.org/chapters/acm_nz/bulletin/vol1/issue2/articles/fa1.pdf> (10 ago. 2008).
- ACEVEDO, P. 2008. Evaluación de tratamientos térmicos de jurel (*trachurus symmetricus Murphy*) envasado al vacío en bolsas esterilizables a nivel industrial. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 196p.
- ACOSTA, A.; MATA, V.; HERRERO A. y SANCHEZ, L. 2002. Biologic monitoring of dental office sterilizers in Mexico. American Journal of Infection Control 30(3): 153-157.
- ALARCON, L. 2008. Validación microbiológica de procesos térmicos de alimentos de formas complejas envasados al vacío en bolsas esterilizables. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 189p.
- ALDAYA, V. 1998. Elementos finitos en análisis estructural. (On line).
<http://www.cecalc.ula.ve/documentacion/presentaciones/cecalcula/in genieria/introef_www_07_98/> (20 mar. 2006).
- ALDERTON, G.; CHEN, J.K. y ITO, K.A. 1974. Effect of lysosyme on the recovery of heated *Clostridium botulinum* spores. Applied Microbiology 27 (3): 613-615.
- ALGOR. 2008. In ALGOR User's Guide. Version 21.1 SP1. (cd-room). ALGOR, Inc. Pittsburgh. USA.
- ALVAREZ, A.; GONZALEZ, J.; MAZAS, M.; GONZALEZ, I y LÓPEZ, M. (1996). Eficacia del cloruro sódico como inhibidor de *Bacillus stearothermophilus*. (On line).
<<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1975977>> (18 ago 2008).
- ALUSA. (2006a). Alusa S.A. (On line) <<http://www.alusa.cl>> (8 sep. 2006).

- ALUSA. (2006b). ALUSA S.A. Ficha Técnica. FA COSTEO 7OZ, Código 1739.
- ASSOCIATION FOR ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI) 1992. Standards and Recommended Practice. Nº 1.
- BALL, C.O. 1923. Thermal process time for canned foods. Washington, DC. Natl. Research Council 37(7): Part 1.
- BALL, C.O. 1928. Mathematical solution of problems on thermal processing of canned foods. Public Health. University of California (Berkeley) 1(2): 15-245.
- BALL, C.O. 1938. Advancements in sterilization methods for canned foods. Food Research 3(1/2): 13-55.
- BALL, C.O. 1943. Short-time pasteurization of milk. Ind Engineering Chemical 35(1): 71-84.
- BALL, C.O. y OLSON, F. 1957. Sterilization in food technology. Theory, Practice and Calculations. New York. McGraw-Hill.
- BIGELOW, W. 1921. The logarithmic nature of thermal death time curves. The Journal of Infectious Diseases 29(5): 528-536.
- BIGELOW, W. y ESTY, J. 1920. The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. The Journal of Infectious Diseases 27:602-617.
- BIGELOW, W.; BOHART, G.; RICHARDSON, A. y BALL, C. 1920. Heat penetration in processed canned foods. Bull. No.16-L, National Canners Association. Washington, D.C.
- BREMER, P.; OSBORNE, C.; KEMP, R.; VAN VEGHEL, P. y FLETCHER, G. 1998. Thermal death times of *Hafnia alvei* cells in a model suspension and in artificially contaminated hot-smoked kahawai (*Arripis trutta*). Journal of Food Protection 61(8): 1047-1051.
- BRINLEY, T.; DOCK, C.; TRUONG, V.; CORONEL, P.; KUMAR, P., SIMUNOVIC, J.; SANDEEP, K.; CARTWRIGHT, G.; SWARTZEL, K. y JAYKUS, L. 2007. Feasibility of utilizing bioindicators for testing microbial inactivation in sweetpotato purees processed with a continuous-flow microwave system. Journal of Food Science 72(5): 235-242.
- BRODY, L. 2003. The return of the retort pouch. Food Technology 57(2): 76-79.

