

Resistencia térmica de levaduras en jugo de naranja a diferentes concentraciones de sólidos solubles

Zoraida Medina de Salcedo, Betzabé Sulbarán de Ferrer, Alexis Ferrer Ocando y Graciela Ojeda de Rodríguez

Laboratorio de Alimentos. Departamento de Química. Facultad Experimental de Ciencias. La Universidad del Zulia.
Maracaibo. Venezuela

RESUMEN. Se estudió el tiempo de reducción decimal (D) de *Rhodotorula rubra* (*R. rubra*) y *Candida intermedia* (*C. intermedia*) a diferentes concentraciones de sólidos solubles 12, 36 y 52 °Brix, en jugo de naranja. Las temperaturas utilizadas fueron 63, 64, 65, 66 y 67 °C. Los D obtenidos siguiendo el método de tubo de Stumbo modificado, para *R. rubra* fueron desde un mínimo de 3.1 seg para 36 °Brix a 67°C hasta un máximo de 209 seg para 52 °Brix a 63°C. Para *C. intermedia*, el D mínimo obtenido fue 3,2 seg. a 12 °Brix a 64°C y el máximo D obtenido fue de 6 seg a 52 °Brix a 64°C. Se evidenció que a medida que aumenta la concentración de sólidos solubles aumenta la resistencia térmica de las levaduras estudiadas, presentando *R. rubra* la mayor resistencia térmica a 52 °Brix. *C. intermedia* es más osmotolerante que *R. rubra* pero más sensible al calor en altas concentraciones de azúcares.

Palabras clave: Tiempo de reducción decimal, sólidos solubles, levaduras, jugo de naranja.

SUMMARY. Thermal resistance of yeasts in orange juice at different concentrations of soluble solids. Thermal decimal reduction time (D) of *Rhodotorula rubra* (*R. rubra*) and *Candida intermedia* (*C. intermedia*) at 63, 64, 65, 66 and 67°C was studied, at soluble solids concentrations of 12, 36 and 52 °Brix in orange juice. Experiments were conducted according to Stumbo method. D values for *R. rubra* were obtained in a range of 3.1 s for D 67°C at 36 °Brix as a minimum to 209 s at 64°C and 52 °Brix as a maximum. For *C. intermedia*, the minimum D value was 3.2 s at 64°C and 12 °Brix and the maximum was 6 s at 64°C and 52 °Brix. It can be noticed that as the concentration of soluble solids increases, the thermal resistance of the yeasts increases. *R. rubra* exhibits its highest thermal resistance at 52 °Brix for all temperatures. *C. intermedia* shows more osmotolerancy than *R. rubra* but it is more sensitive to heat at high sugar concentrations.

Key words: Thermal death time, soluble solids, yeasts, orange juice.

INTRODUCCION

Las bacterias ácido lácticas son la causa primaria del daño microbiológico durante el procesamiento del jugo de naranja, ya que algunas pueden sobrevivir fácilmente a cualquier tratamiento térmico actualmente aplicado al jugo de naranja (1). Las levaduras son consideradas un problema potencial de los jugos de naranja concentrados y jugos refrigerados, debido a su habilidad para sobrevivir y crecer bajo condiciones ambientales adversas.

Se ha demostrado que *C. intermedia* y *R. rubra* son levaduras capaces de resistir los procesos normales de pasteurización comercial, por lo que es muy probable que su alta incidencia en los jugos pasteurizados sea ocasionada por deficiencias en las combinaciones tiempo-temperatura (2). En naranjadas pasteurizadas venezolanas se han encontrado niveles hasta 15×10^4 ufc/ml de levaduras (por encima de la Norma COVENIN), donde *R. rubra* y *C. intermedia* han sido las de mayor incidencia (3).

Con la determinación del tiempo de reducción decimal (D), se busca por vía experimental, las combinaciones de tiempo-temperatura apropiadas para la esterilización comercial que permita una mayor conservación del producto,

sin perjuicio de sus propiedades organolépticas ni de su composición química.

