

Calidad física, química y microbiológica de los jugos concentrados de naranja fabricados en Venezuela

Rita María Cava R.¹, y Pilar Hernández S.²

Universidad Central de Venezuela

RESUMEN. Los jugos concentrados de frutas son un producto de gran atractivo ya que representan una reducción considerable en los costos de embalaje, transporte y almacenamiento, además de permitir el consumo más allá de la temporada de cosecha.

Debido al potencial ingreso de divisas que su comercialización representa para el país, se hace necesaria una evaluación de las principales causas que puedan afectar la calidad y disminuya su período de vida útil. Con este propósito se evaluaron muestras de producción nacional a las que se practicó análisis físico, químico, microbiológico y se determinó el índice de diacetilo con el propósito de valorar la calidad higiénico-sanitaria.

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la Norma Venezolana Covenin N° 2395-86. Concentrados de frutas para consumo directo.

Se recomienda la determinación de la población de levaduras xerotolerantes, microorganismos responsables del deterioro al interrumpirse la cadena fría y que no pueden ser detectadas con los procedimientos oficiales para determinación de levaduras.

SUMMARY. Physical, chemical and microbiological quality of concentrated orange juices made in Venezuela. Concentrated fruit juices are a very attractive type of product because of the many advantages they offer for reductions in packing, transportation and storage costs, and in addition, they offer the possibility of consumption outside harvesting time.

Due to their potencial in the international market, it is necessary to evaluate if they are accomplishing the quality requirements, and to know the different factors that can affect their stability. For this purpose, samples of national products were analyzed for physical, chemical and microbiological characteristics; the diacetyl test was performed as a measure of the sanitary conditions under processing.

The samples analyzed comply with the national standards established by the Comision Venezolana de Normas Industriales (COVENIN N° 2395-86 Concentrados de frutas para consumo directo).

It is advisable to determine the xerotolerant yeasts population because this type of microorganisms are responsible for spoilage whenever cold storage is interrupted, and because they can not be detected by the official procedures used to detect yeasts.

INTRODUCCION

La producción de jugos concentrados ha ocupado una posición relevante dentro de la industria de alimentos en los últimos años debido a la reducción de costos en el material de embalaje, en el transporte y el almacenamiento así como la posibilidad de consumir la fruta en períodos fuera de la cosecha lo que contribuye a la estabilización de precios en el mercado, a la vez que dichos concentrados constituyen la materia prima para la elaboración de diversos subproductos.

La naranja es una fruta de gran producción en el país y a la vez tiene una gran demanda y aceptación, se obtiene un gran rendimiento durante el procesamiento ya que pueden elaborarse una serie de productos a partir de la pulpa y del jugo tales como néctares, concentrados, cocteles, vinos y bebidas carbonatadas.

Se hace necesaria la evaluación y estudio de las principales causas que contribuyen a alterar la calidad y disminuyen el período de vida útil de estos productos con fines de comercialización, debido al potencial ingresos de divisas que supone la venta de concentrados en el mercado internacional y específicamente en Estados Unidos donde el concentrado es muy apreciado, pero donde privan rigurosos criterios de control de calidad.

Pueden evitarse pérdidas económicas considerables mediante controles rutinarios de materia prima, del producto en proceso y del producto final. La determinación del índice de diacetilo nos permite evaluar la calidad higiénico-sanitaria del producto (1, 2, 3) y a su vez, la determinación de microorganismos potencialmente causantes del deterioro como lo son las levaduras xerotolerantes, las cuales constituyen un parámetro importante en la evaluación de la calidad microbiológica (4-10), especialmente si en algún momento se interrumpe la cadena fría durante el transporte y el almacenamiento.

Se hizo el presente estudio con el propósito de evaluar la competitividad del concentrado de naranja venezolano en mercados internacionales desde el punto de vista de la calidad del producto.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 50 muestras de jugo concentrado de naranja de una marca comercial. Se evaluaron 10 lotes de 5 muestras cada uno. Las muestras fueron adquiridas en los distintos mercados de Caracas.