- CAESOFTE. 2006. Herramientas de mallado y preparación de modelos FEA con ALGOR©. (On line).
<<http://www.caesoft.es/productos/algor/mallado/mallado.htm>> (19 mar. 2006).
- CALIFANO, A. 1981. Transferencia de calor y materia durante el escaldado de papas. Tesis de Ph. D. La Plata, Argentina. Universidad Nacional de La Plata. 133 p.
- CAMBIANO y VON DER BECKE, 2000. Fundamentos de la esterilización HTST y UHT. (On line). < <http://www.geocities.com/ohcop/cambiano.html>> (15 oct. 2008).
- CANADA, CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY (CFIA-ACIA). 2002. Flexible retort pouch defects. (On line).
<<http://www.inspection.gc.ca>> (28 ago. 2006).
- CASOLARI, A. Microbial death. 1988. In: Bazin, M. J. y Prosser, J. I. (eds.) Physiological Models in Microbiology. Boca Ratón, FL. CRC Press. pp: 1-44.
- CASP, A. y ABRIL, J. 1999. Procesos de conservación de alimentos. Madrid, España. Vicente/Mundi Prensa. 479p.
- CATALA, R. 1982. Bolsas flexibles esterilizables: Características y usos específicos. Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos (España) 22 (2): 163-177.
- CHAPRA, S. y CANALE, R. 1988. Métodos numéricos para Ingenieros con aplicaciones en computadores personales. México D.F. McGraw-Hill 641p.
- CHICK, H. 1910. The process of disinfection by chemical agencies and hot water. Journal of Hygiene 10(2): 237-286.
- CHILE. MINISTERIO DE SALUD (MINSAL). 2003. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Santiago, Chile. Publiley. 77 p.
- CHILE. MINISTERIO DE SALUD (MINSAL). s.f. Manual de esterilización y desinfección. Departamento de Calidad en la Red. (On line) <<http://odontologia.uchile.cl/departamentos/restauradora/old/operatoria/operato/pdf/manualfinal.pdf#search=%22Manual%20de%20Esterilizaci%C3%B3n%20y%20Desinfecci%C3%B3n%22>> (20 agos. 2006).

- CHILE. SERVICIO NACIONAL DE PESCA (SERNAPESCA). 2008. Anuarios estadísticos de pesca 2008. (On line). <<http://www.sernapesca.cl>> (4 oct. 2008).
- CHILE. SUBSECRETARIA DE PESCA (SUBPESCA). 2008. Informe Sectorial de Pesca y Acuicultura. (On line). Departamento de Unidad de Estudios Sectoriales < <http://www.subpesca.cl>> (4 oct. 2008).
- CLELAND, A. y EARLE, R. 1984. Assessment of freezing time prediction methods. *Journal of Food Science* 49(4): 1034-1042.
- DATTA, A. 1998. Computer-Aided Engineering in food process and product design. *Food Technology* 52(10): 44-52.
- DAVIDSON, P. y WEISS, J. 2003. Decimal reduction times. In: Helman, D.R. (ed.) *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Marcel Dekker. New York, USA. pp: 165-171.
- DE LA CRUZ, L. 2002. Generación de mallas usando mapeo ortogonal y algunas aplicaciones. (On line)
<<http://uxmcc1.iimas.unam.mx/~lmd/Proyectos/gema/tesis/tesis.htm>> (30 oct. 2006).
- DIAZ, C. 2000. Análisis teórico experimental del coeficiente convectivo de transferencia de calor durante los procesos de hidrocalentamiento e hidrogenfriamiento de alimentos. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 158p.
- ESSELEN, W. y PFLUG, I. 1956. Thermal resistance of putrefactive anaerobe No. 3679 spores in vegetables in the temperature range of 250-290°F. *Food Technology* 10(11): 557-560.
- ESTY, J. y MEYER, K. 1922. The heat resistance of the spores of *Clostridium botulinum* and allied anaerobes. XI. *The Journal of Infectious Diseases* 31: 650-663.
- FEEHERRY, F.E.; MUNSEY, D.T. y ROWLEY, D.B. 1987. Thermal inactivation and injury of *bacillus sterarothermophilus* spores. *Applied and Environmental Microbiology* 53(2): 365-370.
- FERIA, G.; CRUZ, Y. y GONZALEZ, M. 1999. Indicadores biológicos en los procesos de esterilización. *Revista de Enfermería del Instituto Mexicano del Seguro Social*. (On line).
<<http://www.imss.gob.mx/NR/rdonlyres/7B754997-6813-4DD9-AA57-324285FACD32/0/19991519.pdf>> (20 oct. 2008).

- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. Overarching principles: kinetics and pathogens of concern for all technologies. (On line). <<http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/ift-over.html>> (30 agos. 2008)
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). 2007. Guidance for industry and FDA staff; Biological Indicator (BI) premarket notification [510(k)] submissions. USA. 20p. (On line). <<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/1320.pdf>> (25 oct. 2008).
- FOODDIGICAE LAB, 2006. Laboratorio de Digitalización 3D e Ingeniería Asistida por Computador para el Procesamiento y Preservación de Alimentos. (On line). <<http://fooddigicaelab.uach.cl>> (30 mar 2007).
- GOMBAS, D. 1983. Bacterial spore resistance to heat. *Food Technology* 37(11): 105-110.
- HELDMAN, D. y HARTEL, R. 1997. Principles of Food Processing. New York, USA. Chapman & Hall. 288 p.
- HERSOM, A. y HULLAND, E. 1995. Conservas alimenticias: Procesado térmico y microbiología. 3ª ed. Zaragoza, España. Acribia. 451p.
- JAY, J. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. 4ª ed. Zaragoza, España. Acribia. 615 p.
- JUNEJA, V. y HUANG, L. 2003. Thermal death time. In: Helman, D.R. (ed.) Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering. Marcel Dekker. New York, USA. pp: 1011-1013.
- KATZIN, L.; SANDHOLZER, L. y STRONG, M. 1943. Application of the decimal reduction time principle to a study of the resistance of coliform bacteria to pasteurization. *Journal of Bacteriology* 45(3): 265-272.
- KELKAR, U.; BAL. A. y KULKARNI, S. 2004. Monitoring of steam sterilization process by biologic indicators a necessary surveillance tool. *American Journal of Infection Control* 32(8): 512-513.
- KEMOCHI, Y. y KLETTE, R. 2000. Surface area estimation for digitized regular solids. Computer Science Department of the University Auckland, (on line) <<http://citr.auckland.ac.nz/techreports/2000/CITR-TR-62.pdf>> (20 abril 2006).

- KOTZEKIDOU, P. 2000. *B. stearothermophilus*. In ROBINSON, R.; BATT, C. y PATEL, P (ed.). Encyclopedia of Food Microbiology. V1. Academic Press. San Diego USA. pp:125-129.
- LAN, Y. y FANG, Q. 2003. Physical properties of agricultural products. In: Helman, D.R. (ed.). Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering. Marcel Dekker. New York, USA. pp: 751-753.
- LAMPI, R. 1977. Flexible packaging for thermoprocessed foods. In: Chichester, C.O., Mrak, E.M. y Stewart, G.F. (eds.) Advances in Food Research. Vol. 23. New York, USA. Academic Press. pp: 305-428.
- LETRARI, J.; LIMA, H.O.S. y VANIN, M. 2006. Esterilização térmica e parâmetros de morte microbiana do *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953. IV ENTEC E II WORKSHOP da UTFPR – Campus Campo Mourão, PR, Brasil. (On line).
<http://74.125.45.132/search?q=cache:dQcvPT8Ypv8J:www.cm.cefetpr.br/arquivos/modeloartigo_entec.pdf+Esteriliza%C3%A7%C3%A3o+t%C3%A9rmica+e+par%C3%A2metros+de+morte+microbiana+do+Bacillus+stearothermophilus+ATCC&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=cl> (31 ago. 2008)
- LLANOS, A. 2005. Indicadores biológicos para la esterilización de material quirúrgico en atención primaria. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. (On line).
<http://www.juntadeandalucia.es/salud/contenidos/aetsa/pdf/Indicadores_biol_esteril_AP_def.pdf> (3 abril 2007).
- LÖWIK, J. y ANEMA; P. 1972. Effect of pH on the heat resistance of *Clostridium sporogenes* spores in minced meat. Journal of Applied Bacteriology 35(1): 119-121.
- LUND, D. 1978. Statistical analysis of thermal process calculation. Food Technology 32(3): 76-83.
- MACIVER, M. y NELSON, M. 2000. Body modeling and model-based tracking for neuroethology. Journal of Neuroscience Methods. 95: 133-143.
- MAÑES, J.; MIR, M. y ALCAYNE, R. 2005. Indicadores biológicos de lectura rápida. Revista del Colegio Oficial de Enfermería de Castellón. 21: 30-32. (On line).
<www.coecs.com/hipervinculos/EnferDesembre2005.pdf> (5 abril 2007).