La supervivencia microbiana durante el proceso de esterilización por el calor depende, además de la temperatura alcanzada y de la duración del tratamiento, de la composición del alimento (4). Factores como la concentración de carbohidratos, lípidos y proteínas así como el contenido de humedad y el pH pueden afectar la sensibilidad de los microorganismos al calor. Los carbohidratos presentes en las naranjadas, sacarosa, glucosa y fructosa generalmente resultan en un incremento de la resistencia térmica (5). Otro métodos de inactivación con altas presiones aplicado a jugo de naranja han demostrado poca influencia del pH en la reducción decimal de ascosporas de levaduras (6).

Experimentos anteriores demostraron que *Rhodotorula rubra* es resistente a temperaturas de pasteurización en jugos con concentraciones de 42 y 58 °Brix, mientras que *Candida intermedia* no resistió la pasteurización a concentraciones de sólidos solubles entre 12 y 52 °Brix (2).

El objetivo de este trabajo es determinar la resistencia térmica de las levaduras *Candida intermedia* y *Rhodotorula rubra* en jugos de naranja a diferentes concentraciones de sólidos solubles: 12, 36 y 52 °Brix, en condiciones de estrés

térmico a 63, 64, 65, 66 y 67°C, para generar información basada en nuestra realidad para el diseño de procesos de pasteurización adecuados para la conservación de naranjadas y concentrados de jugo de naranja.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de los cultivos madres de levaduras

Dos volúmenes de 30 ml de jugo extraído de naranjas de la variedad *Citrus sinensis*, maduras, sanas y limpias, fueron esterilizados en autoclave a 105°C por 15 minutos. Luego de enfriados a temperatura ambiente, se inocularon uno con una asada de *R. rubra* y el otro con una asada de *C. intermedia* (ambas cepas fueron aisladas de naranjadas pasteurizadas comerciales de la región zuliana, en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Universidad del Zulia) y se incubaron a 28°C por un período de 48-72 horas hasta que el número de células alcanzó un valor entre 40 y 60 células por campo bajo el objetivo de 40X (2). Con estos cultivos se prepararon los inóculos iniciales para las pruebas de termoresistencia.

Preparación de las muestras de jugo de naranja a diferentes °Brix

Se extrajeron jugos de varios lotes de naranjas en el estudio. A 300 ml de cada uno de los jugos extraídos se le determinó la densidad (7), la acidez titulable (8) y la concentración de sólidos solubles presentes (7) empleando un refractómetro (Abbe, Bausch & Lomb). Todos los jugos se ajustaron a un pH de 3,5 (3) con ácido cítrico. La concentración de sólidos solubles se ajustó a tres valores: 12, 36 y 52 °Brix (% p/p) agregando sacarosa, glucosa y fructosa en proporción 2:1:1. La Tabla 1 muestra la caracterización físicoquímica de las muestras de jugos. Los jugos se repartieron en fiolas de 250 ml, a una razón de 50 ml por fiola y se sometieron a un proceso de esterilización en autoclave a 105 °C durante 15 minutos.

Luego de esterilizados, los jugos a diferentes °Brix se enfriaron a temperatura ambiente y se sembraron con 2 ml de inóculo de *C. intermedia* o con 2 ml de inóculo de *R. rubra* por duplicado. Luego se incubaron a 28 °C de 48 a 72 horas.

Determinación de la concentración de los inóculos iniciales

Se determinó la concentración de cada uno de los cultivos de levaduras a los diferentes °Brix. Se realizaron diluciones 10^{-1} hasta 10^{-5} con agua peptonada, tomándose 0,1 ml de inóculo y colocándose en 0,9 ml de agua peptonada. Cada dilución fue sembrada en 2 placas de agar malta y colocadas a 28°C durante 48 a 72 horas.

