

## Esterilización con CO<sub>2</sub> supercrítico en el ámbito sanitario

El CO<sub>2</sub> supercrítico (CO<sub>2</sub>sc) aplicado a presión de 100 bar es muy eficaz para inactivar bacterias, hongos y virus y esporas resistentes. Como agente esterilizante tiene muchas ventajas: no es tóxico, está muy disponible es barato, inodoro y gas en condiciones atmosféricas, por lo que no deja residuos en el producto final. Se puede considerar que en esta aplicación se "revaloriza".



**DRA. LOURDES CALVO GARRIDO**  
CATEDRÁTICA DE  
INGENIERÍA QUÍMICA,  
UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE DE MADRID.  
FACULTAD DE CC. QUÍMICAS

Las técnicas de esterilización más utilizadas son los tratamientos térmicos, pero pueden causar múltiples alteraciones en materiales termosensibles e hidrolíticos. De hecho, no son aplicables en mucho instrumental y equipo médico de diagnóstico o de protección. Para estos casos, se usa radiación o la esterilización mediante agentes químicos, tales como plasma de peróxido de hidrógeno o atmósferas de óxido de etileno o formaldehído. Pero estos compuestos son tóxicos, químicamente agresivos y podrían dejar residuos en los materiales en contacto.

Ahora se está investigando ampliamente el uso de CO<sub>2</sub> supercrítico (CO<sub>2</sub>sc) porque aplicado a presión de 100 bar es muy eficaz para inactivar bacterias, hongos y virus y esporas resistentes<sup>1</sup>. Como agente esterilizante tiene muchas ventajas: no es tóxico (GRAS), está muy disponible (de hecho, está en exceso), es barato, inodoro y gas en condiciones atmosféricas, por lo que no deja residuos en el producto final. Ya se utiliza en el envasado de alimentos y se puede considerar que en esta aplicación se "revaloriza".

En la esterilización con CO<sub>2</sub>, el producto se introduce dentro de un recipiente de alta presión, como se muestra en el esquema de la Figura 1. El CO<sub>2</sub> presurizado y precalentado se pone en contacto con el producto durante un tiempo determinado para lograr la descontaminación biológica deseada. El recipiente se despresuriza. El CO<sub>2</sub> se elimina como gas. El producto estéril sin ningún residuo se recoge para su posterior envasado. En la Figura 1 también se muestra una imagen de una unidad portátil compacta de 1L

de capacidad que disponemos en el departamento de Ingeniería Química de la Universidad Complutense de Madrid.

### Resultados y Discusión

En el grupo de Procesos en Fluidos Supercríticos de la Universidad Complutense de Madrid comenzamos trabajando en la esterilización de alimentos secos de origen vegetal como cacao, miel o pimentón altamente contaminados con formas esporuladas muy termorresistentes, tales como *Bacillus cereus* o *Clostridium botulinum*. Los resultados mostraron que era posible alcanzar un grado de inactivación de hasta tres órdenes de magnitud de la carga microbiana total, entre 65 y 80 °C en tan solo 20 min de tratamiento<sup>2,3</sup>.

En otro trabajo, estudiamos la inactivación de *Legionella* en medios acuosos<sup>4</sup>. La legionelosis es un conjunto de infecciones causadas por *Legionella pneumophila*, que se puede encontrar en entornos acuáticos naturales y artificiales, como torres de enfriamiento, sistemas de agua de instalaciones hospitalarias y barcos, fuentes, spas naturales, jacuzzis y piscinas. Puede causar enfermedades pulmonares fatales. Una vez que se detecta un brote de *Legionella*, hay que actuar, bien aplicando calor > 70 °C durante al menos 3 h, bien con adición de cloro en condiciones específicas de pH. Nuestro objetivo fue investigar la aplicación de CO<sub>2</sub>sc como pretratamiento del agua para evitar la proliferación de esta bacteria.