- MARTISIENE, N. 2006. Evaluation of the effectiveness of the sterilization process using biological indicators. *Journal of Hospital Infection* 64(1): 36-37.
- MERCK S.A. 2006. Manual de Microbiología. (On line). <<http://service.merck.de/microbiology/>> (27 nov. 2006)
- MERMELSTEIN, N. 1976. An overview of the retort pouch in the U.S. *Food Technology* 30: 28-37.
- MERSON, R.; SINGH, R. y CARROAD, P. 1978. An evaluation of ball's formula method of thermal process calculations. *Food Technology* 32(3): 66-71.
- 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. Viña del Mar. Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Procesos Químicos, Biotecnológicos y Ambientales. 95p.
- MOLERO, B. 2001. El MEF en el proceso de diseño. (On line). http://www.protorapid.com/reportaje_mef.htm (20 oct. 2006)
- MORALES-BLANCAS, E.; ZUÑIGA, G. y CARRASCO, E. 1999. Predicción de perfiles de temperatura durante el proceso combinado escaldado-hidrogenfriado de productos vegetales. Caso formas Cilíndricas. **In** Actas XVI Jornadas de Transferencia de Calor y Materia. Santiago, Chile. 29 – 30 nov. 1999. Asociación Chilena de Transferencia de Calor y Materia. pp 12-17.
- MORALES-BLANCAS, E. y TORRES, J. 2003a. Thermal resistance constants. **In**: Helman, D.R. (ed.) *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Marcel Dekker. New York, USA. pp: 1030-1037.
- _____. 2003b. Determination of thermal resistance parameters. **In**: Helman, D.R. (ed.) *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Marcel Dekker. New York, USA. pp: 1038-1043.
- MORALES-BLANCAS, E.; PÉREZ, D.; RODRIGUEZ, C y SIMPSON, R. 2005. Simulation of thermal processing of non-symmetric and irregular-shaped foods vacuum packed in retortable pouches. **In** Technical Abstract Archive. 2005 IFT Annual Meeting. New Orleans, Louisiana,

USA. 15-20 julio 2005. Institute of Food Technologists (IFT). Technical Abstract 71D-28 (On line).
<http://ift.confex.com/ift/2005/techprogram/paper_31722.htm> (20 oct. 2008).

MORALES-BLANCAS, E.; RODRIGUEZ, C.; PÉREZ, D y SIMPSON, R. 2004. Simulación de procesos térmicos de alimentos de formas complejas envasados en bolsas esterilizables: condiciones complejas de asimetría geométrica y térmica. **In** Actas XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Viña del Mar, Chile. 23-25 agosto 2004. Sociedad Chilena de Tecnología de Alimentos. pp 142.

MORALES-BLANCAS, E.; PÉREZ, D. y SIMPSON, R. 2006. Finite element simulation of nonsymmetrical thermal processing of odd-shaped food in retortable pouches. **In** Technical Abstract Archive. 2006 IFT Annual Meeting. Orlando, Florida, USA. 24-28 jun. 2006. Institute of Food Technologists (IFT). Technical Abstract 078E-18 (On line).
<<http://www.abstractsonline.com/viewer/viewAbstract.asp?CKey={D3473EC1-DD05-408F-9AA1-C05552732CC4}&MKey={B06A353B-10DD-47FA-9DA1-EB6A35FFB230}&AKey={8616C01D-DC03-41AD-9244-6706B0A8C9BD}&SKey={2D3D9577-0C53-4D6D-99F3-7DC59F125003}>>> (10 sep. 2008)

MULAK, V.; TAILLIEZ, R.; EB, P. y BECEL, P. 1995. Heat resistance of bacteria isolated from preparations based on seafood products. *Journal of Food Protection* 58(1): 49-53.

NAVARRO, R. 2007. Simulación de procesos térmicos de alimentos de formas complejas envasadas al vacío en bolsas esterilizables de tamaño institucional. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 166p.

NICHOLAS, J. y WHITE, D. 1994. *Traceable Temperatures: An Introduction to Temperature Measurement and Calibration*. Chinchester, England John Wiley. 357p.

NUÑEZ, H. 2004. Desarrollo de productos sobre la base de salmón procesado en bolsas esterilizables; Comparación con producto fresco y esterilizado en envase de hojalata. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Viña del Mar. Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de Procesos Químicos, Biotecnológicos y Ambientales. 74p.

ODLAUG, T. y PFLUG, I. 1977. Thermal destruction of *clostridium botulinum* spores suspended in tomato juice in aluminium thermal death time tubes. *Applied and Environmental Microbiology* 34(1): 23-29.

