

Tema 6. La esterilización de procesos.

La razón fundamental para efectuar la esterilización en Microbiología Industrial es para evitar la competición por los nutrientes en medios de cultivo y permitir así que el cultivo de microorganismos específicos que se utilizan en un proceso de fermentación de los rendimientos esperados en biomasa y/o metabolitos específicos.

Esterilización significa la eliminación de toda forma de vida de un medio o material, lo que se lleva a cabo generalmente por medios físicos, por ejemplo, filtración, o por muerte de los organismos por calor, productos químicos u otra vía.

La palabra *desinfección* se aplica a la remoción o destrucción por cualquier vía de organismos vivos que pueden causar daño particular o infección. No significa por lo tanto la destrucción de todos los microorganismos

Pasteurización es el término aplicado al proceso que se utiliza para la destrucción de algunos de los microorganismos posiblemente presentes en materiales sensibles al calor como la leche y cerveza. Consiste en calentar la leche, por ejemplo a 62 °C, mantenerla a esta temperatura 30 minutos y después enfriarla lo más rápidamente posible.

Asepsia es la exclusión continuada de microorganismos contaminantes. Así por ejemplo el cultivo de microorganismos en el laboratorio es llevado a cabo asépticamente como en muchas fermentaciones industriales. El medio de cultivo es esterilizado para remover toda forma de vida y luego inoculado con el cultivo requerido. Se dice entonces que el sistema se mantiene en condiciones asépticas.

Métodos de esterilización

Los métodos de esterilización pueden ser de 3 tipos:

- a) por destrucción total de microorganismos;
- b) Por muerte o inactivación;
- c) Por eliminación con medio físicos.

Por destrucción total se entiende un proceso muy violento, que casi siempre implica calentamiento apreciable del material. Otra manera de destruir contaminantes es con el uso de poderosos agentes oxidantes.

La muerte o inactivación significa la eliminación de microorganismos sin que exista necesariamente desintegración de las células. Se puede efectuar por calentamiento, seco o húmedo, por radiaciones o por agentes químicos.

La eliminación física está restringida a la esterilización de gases líquidos, y es fundamentalmente llevada a cabo por filtración mediante filtros absolutos o filtros fibrosos.

Cinética de la esterilización por calor

$$-\frac{dN}{dt} = kN \quad (1) \quad \text{e integrando entre los limites}$$

N_0 a tiempo = 0 y N al tiempo $t = t$, se obtiene

$$\ln \frac{N_0}{N} = kt \quad \text{ó} \quad \ln \frac{N}{N_0} = -kt \quad (2)$$

$$k = A \cdot e^{-\frac{E}{RT}} \quad \text{ó} \quad \ln k = \ln A - \frac{E}{RT} \quad (3)$$