Análisis físico-químico: Se evaluaron los siguientes parámetros:

- *Actividad de agua (aw):* mediante el higrómetro (Decagon-modelo 20 C-X Decagon Devices Inc., WA, USA). Las determinaciones se realizaron a temperatura de 25° después de calibrar el aparato con diversas soluciones saturadas.
- *Sólidos solubles:* Las mediciones se realizaron empleando un refractómetro de bolsillo modelo Atago (Atago Co, LTD, Japón) después de haber homogeneizado y filtrado el producto, los

1 Master en Ciencias y Tecnología de Alimentos
2 Profesor Asociado. Jefe de la Cátedra de Microbiología de Alimentos. Facultad de Farmacia U.C.V.

resultados se expresaron en grados Brix.

- *pH*: para ello se empleó un pH metro digital EXTECH 701.
- *Contenido de diacetilo*: esta determinación tuvo como propósito el conocer la calidad sanitaria del producto. Se reconstituyó el concentrado de naranja hasta alcanzar una concentración de 12 °Brix, se destilaron mediante un condensador 300 ml de jugo reconstituido, al cual se le añadieron unas gotas de antiespumante, recogiendo los primeros 25 ml de destilado. La formación de diacetilo se evidenció mediante el añadido de solución etílica de β -naftol (Riedel - de Haën Hannover, Alemania), solución de KOH y creatina (Riedel - de Haën Hannover, Alemania) las lecturas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro Spectronic 20 a 530 nm previa construcción de una curva patrón. Los resultados se expresaron en ppm de diacetilo. Debido a que se ha reportado presencia de diacetilo y acetilmetilcarbinol en los jugos de naranja recién exprimidos (11), y se desconocían los valores en la variedad de naranja utilizada para la elaboración del concentrado, se procedió a su determinación en muestras de jugo recién exprimido con el propósito de conocer la cantidad generada por el crecimiento bacteriano.

Análisis microbiológico

Se prepararon diluciones decimales de la muestra en agua peptonada al 0,1 % y se realizaron las siguientes determinaciones:

- *Recuento de aerobios mesófilos*: Se sembró en profundidad 1 ml de cada una de las diluciones en placas por duplicado y se utilizó agar Plate Count (e. Merck, Darmstadt, Alemania). Las placas fueron incubadas a 32 °C durante 48 horas. Se escogió para el recuento aquellas placas con 25-250 colonias, expresándose los resultados en unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml). Se sembró 1 ml de cada dilución por técnica de profundidad, utilizando placas por duplicado de Orange Serum Agar (Difco Laboratories, Detroit Michigan), medio especialmente recomendado para el aislamiento, cultivo y determinación de lactobacilos y microorganismos acidúricos responsables del deterioro de los concentrados cítricos (2, 3).
- *Recuento de levaduras*: Se efectuó mediante la técnica de siembra en profundidad utilizando Agar Papa Dextrosa (Difco Laboratories, Detroit, Michigan) en placas por duplicado. El agar fue acidificado, pH 3.5, utilizando solución de ácido tartárico al 10 %. Las placas fueron incubadas a 25 °C durante cinco días, escogiéndose para el recuento aquellas con 10 a 150 colonias, expresándose los resultados como UFC/ml.
- *Recuento de levaduras xerotolerantes*: Para el recuento de levaduras xerotolerantes se evaluaron dos técnicas, ambas contemplaron la preparación de las diluciones de la muestra empleando solución salina peptonada suplementada con 45 % p/p de sacarosa para evitar el choque osmótico (9,12, 13). Se sembró en profundidad 1 ml de cada dilución en placas por duplicado de Agar extracto de malta-extracto de levadura con 52% de sacarosa p/p (YEMS 52) compuesto por 0.34% p/p de extracto de levadura (Difco), 1.4% p/p de extracto de malta (Difco), 1,5 % p/p de agar (Difco) y 52 % p/p de sacarosa (aw 0.924, pH 5.6) y asimismo, se sembró 0.1 ml de cada dilución, en superficie por duplicado en Agar Plate count (Merck) suplementado con 52 % p/p de sacarosa (PCAS 52) (aw 0.921, pH 7.0). Las placas de ambos medios se incubaron a 32 °C durante seis días. Las colonias de levaduras xerotolerantes fueron tomadas al azar y se probó su capacidad de crecer en medios de 50% p/p de glucosa (aw 0.90) y 60 % p/p de glucosa (aw 0.84) respectivamente.