Para estas pruebas, desarrollamos una instalación que funciona con contacto continuo en co-corriente del agua biocontaminada y el CO<sub>2</sub>, tal y como se muestra en la Figura 2. El tiempo de contacto se controló cambiando la longitud del tubo de retención donde se mezclaban ambas corrientes. A 100 bar, con un tiempo de residencia de 1 minuto, una relación másica CO<sub>2</sub>/agua de 1 y a temperatura ambiente, fue posible lograr la inactivación

completa de la *Legionella*. Al despresurizar la corriente de salida, debido al efecto Joule-Thomson, el CO<sub>2</sub> causó un importante enfriamiento del agua. Controlando las condiciones de esta despresurización, fue posible llevar el agua de salida a una temperatura adecuada para su reutilización como agua de refrigeración.

Otro ejemplo de aplicación sanitaria fue la esterilización de implantes 3D hechos de biopolímeros para su uso en revestimientos de prótesis de cadera<sup>5</sup>. En este caso, estudiamos la esterilización de *Staphylococcus epidermidis* ya que es la causa de muchos rechazos postquirúrgicos. Utilizamos el CO<sub>2</sub> aplicándolo a 100 bar y una suave temperatura de 40°C por 15 min. Para conseguir el grado de esterilización, se agregaron pequeñas cantidades de aditivos al CO<sub>2</sub>. Pudo lograrse con solo 200 ppm de peróxido de hidrógeno o 1000 ppm de agua.

A continuación, analizamos las propiedades del implante, observando que la velocidad de despresurización era de gran importancia. Si era demasiado rápida, el biopolímero espumaba, causando rugosidades en la superficie y pequeñas burbujas observables por microscopía electrónica. Además, hubo una reducción significativa en su temperatura de transición vítrea. Controlando finamente la despresurización, ninguno de estos dos impactos tuvo consecuencias importantes en la macroestructura del implante, que mantuvo su forma y tamaño con diferencias imperceptibles a simple vista. De hecho, la presencia de cavidades a nivel microestructural podría ser beneficiosa en términos de adhesión del implante a la prótesis.

Otro estudio interesante fue el realizado para el Dirección General de Armamento, Ministerio de Defensa, en la inactivación de un simulante de Antrax (esporas de *Bacillus thuringiensis*) en el equipo del combatiente

# PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN

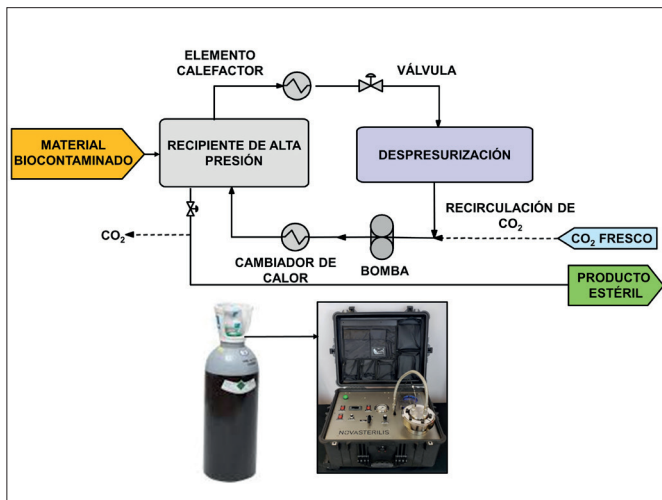


Figura 1. Esquema del proceso de esterilización con CO<sub>2</sub> supercrítico y equipo disponible en la UCM.