- ODLAUG, T.; PFLUG, I. y KAUTTER, D. 1978. Heat resistance of *Clostridium botulinum* type b spores grown from isolates from commercially canned mushrooms. *Journal of Food Protection* 41(5): 351-353.
- ORDOÑEZ, J. 1996. Determinación y evaluación del coeficiente convectivo de transferencia de calor en procesos continuos de escaldado e hidrogenfriado de productos vegetales. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 154p.
- PACKAGING DIGEST. 1998. Retortable salmon pouch spawns process or benefits. (On line).
<<http://www.packagingdigest.com/articles/199801/54.html>> (25 mar. 2006).
- PARRA, L. y ACOSTA, E. 1999. Análisis de algunos indicadores biológicos disponibles comercialmente en México. *Revista ADM* 56 (4): 151-154. (On line). <<http://www.medigraphic.com/espanol/e-htms/e-adm/e-od1999/e-od99-4/em-od994d.htm>> (7sept. 2006).
- PATIÑO, N.; LOYOLA, J. y TOVAR, L. 2001. Uso y verificación con indicadores biológicos en esterilizadores de cirujanos dentistas de San Luis Potosí. *Revista Salud Pública de México* 43 (5): 455 - 458. (On line). <<http://www.scielosp.org/pdf/spm/v43n5/6724.pdf>> (10 mar. 2007).
- PENNA, T.; ISHII, M.; MACHOSHVILI, I. y MARQUES, M. 2002. The effect of bioindicator preparation and storage on thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 99(1-3): 525 – 538.
- PEREZ, D. 2007. Simulación de procesos térmicos de alimentos de formas complejas envasadas al vacío en bolsas esterilizables. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 218 p.
- PERKINS, W.; ASHTON, D. y EVANCHO, G. 1975. Influence of the z value of *Clostridium botulinum* on the accuracy of process calculations. *Journal of Food Science* 40(6): 1189-1192.
- PERU. MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2002). Manual de Desinfección y Esterilización Hospitalaria. (On line). <<http://www.minsa.gob.pe/pvigia/MarketingManagement%5Cfinal.pdf>> (17 agos. 2006).

- PINO, F. 2004. Obtención de modelos digitales de alimentos de formas irregulares complejas mediante digitalización tridimensional. Tesis Lic. Ing. Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 86p.
- PFLUG, I.J. 1987a. Using the straight line semilogarithmic microbiol destruction model as an engineering design model for determining the F-value for heat processes. *Journal of Food Protection* 50(4): 342-346.
- PFLUG, I.J. 1987b. Factor important in determining the heat process value, F_T , for low-acid canned foods. *Journal of Food Protection* 50(6): 528-533.
- PFLUG, I.J. 1987c. Calculating F_T -values for heat preservation of shelf-stable, low-acid canned foods using the straight-line semilogarithmic model. *Journal of Food Protection* 50(7): 608-615.
- PFLUG, I.J. y ODLAUG, T. 1978. A review of z and F values used to ensure the safety of low-acid canned food. *Food Technology*. 32(6): 63-70.
- PFLUG, I.J. y SCHMIDT, C.F. 1968. Thermal destruction of microorganisms. In Lawrence, C.A. y Block, S.S (eds). *Desinfections, Sterilization and Preservation*. Philadelphia, C.A. Lea&Febiger. Philadelphia, USA. pp:63-105.
- PFLUG, I.J.; BERRY, M. y DIGNAN, D. 1990. Establishing the heat-preservation process for aseptically-packaged low-acid food containing large particulates, sterilized in a continuous heat-hold-cool system. *Journal of Food Protection* 53(4): 312-321.
- PUT, H. y DE JONG, J. 1982. The heat resistance of ascospores of four *saccharomyces* spp. isolated from spoiled heat-processed soft drinks and fruit products. *Journal of Applied Bacteriology* 52(2): 235-243.
- RAMASWAMY, H. y SINGH, R. 1997. Sterilization process engineering. In Valentas, K., Rotstein, E. y Singh, P. (eds). *Handbook of Food Engineering Practice*. Boca Raton, FL. USA. CRC Press. pp:37-69
- REED, J.; BOHRER, C. y CAMERON, E. 1951. Spore destruction rate studies on organisms of significance in the processing of canned foods. *Food Research* 16(5): 383-408.
- REICHART, O. 1979. A new experimental method for the determination of the heat destruction parameters of microorganisms. *Acta Alimentaria* 8(2): 131-155.