TABLA 1
Caracterización físicoquímica de los substratos utilizados (jugo de naranja) para *R. rubra* y *C. intermedia* antes de ser inoculados

Levadura	°Brix (A estandarizar)	Acidez Titulable /100g	Densidad (g/ml)
<i>R. rubra</i>	12	2,24	1,05
	36	2,56	1,05
	52	1,59	1,04
<i>C. intermedia</i>	12	2,55	1,06
	36	2,55	1,06
	52	2,55	1,06

El pH se ajustó a 3,5 en todos los casos.

Determinación de la resistencia térmica de *Candida intermedia* Y *Rhodotorula rubra*

Los experimentos para la determinación de la resistencia térmica se realizaron siguiendo la metodología modificada de tubos de Stumbo (9). Los tiempos y las temperaturas utilizadas en este ensayo son indicados en la Tabla 2, para tres valores de °Brix: 12, 36 y 52.

TABLA 2
Condiciones experimentales para la determinación del tiempo de reducción decimal para *R. rubra* y *C. intermedia*

Levadura	Temperatura °C	12 °Brix (seg)	36 °Brix (seg)	52 °Brix (seg)
<i>R. rubra</i>	63	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	10,40,70,100,130
	64	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	10,40,70,100,130
	65	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	10,40,70,100,130
	66	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	5,10,20,30,40
	67	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	5,10,15,20,25
<i>C. intermedia</i>	63	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	2,4,10,12,14
	64	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	2,4,10,12,14
	65	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	2,4,10,12,14
	66	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	2,4,10,12,14
	67	2,4,6,8,10	2,4,6,8,10	2,4,10,12,14

Para cada °Brix: Se colocó asépticamente 1 ml de inóculo, (extraído del procedimiento anterior 3) en tubos de ensayos (13 x 100 mm, marca Kimax), estériles y con tapones de algodón. Para cada temperatura se utilizaron 10 tubos (2 por cada tiempo). Se utilizó un tubo como control de temperatura al cual se le introduce el termómetro para verificar que se ha alcanzado la temperatura deseada para determinar D.

El proceso se inició utilizando series de tres tubos; se calentaron en un baño de agua con agitación constante, a la temperatura y tiempo señalados. Luego de finalizado el período de calentamiento, los tubos se colocaron inmediatamente en agua fría a 5°C. Se descartó el tubo utilizado para control de la temperatura y se utilizaron los dos restantes para sembrar las placas.

Después del tratamiento térmico y enfriamiento de los tubos, se colocó 0,1 ml de cada uno en dos placas con agar malta, y se incubaron a 28°C durante 48-72 horas. Al final de este período se contó el número de colonias desarrolladas. Seguidamente se graficó en papel semilogarítmico el número de colonias visibles/ml contra el tiempo de calentamiento en segundos para cada temperatura de prueba.

Para cada uno de los microorganismos sometidos a estudio se determinaron las curvas de supervivencia (log del número de sobrevivientes en función del tiempo) y los valores D a cada temperatura, siguiendo los procedimientos señalados

en la literatura (4, 9- 12). Todas las curvas fueron ajustadas estadísticamente por el método de mínimos cuadrados, determinándose los coeficientes de correlación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las características de densidad y acidez titulable de los jugos de naranja para el momento del ajuste de los °Brix aparecen en la Tabla 1. Se observan valores muy similares entre los jugos.

Determinación de la resistencia térmica de las levaduras estudiadas

Para el momento de la determinación del tiempo de reducción decimal (D) el jugo a ser procesado presentaba un buen crecimiento para ambas levaduras. En las Tablas 3 y 4 se presentan los contajes del crecimiento de las levaduras obtenidos después de 48 - 72 horas de incubación.