Fueron identificadas de acuerdo a los criterios de Lodder (14), esto es, estudiando sus características morfológicas, características de la reproducción asexual, características del crecimiento en medio sólido y líquido, capacidad para reproducirse sexualmente y características de las esporas sexuales y mediante pruebas bioquímicas (zimograma y auxanograma).

Análisis estadístico

Se determinaron las medias, los coeficientes de variación, desviaciones standard y los rangos. Se comparó los resultados obtenidos con los diferentes agares mediante el análisis de varianza simple (F de Snedecor) a objeto de establecer diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS

Análisis fisicoquímico:

En la Tabla 1 se presentan los valores obtenidos en las determinaciones de aw, sólidos solubles, pH e índice de diacetilo y se comparan con los requisitos establecidos por la norma COVENIN N° 2395-86.

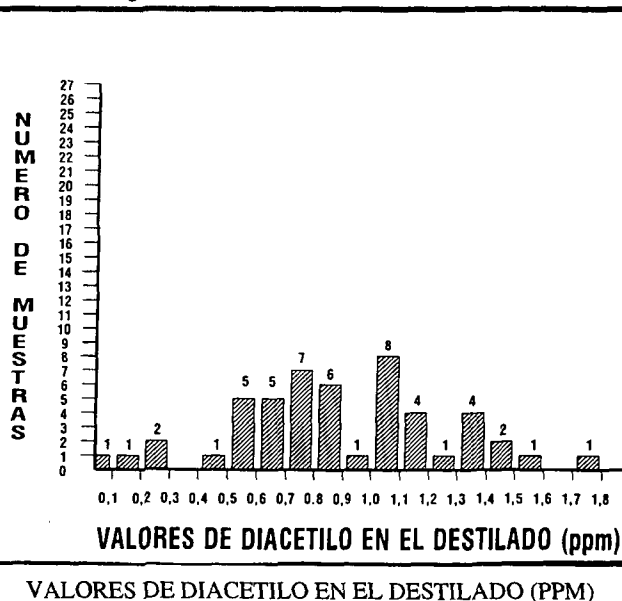
TABLA 1
Evaluación física y química del jugo concentrado de naranja.
Comparación con los requisitos establecidos en la norma
COVENIN 2395-86

Parámetros	Valor encontrado	COVENIN 2395-86
Sólidos Solubles (°Brix)	48.23±0.85	min. 40 - max. 65
pH	3,41±0.16	min. 3.2 - max 3.8
Diacetilo (ppm)	0.88±0.36	NE
Aw	0.9201±0.0064	NE

NE= No establecido

En la Fig. 1 se presenta el histograma de frecuencia de los valores de diacetilo obtenidos en las muestras analizadas.

FIGURA 1
Histograma de frecuencia del índice de diacetilo



Análisis microbiológico:

En la Fig. 2 se comparan los resultados obtenidos para los recuentos de levaduras y aerobios mesófilos en los diferentes medios de cultivo evaluados. En la Tabla 2 se comparan los resultados obtenidos con los requisitos de la Norma COVENIN N° 2395-86.

FIGURA 2

Comparación de los valores promedio de levadura y aerobios mesofilos obtenidos en los diferentes medios

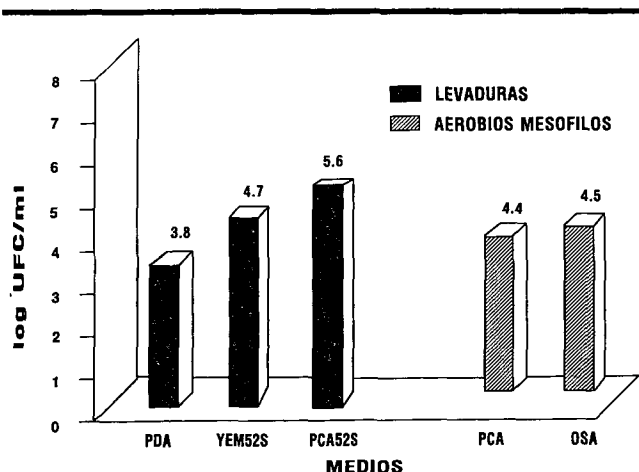


FIG. 2.- COMPARACION DE LOS VALORES PROMEDIO DE LEVADURAS Y AEROBIOS MESOFILOS OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES MEDIOS.