- RHINOCEROS. 2001. NURBS Modeling for Windows. User's Guide Version 3.0. Seattle, USA. Robert McNeel & Associates. 530p.
- RIVEROS, S. s.f.. Historia de los indicadores biológicos. (On line). <<http://www.enfermeraspabellonyesterilizacion.cl/trabajos/biologicos.pdf>> (2 oct. 2006).
- RODRIGUEZ, C. 2005. Simulación computacional de procesos de conducción de calor en alimentos de formas irregulares complejas. Tesis Lic. Ing Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 201p.
- ROOP, R. y NELSON, P. 1981. Processing retort pouches in conventional sterilizers. *Journal of Food Science* 47(1): 303-305.
- RUTALA, W.; JONES, S. y WEBER, D. 1996. Comparison of a rapid readout biological for steam sterilization with four conventional biological indicators and five chemicals indicators. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 17 (7): 423-428.
- SASAKI, K.; SHINTANI, H.; ITOH, J.; KAMOGAWA, T. y KAJIHARA, Y. 2000. Effect of calcium in assay medium on *D* value of *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 spores. *Applied and Environmental Microbiology* 66(12): 5509-5513.
- SCHMIDT-HEBBEL, H.; PENNACCHIOTTI, M.; MASSON, L. y MELLA, M. 1990. Tabla de composición química de los alimentos chilenos. 8ª ed. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. 62p
- SCHUMAN, J.; SHELDON, B. y FOEGEDING, P. 1997. Thermal Resistance of *Aeromonas hydrophila* in Liquid Whole Egg. *Journal of Food Protection* 60(3): 231-236.
- SEGERLIND, L.J. 1976. Applied finite element analysis. New York, USA. John Wiley. 427p.
- SHINTANI, H. y AKERS, J. 2000. On the cause of performance of biological indicator used for sterility assurance. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 54 (4): 332-342.
- SIMPSON, R., ALMONACID, S. y MITCHELL, M. 2004. Mathematical model development, experimental validation and process optimization:

reportable pouches packed with seafood in cone frustum shape. *Journal of Food Engineering* 63(2): 153-162.

- SMITH, N. 2005. The Role of Adhesives in the Retort Pouch. The e-magazine for adhesives technology. (On line).
<http://www.rohmhaas.com/AdhesivesSealants/PW_e_magazine_sep05/articles/pdf/retort_pouch.pdf> (20 agos. 2006).
- SPLITTSTOESSER, D.; LEASOR, S. y SWANSON, K. 1986. Effect of food composition on the heat resistance of yeast ascospores. *Journal of Food Science* 51(5): 1265-1267.
- SUMNER, S.; SANDROS, T.; HARMON, M.; SCOTT, V. y; BERNARD, D. 1991. Heat resistance of *salmonella typhimurium* and *listeria monocytogenes* in sucrose solutions of various water activities. *Journal of Food Science* 56(6): 1741-1743.
- STUMBO, C.R. 1948. Bacteriological considerations relating to process evaluation. *Food Technology* 2(2): 115-132.
- STUMBO, C.R. 1949. Further considerations relating to evaluation of thermal processes for foods. *Food Technology* 3(4): 126-131.
- STUMBO, C.R. 1953. New procedures for evaluating thermal process for foods. *Food Technology* 3(4): 126-131.
- STUMBO, C.R. 1973. *Thermobacteriology in food processing*. 2^{da} ed. New York, USA. Academic Press. 329p.
- STUMBO, C.R.; Murphy, J. y Cochran, J. 1950. Nature of thermal death time curves for p.a. 3679 and *clostridium botulinum*. *Food Technology* 4(8): 321-326.
- TEXEIRA, A. 1992. Thermal Process Calculations. In Heldman, D. R. y Lund, D. B (eds). *Handbook of food engineering*. New York, USA. Marcel Dekker. pp: 563-619.
- TOLEDO, R. 1991. *Fundamentals of food process engineering*. 2^{da} ed. New York, USA. Van Nostrand Reinhold. 602 p.
- TOWNSEND, C.; ESTY, J. y BASELT, F. 1938. Heat-resistance studies on spores of putrefactive anaerobes in relation to determination of safe processes for canned foods. *Food Research* 3(3): 323-346.

- VILLALOBOS, S. 2001. Comparación de resultados del proceso de esterilización con dos indicadores biológicos. *Revista de enfermería del Instituto Mexicano de servicio social* 9(3): 143-146.
- XEZONES, J. y HUTCHINGS, I. 1965. Thermal resistance of *C. botulinum* (62a) spores as affected by fundamental food constituents. *Food Technology* 19(6): 113-115.
- ZHANG, Q. y CAVALIERI, R. 1991. Thermal model for steam blanching of green beans and determination of surface heat transfer coefficient. *Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers* 34 (1): 182-186.