TABLA 3

Resultados obtenidos del contaje en la determinación de la resistencia térmica (D) en *R. rubra* (ufc/ml)

Sólidos solubles °Brix	Temperaturas utilizadas (°C)					Tiempo (seg)
	63	64	65	66	67	
12	9,00 E+2	1,00E+3	-	-	-	2
Inóculo inicial	3,10 E+2	3,80 E+2	-	-	-	4
2,60 E+7 ufc/ml	7,00 E+1	6,00 E+1	-	-	-	6
36	1,20 E+3	1,60 E+3	3,20 E+3	1,30 E+3	1,50 E+3	2
Inóculo inicial	9,00 E+2	7,20 E+2	+	3,00 E+2	4,20 E+2	4
2,40 E+7 ufc/ml	4,70 E+2	2,50 E+2	3,10 E+2	1,10 E+1	6,10 E+1	6
	9,00 E+1	6,10 E+1	+	4,20 E+1	2,00 E+1	8
	1,40 E+1	2,00 E+1	+	1,80 E+1	-	10
52				1,40 E+4	3,10 E+3	5
Inóculo inicial	5,60 E+4	3,00 E+4	1,10 E+4			10
1,50 E+5 ufc/ml	3,90 E+4	2,40 E+4	6,40 E+3	+	2,70 E+3	10
				+	1,30 E+3	15
	3,20 E+4	1,20 E+3	4,20 E+3		2,00 E+2	70
						20
				9,10 E+3		30
	2,00 E+4	1,30 E+4	7,50 E+2			100
				6,90 E+3	-	40
	1,50 E+4	8,10 E+1				130

- = no hubo crecimiento + = muestra contaminada

TABLA 4
Resultados obtenidos del conteo en la determinación de la resistencia térmica (D) en *C. intermedia* (ufc/ml)

Sólidos solubles °Brix	Temperaturas utilizadas (°C)					Tiempo (seg)
	63	64	65	66	67	
12	3,40 E+3	2,70 E+3	+	+	1,80E+2	2
Inóculo inicial	1,40 E+3	1,20 E+3	2,20 E+2	1,10 E+2	+	4
3,70 E+7	4,20 E+1	3,80 E+2	+	+	+	6
	8,00 E+1	5,00 E+1	3,50 E+1	1,80E+1	+	8
	1,30 E+1	1,00 E+1	-	-	-	10
36	3,20 E+3	2,60 E+3	3,00 E+3	3,00 E+2	2,50 E+2	2
Inóculo inicial	9,00 E+2	+	6,80 E+2	2,50 E+2	8,20 E+1	4
3,80 E+7	4,00 E+2	+	2,80 E+2	1,00 E+2	1,80 E+1	6
	1,50 E+2	1,30 E+2	1,50 E+2	2,50 E+1	1,00 E+1	8
52	4,70 E+1	5,00 E+1	4,50 E+1	-	-	10
Inóculo inicial	6,40 E+3	3,10 E+3	2,00 E+3	1,40 E+3	2,80 E+2	2
9,90 E+6	1,30 E+3	2,00 E+2	1,80 E+2	1,00 E+2	+	6
	6,50 E+1	4,50 E+1	3,50 E+1	2,50 E+1	1,60 E+1	10
	3,00 E+1	1,80 E+1	2,40 E+1	1,40 E+1	-	12
	1,50 E+1	1,00 E+1	1,10 E+1	-	-	14