TABLA 2

Evaluación microbiológica del jugo concentrado de naranja. Comparación con los requisitos establecidos en la norma COVENIN 2395-86

Población (UFC/ml)	Valor encontrado		Norma COVENIN	
	m	M	m	M
Aerobios mesófilos	<1	1x10 ⁴	5x10 ³	1x10 ⁴
Levaduras (medio PDA)	<10	1x10 ⁴	5x10 ³	1x10 ⁴
Levaduras xerotolerantes (medio PCA 52S)	<10	8x10 ⁶	NE	

m= límite mínimo
M= límite máximo
NE= No establecido

Los cultivos de levaduras xerotolerantes aislados fueron identificados como *Zygosaccharomyces rouxii*.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en la evaluación fisicoquímica, muestran que el producto se encuentra dentro de los parámetros especificados por la Norma establecida por la Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (5). Ferro Fontan y col (16) encontraron para el jugo de manzana de 45 ° brix valores de aw de 0.93, aunque la composición de los concentrados presente diferencias, los valores teóricos de ambos son semejantes y se corresponden con los encontrados por Brokaw (17) y Murdock y Brokaw (18) y los resultados del presente estudio.

Conforme a lo determinado por Byer (19) y Fields (20) el diacetilo y el acetilmetil carbinol se concentran de 8 a 9.46 veces. En el presente estudio, se encontraron concentraciones de 8.46 veces en los primeros 25 ml del destilado.

Se recomienda la determinación de diacetilo como un método rápido y confiable que permita tener un índice de la calidad sanitaria del producto. Se ha sugerido su utilización en el control de la calidad de los jugos concentrados, en sustitución de las pruebas organolépticas ya que es mucho más sensible que el umbral más bajo de los paneles de degustación entrenados, los cuales se encuentran en el orden de 0.25 ppm, mientras que con esta prueba se puede detectar hasta 0.05 ppm de diacetilo (21). Sin embargo debe tenerse en consideración que factores tales como la población bacteriana, tipo de cepa, pH del jugo, diseño de evaporador y el tipo de procesamiento pueden afectar la tasa de crecimiento bacteriano produciendo un sabor y aroma desagradables. Por este motivo, el valor máximo permisible de diacetilo no es el mismo para todas las plantas procesadoras. Hilly Wenzel (22) encontraron valores de diacetilo en los concentrados de naranja congelados que oscilaban entre 0.1 a 3.3 ppm, con un 88 % de las muestras por debajo de 1.0 ppm, mientras que en los productos en los que se detectó mal sabor y mal aroma, evaluados mediante pruebas organolépticas, los valores de diacetilo fueron 1.3 a 3.3 ppm. Hill y col (23) consideraron que valores de 0.00 a 1.01 ppm no tienen efecto negativo sobre las propiedades organolépticas del jugo.

En todo caso, la presencia de altas concentraciones de diacetilo en el destilado es indicativo de las condiciones sanitarias deficientes antes de la evaporación. En el presente estudio, se encontraron valores promedio de 0.88 ppm de diacetilo en el destilado y conforme se aprecia en la Fig. 1, un 64% de las muestras analizadas presentan concentraciones menores o iguales a 1.3 ppm lo cual permite afirmar que el procesamiento fue realizado bajo buenas prácticas sanitarias y que el consumidor difícilmente podrá encontrar sabor u olor a mantequilla en el producto.

El recuento de levaduras utilizando la técnica de siembra en profundidad y el medio de agar papa dextrosa modificado mostraron resultados que se hallan dentro de las normas nacionales. Al emplear medios específicos para levaduras xerotolerantes (YEM52S y PCA52S) se obtuvieron recuentos más altos. Queda evidenciado así que una parte de la población de levaduras no está siendo detectada por los procedimientos tradicionales y representa un gran potencial de deterioro especialmente cuando las condiciones de almacenamiento no son las adecuadas.