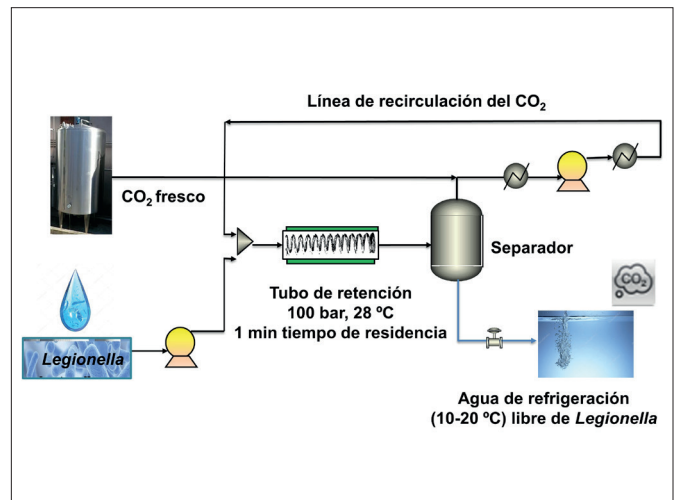


Figura 2. Instalación para la desinfección mediante CO<sub>2</sub>sc, con despresurización controlada para producir agua de servicio. Podría ser una alternativa a las torres de refrigeración.

NBQ (de protección nuclear, biológico y químico) y en varios dispositivos electrónicos de comunicación (radio, móvil y pendrive)<sup>6</sup>. Se perseguía descontaminar estos materiales tan sensibles, complejos y caros después de un hipotético ataque biológico. La presencia

de cierta cantidad de agua era esencial para lograr las siete reducciones logarítmicas de esta potencial arma biológica, como requería la OTAN. Sin embargo, para evitar el mojado de los materiales, el agua se introdujo en pequeñas cantidades (< 4%) arrastrada

por el CO<sub>2</sub>. Más aún, como un pH externo potenciaba la acción esporídica del CO<sub>2</sub>, al utilizar CO<sub>2</sub> mezclado con agua acidificada a pH = 4, las esporas fueron destruidas a 45 °C en 15 min (ver Figura 3). Se midieron las propiedades de todos los tejidos técnicos



## Calor a proceso y vapor para la producción

### Eficiente. Duradero. Fiable.

Tres buenas razones para elegir los sistemas de calderas de alta calidad de Bosch:

- Gastos energéticos reducidos para mayor competitividad.
- Componentes modulares para aumentar la eficiencia de sistemas nuevos o existentes.
- Competencia industrial específica con más de 150 años de experiencia.

[www.bosch-industrial.es](http://www.bosch-industrial.es)



Figura 3. Descontaminación biológica de trajes de combatiente NBQ y dispositivos electrónicos mediante CO<sub>2</sub>sc mezclado con agua ligeramente ácida.

en el Instituto Tecnológico de la Marañosa, con sus métodos estandarizados: ensayos de tracción y desgarro, espesor, repelencia a los aceites, resistencia a la penetración de químicos agresivos y de agua, resistencia al mojado superficial, permeabilidad al aire y al vapor de agua, y absorción hidrostática de agua. Estos datos demostraron que las condiciones tan poco agresivas del tratamiento permitían preservar la calidad de todos los tejidos técnicos y la funcionalidad de todos los dispositivos electrónicos, incluso después de varios ciclos de esterilización.

Ahora estamos investigando la inactivación del virus SARS-CoV-2 en trajes de protección individual (EPIs) empleados en el ámbito sanitario, para poderlos reutilizar o para poder recuperar sus componentes como materia prima, con el soporte de la Comunidad de Madrid y la Unión Europea, a través el Fondo REACT-EU, proyecto ANTICIPA-UCM. Supondría un gran ahorro y una reducción en la peligrosa y excesiva producción de residuos biológicos. Ya hay dos publicaciones en los que se utiliza la esterilización con CO<sub>2</sub> de mascarillas N95<sup>7</sup> y FFP3<sup>8</sup> con buenos resultados en cuanto a mantenimiento de propiedades de filtración e integridad.

## Conclusiones

La temperatura para la esterilización por CO<sub>2</sub> supercrítico es baja y los tiempos se reducen significativamente respecto a otras técnicas. Es aplicable a materiales termosensibles e hidrolíticos de muy diversas naturalezas,

incluyendo polímeros, biomateriales, fármacos, tejidos, equipos electrónicos, etc. Es necesario desarrollar la normativa aplicable a un nuevo procedimiento de esterilización. Como en cualquier otra técnica de esterilización, existe el riesgo de que terminen apareciendo microorganismos resistentes.