- = no hubo crecimiento + = muestra contaminada

En la Tabla 3 que reporta la supervivencia de *R. rubra* después del tratamiento térmico, se observa que dicho microorganismo en 12 °Brix resiste sólo las temperaturas de 63 y 64°C y en cortos tiempos (2, 4 y 6 seg). El mínimo conteo se observa a 63 °C durante 8 segundos. Es decir, a esta concentración de sólidos solubles *R. rubra* no es capaz de sobrevivir cuando se expone a 65°C a cualquier tiempo. Para 36 °Brix la levadura sobrevive a todas las temperaturas utilizadas, indicando una ligera protección, los niveles de *R. rubra* a 6 segundos son superiores que a 12 °Brix al mismo tiempo. A 52 °Brix puede notarse que *R. rubra* resiste mejor las bajas temperaturas que las temperaturas altas (66 y 67°C) donde los conteos disminuyen a mayor temperatura de exposición. Sin embargo, se puede notar que a pesar de la variabilidad de los tiempos utilizados para 52 °Brix, el conteo se mantiene aproximadamente en el mismo orden. Se observa una protección franca de los sólidos solubles a las levaduras ya que a esta concentración se deben aumentar sensiblemente los tiempos de calentamiento para conseguir disminuir los conteos de las levaduras. Con relación a los conteos en la suspensión inicial, para 52 °Brix, el resultado fue de 1,5 E+5, valor inferior a los encontrados para 12 y 36 °Brix; esto nos indica que las altas concentraciones de sólidos solubles (una reducida actividad de agua) dificulta el crecimiento normal de *R. rubra*; los conteos a 12 y 36 °Brix fueron muy cercanos.

En la Tabla 4 se reporta el conteo de *C. intermedia* después del tratamiento térmico; se observa que el conteo

de células viables va disminuyendo a medida que aumenta la temperatura y el tiempo de exposición. Tanto en 12 como en 36 °Brix el conteo mínimo se obtuvo a 66°C durante 10 segundos. Para 52 °Brix los tiempos de exposición se aumentaron levemente obteniendo un mínimo conteo a 67°C durante 12 segundos y a 66°C durante 14 segundos. Por otra parte se observa que a 52 °Brix el inóculo inicial experimentó una disminución en su valor con respecto al conteo de los inóculos de 12 y 36 °Brix, similar a *R. rubra*. También se evidencia que a 52 °Brix hay una leve protección del microorganismo a la temperatura ya que se aumenta el tiempo, con respecto a 12 y 36 °Brix, para conseguir una disminución del crecimiento. Es decir, para 12 y 36 °Brix el conteo mínimo se obtuvo a 66°C durante 10 segundos.

Cuando se comparan la Tablas 3 y 4 para 12 °Brix se observa mayor resistencia térmica de *C. intermedia* que logra sobrevivir hasta 67°C, mientras que *R. rubra* sólo resiste hasta 64°C. A 36 °Brix no se pueden detectar diferencias apreciables en la resistencia térmica de las levaduras: Para 52 °Brix se hace evidente el incremento de la resistencia térmica de *R. rubra*, necesitando ensayos hasta un máximo de 130 seg con altos niveles, mientras que *C. intermedia* presenta caídas muy bruscas de sus niveles en tiempos de 14 seg como máximo. Por otra parte, se observa que el conteo de los inóculos iniciales para *C. intermedia* son mayores que para *R. rubra* en todas las concentraciones de sólidos solubles, siendo mayor la diferencia para 52 °Brix, lo que

supone una mayor resistencia de *C. intermedia* a altas concentraciones de sólidos solubles; es decir, es más osmotolerante pero más sensible al calor en estas condiciones.

Estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura (13) donde se demuestra, que en cepas de algunas levaduras expuestas a concentraciones de 50% de azúcar, la resistencia al calor de dichas cepas fue mayor a 30 °Brix que a 12 °Brix. Las levaduras se destruían completamente a 12 °Brix aunque la reducción no fue superior de 0,8 log con respecto a las cepas crecidas a 50 °Brix, tal como se observa en este estudio.

Trabajos realizados en bacterias, mohos y levaduras (12) demuestran que un gran número de proteínas y genes están involucrados en la supervivencia y adaptación a las altas temperaturas. Por otra parte, se reporta la acumulación de trehalosa en levaduras y otros organismos, como un posible protector al calor y la desecación (14, 15). Poco es conocido acerca de la genética y biología molecular de la respuesta al estrés osmótico en microorganismos eucarióticos (16), pero si se conoce un fenómeno fisiológico que se correlaciona con el estrés osmótico, como es la síntesis en las células de solutos compatibles parecidos al glicerol u otros polioles que son los que posiblemente contrarrestan la baja actividad de agua (aw) del medio proporcionando protección a los microorganismos (16, 17).