Sin embargo, los recuentos de levaduras xerotolerantes hallados con estos dos medios son inferiores a los determinados por Jermini y col (24) para el jugo concentrado de naranja. Tokuoka (25) encontró que *Z. rouxii* es una de las especies de levaduras xerotolerantes aisladas con más frecuencia en los jugos concentrados de fruta, este hallazgo coincide con los resultados obtenidos. La población de aerobios mesófilos es un índice de la calidad de la fruta y condiciones higiénicas del proceso y varía de acuerdo a la naturaleza de la fruta, método de procesamiento, y tipo de preservación. Los resultados obtenidos coinciden con los reportados para los jugos concentrados congelados por Hatcher y col (26) y con los requisitos establecidos por la norma nacional.

El tratamiento térmico aplicado destruye los microorganismos acidúricos viables, pero algunos esporulados pueden sobrevivir a este proceso y son evidenciados cuando se utilizan medios no selectivos para los recuentos, si bien ellos no tienen relevancia en la determinación de la vida útil del producto, sí van a contribuir a establecer la diferencia de recuentos que se observaron en las

poblaciones de levaduras y aerobios mesófilos. Por otro lado, las temperaturas alcanzadas en el evaporador, por encima de 90 °C, son capaces de destruir la mayor parte de los microorganismos, pero existe la posibilidad de recontaminación del producto concentrado. Estos hechos pueden contribuir a explicar los recuentos más elevados de aerobios mesófilos si se compara con los de levaduras. Sin embargo, los recuentos en los agares YEM52S y PCA52S fueron mayores a los obtenidos en los agares Plate count y Orange Serum lo cual corrobora que parte de la población de levaduras permanece sin detectar. Se observaron resultados significativamente mayores ($p \leq 0.05$) al utilizar el agar Plate Count suplementado con sacarosa los cuales pueden explicarse por la ausencia de choque osmótico y por brindar las condiciones adecuadas para la recuperación de células estresadas por el proceso y condiciones de almacenamiento.

El análisis estadístico revela que si bien los resultados en agar papa dextrosa difieren en casi un grado exponencial con los hallados al utilizar agar YEM 52S, no existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($p \leq 0.05$). Estas diferencias si son estadísticamente significativas cuando se utilizó el agar suplementado con sacarosa. Los resultados confirman los hallazgos de otros autores en el sentido de que el agar papa dextrosa acidificado no es el método idóneo para estimar la población de levaduras en los jugos concentrados (27-29).

Asimismo, los recuentos más elevados obtenidos cuando se siembra empleando la técnica de superficie, usada para el agar PCA 52S, concuerdan con los de Beuchat (30) y Kennedy y col (31).

Los resultados permiten afirmar que el agar PCA 52S constituye el medio más apropiado para evaluar la población de levaduras xerotolerantes y por otro lado un método económico para controles de rutina al utilizar la sacarosa para prevenir el choque osmótico por lo que se recomendaría su utilización aunque no existan requisitos nacionales o internacionales sobre el contenido de levaduras xerotolerantes en este tipo de producto. La calidad de los jugos concentrados de naranja está acorde con la norma nacional de calidad (COVENIN N° 2395-86).

AGRADECIMIENTO

Este material forma parte del trabajo de grado de R. Cava para optar al título de Magister en la Universidad Central de Venezuela.