Donde

A: constante

E: Energía de activación

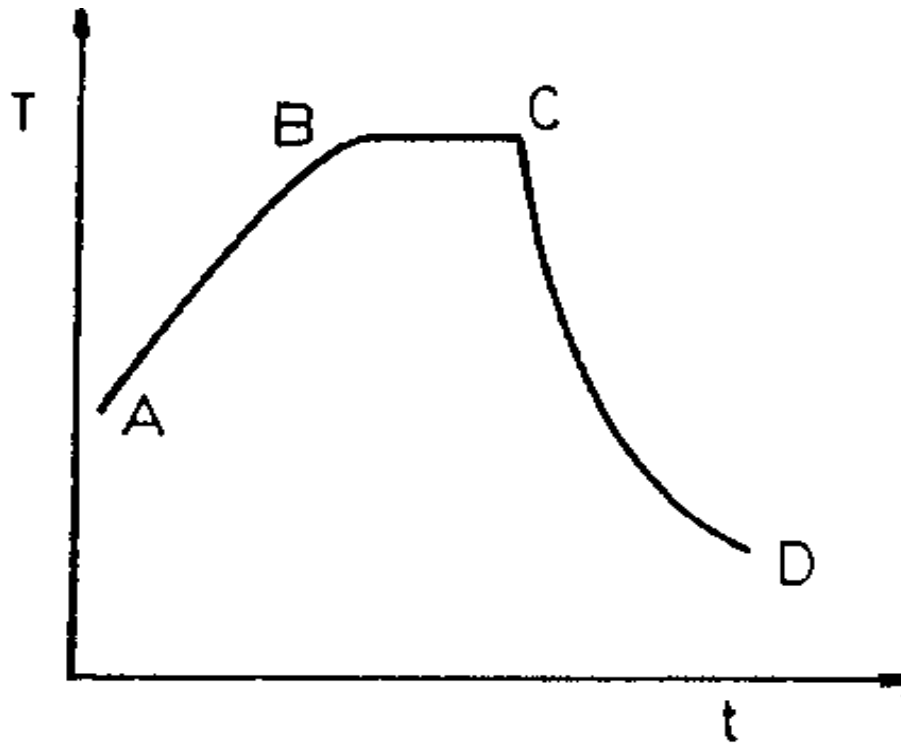
R = Constante general de los gases

T = Temperatura en Kelvin

Si se gráfica el $\ln k$ en función de $1/T$ se obtendrá una línea recta, siendo la inclinación igual a $-E/R$ y la intersección de la recta con la ordenada, el valor de la constante de Arrhenius

La ecuación de velocidad de muerte necesita una aclaración, ya que la misma no admite una disminución del número de organismos a cero, porque si N es cero, t debería ser infinito.

Esta ecuación sólo calcula el tiempo en que una población se reduce de N a $N/10$, $N/100$, etc



AB: Calentamiento: eliminación de microorganismos hasta 100 °C y esporas a partir de 100 a 120 °C

BC Mantenimiento: de 120 °C: elimina esporas (des

CD Enfriamiento: elimina esporas desde 120 a 100 °C y los microorganismos restantes desde 100 a 50 °C (variable)

Esterilización en Bacht

En fermentadores industriales de 60.000 l por ejemplo esos tiempos están en el orden de 28-30 min para BC y 11-14 min para CD.

$$\nabla = \ln \left(\frac{N_0}{N} \right) = kt$$

$$\nabla = At e^{-\frac{E}{RT}}$$

$$\nabla_{\text{total}} = \nabla_{\text{cal}} + \nabla_{\text{mant}} + \nabla_{\text{enfriam.}}$$

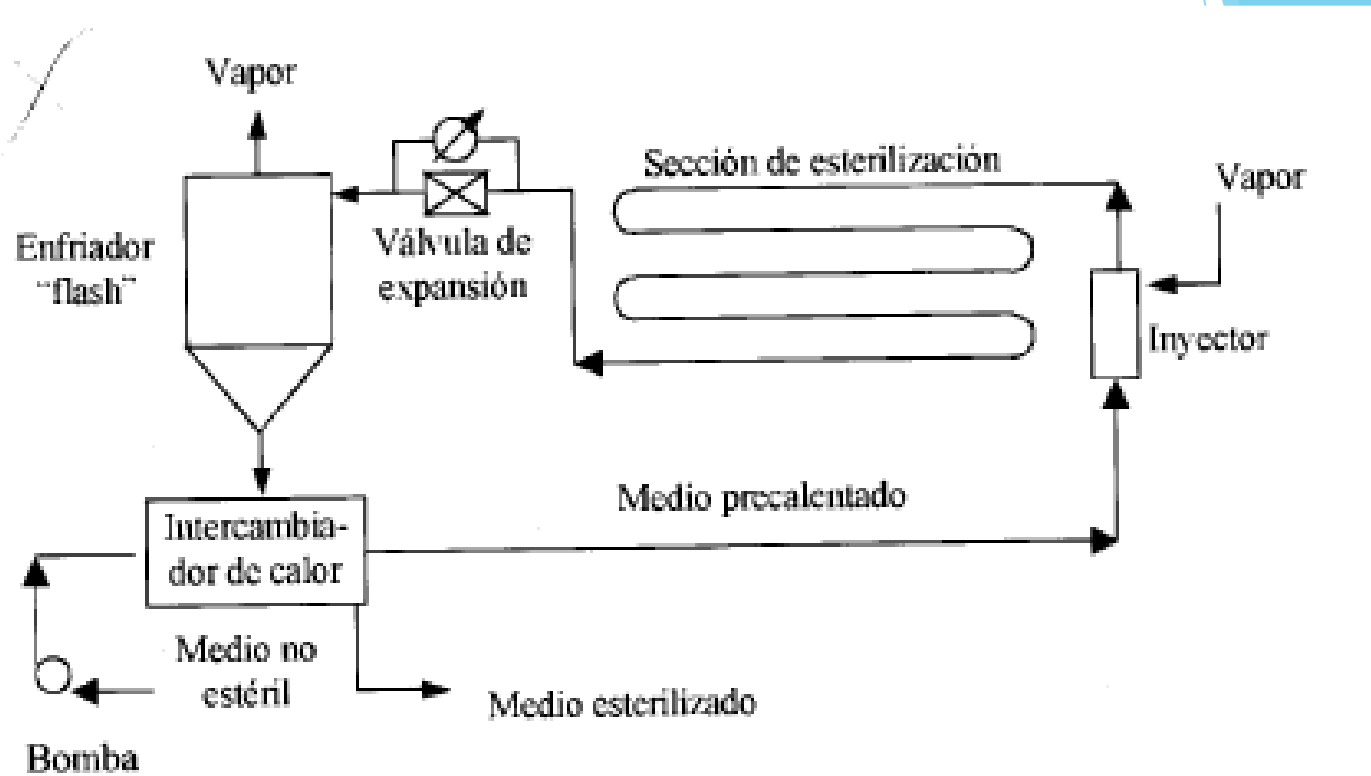
Las partes ∇_{cal} y $\nabla_{\text{enfriam.}}$

