

Ejercicios de esterilización por temperatura

1. Si en cierto cultivo y condiciones se determinó que el valor de D es de 8 minutos ¿Cuál sería la población final para los siguientes tiempos? ¿Cómo se podrían interpretar los últimos dos valores? ¿Qué cambiaría si en vez de N_f representar la población total fuese la concentración de microorganismos por mL o g?

t (min.)	N_f
0	2.500.000
8	250.000
16	25.000
24	2.500
32	250
40	25
48	¿2,5?
56	¿0,25?

El valor de 2,5 microorganismos se podría interpretar como el promedio de microorganismo supervivientes por cultivo, o que una vez habría 2 supervivientes y otra vez 3, o también que cada dos cultivos se encontraría un total de 5 sobrevivientes. Por su parte, el valor de 0,25 microorganismos se puede interpretar como que se detectará un microorganismo cada cuatro cultivos.

Respecto a qué cambiaría si N_f representase la concentración de microorganismos por mL o g en vez de la población total, no cambiarían los valores absolutos, sólo la unidad de análisis implícita en las unidades. Cuando se hace referencia a la población total de un cultivo, esa es la unidad de análisis, mientras que si se trabaja con concentraciones, el valor por unidad de volumen o de masa será la calculada, pero la población total del cultivo dependerá del volumen o masa total del mismo.

2. Si en el mismo cultivo se cambiara la temperatura y se determina que el nuevo valor de D es de 3 minutos ¿Cuál sería la población final para los siguientes tiempos? ¿Cómo se podría interpreta el último valor? La nueva temperatura ¿sería más alta o más baja que la del anterior punto 2?

t (min.)	N_f
0	8.000.000
3	800.000
12	800
18	8
21	0,8

El valor de 0,8 microorganismos se puede interpretar como que se detectarían 8 microorganismos cada 10 cultivos, por lo que si se intentaba esterilizar el medio antes de inocularlo, se contaminarían 8 de cada 10 cultivos por falla en la esterilización.

3. ¿Cuánto sería valor del índice de reducción γ para cada uno de los siguientes casos representados en cada fila?

N_o	N_f	γ
1.000.000	1.000	3
2.000.000	2.000	3
100.000.000.000	10	10
100.000.000.000	1	11
100.000.000.000	0,1	12
1.000.000	0,001	9
1.000	0,000000001	12

4. Se tiene un medio de cultivo que, luego de preparado debe ser esterilizado. Su población bacteriana más resistente es la correspondiente a un microorganismo que, cultivado y sometido a un ensayo de termodestrucción, consistente en tomar muestras a distintos tiempos de una alícuota de caldo con una concentración de 10^6 microorganismos/mL incubado a distintas temperaturas durante 10 minutos, arrojó los siguientes resultados:

t (min)	T ₁ = 95 °C	T ₂ = 100 °C	T ₃ = 105 °C	T ₄ = 110 °C	T ₅ = 115 °C
0	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000
5	807.696	667.063	464.159	233.393	63.396
10	652.373	444.973	215.443	54.472	4.019
15	526.919	296.825	100.000	12.713	255
20	425.591	198.001	46.416	2.967	16
D (min)	53,91	28,44	15,00	7,91	4,17

Se solicita indicar, para estos microorganismos:

- 4.1. el valor del tiempo de reducción decimal **D** para cada temperatura de ensayo;
- 4.2. el valor del índice de reducción γ para 5 y 10 minutos a 100 y a 110 °C; ($\gamma = \log(C_f/C_i)$ $\gamma_{100-5'} = 0,176$; $\gamma_{100-10'} = 0,352$; $\gamma_{110-5'} = 0,632$; $\gamma_{110-10'} = 1,264$)
- 4.3. la expresión que permite calcular el tiempo de reducción decimal **D** para cualquier temperatura; $D_T = D_R \cdot 10^{(T_R - T)/z}$, para calcular **D** se usa cualquiera de los métodos, por ejemplo, se grafican los valores antes obtenidos de **D** para cada **T**, y se determina **z** ($z = 18$ °C), y luego utilizando como referencia los valores de **D** a 105 °C $\rightarrow D_T = 15 \cdot 10^{(105 - T)/18}$
- 4.4. el valor de **D** a 121 °C. ($D_{121} = 1,94$ min)
5. Para el medio de cultivo del caso anterior, indicar cuál será el tiempo de tratamiento necesario para eliminar el 99,9 % de los microorganismos presentes en 1 mL si se trabaja a 105 °C. ($3 \times D_{105^\circ\text{C}} = 3 \times 15$ min = 45 min)
6. Si para cada lote del cultivo se utilizarán 10.000 L de medio, donde es esperable una concentración inicial máxima de 1000 microorganismos por mL, indicar el grado de reducción que es necesario establecer para que la posibilidad de presentarse una falla por no esterilizar correctamente el medio sea de 1 en 150. ($N_f = 1$; $N_0 = 10.000 \text{ L} \cdot 1000 \text{ mL/L} \cdot 1000 \text{ mo/mL} \cdot 150 \text{ cultivos/1 falla} \rightarrow \gamma = 12,18$)
7. En función de los cálculos anteriores, indicar el tiempo que es necesario establecer para el tratamiento del anterior medio a esterilizar si se trabaja a
 - 7.1. una temperatura de 105 °C $\rightarrow \gamma \times D_{105} = 12,18 \times 15$ min = 182,6 min
 - 7.2. una temperatura de 121 °C $\rightarrow \gamma \times D_{121} = 12,18 \times 1,94$ min = 23,6 min
8. Indicar el nuevo valor del grado de reducción necesario del proceso señalado en el anterior punto 6 si, por decisión gerencial, sólo es aceptable una falla anual en total, considerando que se tienen 6 fermentadores trabajando continuamente, y que cada uno de ellos genera un nuevo cultivo cada 2 días (365 días/1 falla. 6 cultivos/2 días = 1095 cultivos/1 falla $\rightarrow \gamma = 13,04$).
9. En función de los cálculos anteriores, indicar el nuevo tiempo que es necesario establecer para el tratamiento del anterior medio a esterilizar si se trabaja a
 - 9.1. una temperatura de 105 °C $\rightarrow \gamma \times D_{105} = 10,04 \times 15$ min = 195,6 min
 - 9.2. una temperatura de 121 °C $\rightarrow \gamma \times D_{121} = 10,04 \times 1,94$ min = 25,3 min
10. Contemplando que los valores calculados en el punto anterior corresponden a los tiempos de destrucción térmica **F_T**, y si la curva del proceso de calentamiento del medio mediante vapor a 121 °C es la siguiente, indicar si se ha logrado la esterilización requerida y, en caso de no ser así, qué medidas se pueden proponer. **No esteriliza**

t (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40
T (°C)	45	85	110	121	121	90	70	50	30

11. Evaluar la eficacia del tratamiento térmico esterilizante al que se somete un medio en el que se encuentra un microorganismo cuya **Z** es 13 °C, siendo el **F₁₂₀** en las condiciones de trabajo de 7 minutos, cuando la curva de penetración del calor es la siguiente: **Esteriliza**.

t (min)	0	10	20	30	40	50	60	70	80
T (°C)	70	93	108	114	114	105	90	70	55