REFERENCIAS

- Murdock D.L. Diacetyl test as a quality control tool in processing frozen concentrated orange juice. *Food Tech.* 22:90-93, 1968.
- Hays S.G.L. The isolation, cultivation and identification of organisms which have caused spoilage in frozen orange juice. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 64:135, 1951.
- Hays S.G.L. and Riester D.W. The control of «off-odor» spoilage in frozen concentrated orange juice. *Food Tech.* 6:386-389, 1952.
- Tilbury R.H. The microbial stability of intermediate moisture foods with respect to yeast. En: *Intermediate moisture foods*. R. Davies, Birch G.G. y Parker K.J. (Eds) London, Applied Science Publishers Ltd. p.138. 1976.
- Troller J.A. Influence of water activity on microorganisms in foods. *Food Tech.* 3415, 76, 1980.
- Troller J.A. and Christian J.H. *Water Activity and Food*. Academic Press, New York, 1978.
- Pitt J.I. Xerophilic fungi and the spoilage of foods of plant origin. En: *water relations of foods* R.B. Duckworth (ed) New York, Academic Press. p.273. 1975.
- Deak T. and Beuchat L.R. Yeasts associated with fruit juice concentrates. *J Food Protect* 56:777-782. 1993.
- Beuchat L.R. Media for detecting and enumerating yeasts and moulds. *Int J. Food Microbiol.* 17:145-158. 1992.
- Fleet G. Spoilage yeasts. *Crit. Rev. Biotechnol.* 12:1-44, 1992
- American Public Health Association. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* 3rd. Ed. Washington D.C. p. 957-958. 1992
- Jermine M.F. and Schmidt-Lorenz W. Heat resistance of vegetative cells and asci of two *Zygosaccharomyces* yeasts in broths at different water activity values. *J Food Protect.* 50:835-841. 1987
- Beuchat L.R. and Hocking A.D. Some considerations when analyzing foods *J. Food Protect.* 53:984-989. 1990.
- Lodder J. *The yeasts. A taxonomic study.* 2nd ed. Amsterdam, North Holland Publishing Co. 1970.
- Comision Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana. Concentrados de frutas para Consumo Directo N° 2395-86.
- Ferro Fontan, Benmergui C. and Chirife E.A. The prediction of water activity of aqueous solution in connection with intermediate moisture foods. *Aw prediction in multicomponent strong electrolyte aqueous solutions.* *J Food Technol.* 15:47-58, 1980.
- Brokaw Ch. The role of sanitation in quality control of Frozen citrus concentrate. *Food Tech.* 6:344, 1952.
- Murdock D.I. and Brokaw Ch. Spoilage developing in 6-OZ cans of frozen concentrated orange juice during storage at room temperature and 40 °F, with particular reference to microflora present. *Food Tech.* 234:666, 1965.
- Byer L.M. Visual detection of either diacetyl or acetyl-methyl-carbinol in frozen concentrated orange juice. *Food Tech* 8(3):173-174. 1954.
- Fields M.L. Acetylmethylcarbinol and diacetyl as chemical index of microbial quality of apple juice. *Food Tech* 18:114-118. 1964.
- Beisel G.C., Dean R.W., Kitdel R.L. and Rowel K.M. Sources and detection of Voges Proskauer reactants in California orange juice. *Food Research*, 19:633, 1954.
- Hill E.C. and Wenzel F.W. The diacetyl test as an aid for quality control of citrus products. *Detection of bacterial growth in orange juice during concentration.* *Food Tech.* 11:240-243, 1957.
- Hill E.C., Wenzel F.W. and Barreto A. Colorimetric method for detection of microbiological spoilage in citrus juices. *Food Technol.* 8:168-171, 1954.
- Jermine M.G. Geiges O. and Smidt-Lorenz M. Detection, isolation and identification of osmotolerant yeast from high sugar products. *J. Food Protect.* 50:468-472, 1987.
- Tokuoka K. Sugar and salt tolerant yeast. *J. Appl Bacteriol.* 74:101-110, 1993
- Hatcher W.S., E.C. Hill, D.F. Splittstoesser and Weihe J.L. Fruit Beverage. En: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* C. Vanderzant y Splittstoesser D.F. (eds) Washington D.C., American Public Health Association p. 953-960, 1992.
- Nelson F.E. Plating medium pH as a factor in apparent survival of sublethally stressed yeast. *Appl. Microbiol* 24:236-239, 1972.
- Beuchat L.R. Injury and repair of yeast and molds. En: *The Revival of injured microbes* Andrew M.E. and Russel A.D. (eds). London Academic Press. p.293-308. 1984.
- Jarvis B. and Williams A.P. Methods for detecting fungi in food and beverages En: *Food and beverage micology* 2nd Ed. L.R. Beuchat (ed) New York, Van Nostrand Reinhold. p.599-636, 1987.
- Beuchat L.R. Selective media for detecting and enumerating foodborne yeast. *Int. J Food Microbiol.* 19:1-14, 1993.
- Kennedy J.E., Phillips J.R. and Oblinger J.R. Effect of stored pre-pour plates on microbial enumeration using the surface plate method. *J Food Protect.* 43:592-594, 1980.

Recibido: 26-07-1995

Aceptado: 21-11-1995