$$k dt = A \cdot e^{-\frac{E}{RT}} dt$$

Existen datos, en bibliografía, de cálculo de tiempo de mantenimiento para la esterilización de 45,000 l de medio (con un valor de $N_0 = 2 \times 10^7$ esp/ml) que demuestra que son necesarios solamente 8.8 min como tiempo de mantenimiento a 120 °C.

Debe tenerse en cuenta que estas consideraciones son válidas para el cálculo del tiempo de esterilización mínimo, a 120 °C, en fermentadores industriales del volumen considerado

Esquema de un proceso de esterilización industrial



En laboratorio es diferente: lo que es importante en este caso es el tipo de recipiente, su geometría y el volumen de medio a esterilizar.

El tiempo de esterilización (o sea el tiempo de mantenimiento a 120 °C) requerido por ejemplo para tubos de ensayo de 18 x 50 mm es de 12-14 min y para tubos de 38 x 200 mm, de 15-20 min.

Erlenmeyers de 2000 ml requieren de 30-35 min mientras que si son de 125 ml el tiempo es de 12-14 min.

En cambio un frasco pyrex cuadrado de 1000 ml requiere 30-35 min

Una botella de suero de 9000 ml 50-55 min.

Estos tiempos aseguran la eliminación de esporos bacterianos de las especies más resistentes.

Conservación de la calidad nutriente

los medios de fermentación utilizados en la industria son casi siempre complejos y a menudo con sólidos en suspensión, de manera tal que los cambios que se producen durante la esterilización pueden ser importantes. A veces puede haber modificaciones beneficiosas o perjudiciales dependiendo del tiempo de esterilización.

Existen casos en los cuales si se prolonga la esterilización 50 a 60 min se producen pérdidas de rendimiento que llegan hasta el 65% con respecto al medio normal. En ciertos casos cuando el tiempo es solamente de 15-20 min se puede producir un efecto beneficioso.

La naturaleza de las interacciones que tienen lugar entre los componentes de un medio, durante la esterilización por calor, dependerá no solamente de la naturaleza de los componentes sino también de la temperatura, duración del calentamiento, pH del medio, y de la agitación.

Reacción de Maillard que tiene lugar entre los grupos carbonilos de los azúcares con los grupos amino de proteínas, aminoácidos, etc. Se forman así productos de condensación con lo cual se inactivan significativas cantidades de carbohidratos y nitrógeno amínico

Los carbohidratos se esterilizan por separado de los compuestos nitrogenados orgánicos

En medios químicamente definidos se puede observar pérdida importante de magnesio, potasio, amonio, sodio y fosfatos por precipitación de sales poco solubles si hay Ca en el medio

Los aminoácidos y factores de crecimiento son muy lábiles al calor, por lo que se esterilizan por filtración