Los productos esterilizados por CO<sub>2</sub> se recuperan sin restos de disolvente, pudiéndose reutilizar o reciclar según los objetivos de la Economía Circular. Es posible llevar a cabo la esterilización combinada con extracción / descelerización / secado en un solo paso, cumpliendo con los principios de Intensificación de Procesos.

**Es cierto que las instalaciones son caras, pero la recuperación de materiales de alto valor añadido, pueden acortar el plazo de amortización**

Hay madurez tecnológica para su desarrollo dado que la comercialización de procesos de extracción supercrítica se lleva produciendo desde hace varias décadas. Existen instalaciones e ingenierías capaces de diseñar procedimientos basados en CO<sub>2</sub>sc a todas las escalas. Es cierto que las instalaciones son caras, pero la recuperación de materiales de alto valor añadido, los beneficios medioambientales relacionados, incluido que no sea necesario incinerarlos y la economía de escala, pueden dar rápidos beneficios. Así que ya hay desarrollos comerciales en la preparación de aloinjertos y biomateriales (Biobank, Australian Biotechnologies o Novasterilis).

Estamos en una buena posición en España para liderar el desarrollo de este nuevo procedimiento de esterilización para aplicarlo al ámbito sanitario. Para lo cual, la colaboración público-privada es imprescindible ●

## Referencias

1. N. Ribeiro, G.C. Soares, V. Santos-Rosales, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo, C.A. Garcia-González, A.L. Oliveira, A new era for sterilization based on supercritical CO<sub>2</sub> technology, J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater. 108 (2020) 399–428. doi:10.1002/jbm.b.34398.
2. L. Calvo, B. Muguerza, E. Cienfuegos-Jovellanos, Microbial inactivation and butter extraction in a cocoa derivative using high pressure CO<sub>2</sub>, J. Supercrit. Fluids. 42 (2007). doi:10.1016/j.supflu.2007.01.009.
3. L. Calvo, E. Torres, Microbial inactivation of paprika using high-pressure CO<sub>2</sub>, J. Supercrit. Fluids. 52 (2010) 134–141. doi:10.1016/j.supflu.2009.11.002.
4. D. Martín-Muñoz, D.F. Tirado, L. Calvo, Inactivation of Legionella in aqueous media by high-pressure carbon dioxide, J. Supercrit. Fluids. 180 (2021) 105431. doi:10.1016/j.supflu.2021.105431.
5. L. Calvo, M. Nicolás, D.R. Serrano, Inactivation of Staphylococcus epidermidis in personalized implants using high-pressure CO<sub>2</sub>, in: 2o Encuentro Ibérico Fluidos Supercríticos, Coimbra, Portugal, 2022.
6. L. Calvo, J. Casas, Sterilization of Biological Weapons in Technical Clothing and Sensitive Material by High-Pressure CO<sub>2</sub> and Water, Ind. Eng. Chem. Res. 57 (2018) 4680–4687. doi:10.1021/acs.iecr.7b04794.
7. J. Koplów, K. Smith, N. Jouravel, G.M. Buffleben, A. Sinha, O. Negrete, T. Barnett, R. Karnesky, Supercritical CO<sub>2</sub> Sterilization of N95 Masks, 2020.
8. V. Santos-rosales, C. López-iglesias, A. Sampedro-viana, C. Alvarez-lorenzo, S. Ghazanfari, B. Magariños, C.A. Garcia-González, Supercritical CO<sub>2</sub> sterilization: An effective treatment to reprocess FFP3 face masks and to reduce waste during COVID-19 pandemic, Sci. Total Environ. 826 (2022) 154089.



## Estudio de la Calidad del Aire Comprimido en Industria Farmacéutica

- La industria farmacéutica debe **evitar la contaminación de sus productos** para garantizar su calidad e inocuidad, **eliminando las impurezas del aire comprimido**.
- En **ISCAL** podemos ayudarle a realizar un **estudio de la calidad del aire en sus instalaciones**, el cual le permitirá **tomar decisiones importantes para mejorar sus procesos y producto**.