Los resultados correspondientes a las curvas de tasa letal de las temperaturas estudiadas (63, 64, 65, 66 y 67°C) tanto para *R. rubra* como para *C. intermedia* se presentan en las Tablas 5 y 6. En ambos casos se indican los valores D obtenidos a cada temperatura, la ordenada en el origen, la pendiente y el coeficiente de correlación lineal obtenidos a partir de los datos experimentales, al representar el logaritmo del número de sobrevivientes en función del tiempo de calentamiento.

Al analizar la Tabla 5 donde se señalan los valores D obtenidos para *R. rubra* se observa que los D para 63, 64, 66 a 36 °Brix son muy similares o ligeramente mayores que los D obtenidos para 12 °Brix, lo que indica una ligera resistencia térmica de la levadura a 36 °Brix. Es importante destacar que los valores de la resistencia térmica para 63, 64 y 66°C son similares entre ellos, por lo tanto en este intervalo de temperatura no se pueden detectar cambios drásticos. Cuando se analizan los D para 52 °Brix, se observan valores mayores, por ejemplo, 40 veces mayores que para 12 y 36 °Brix a 63 °C, que demuestran el gran efecto protector a 52 °Brix.

TABLA 5
Valores de D para *R. rubra* en jugo de naranja a 12, 36 y 52 °Brix.

Sólidos solubles (°Brix)	Temperatura (°C)	D (seg)	Ordenada en el origen	Pendiente	Coficiente de correlación
12	63	3,6	3,5 E+3	- 0,277	- 0,98
	64	3,3	4,7 E+3	- 0,300	- 0,99
	65	-	-	-	-
	66	-	-	-	-
	67	-	-	-	-
36	63	4,1	1,0 E+4	- 0,244	- 0,98
	64	4,1	5,9 E+3	- 0,243	- 0,99
	65	-	-	-	-
	66	4,0	3,5 E+3	- 0,245	- 0,99
	67	3,1	6,8 E+3	- 0,320	- 0,99
52	63	209	6,3 E+4	- 0,0048	- 0,99
	64	200	3,3 E+4	- 0,0049	- 0,96
	65	144	1,3 E+4	- 0,0069	- 0,96
	66	-	-	-	-
	67	13	7,1 E+3	- 0,0470	- 0,95

- = no hubo crecimiento o solo hubo crecimiento en dos puntos

TABLA 6
Valores de D para *C. intermedia* en jugo de naranja a 12, 36 y 52 °Brix

Sólidos solubles (°Brix)	Temperatura (°C)	D (seg)	Ordenada en el origen	Pendiente	Coficiente de correlación
12	63	3,3	1,90 E+4	- 0,300	- 0,99
	64	3,2	1,70 E+4	- 0,312	- 0,98
	65	-	-	-	-
	66	-	-	-	-
	67	-	-	-	-
36	63	4,5	8,22 E+3	- 0,222	- 0,99
	64	-	-	-	-
	65	4,2	6,43 E+3	- 0,215	- 0,99
	66	4,0	2,70 E+3	- 0,250	- 0,99
	67	3,5	9,90 E+2	- 0,285	- 0,99
52	63	-	-	-	-
	64	6,	1,90 E+3	- 0,165	- 0,99
	65	5,4	3,30 E+3	- 0,180	- 0,98
	66	5,1	2,50 E+3	- 0,197	- 0,98
	67	-	-	-	-

- = no hubo crecimiento o solo hubo crecimiento en dos puntos

Al analizar la Tabla 6 de *C. intermedia* se observa que los valores D van aumentando a medida que aumenta la concentración de sólidos solubles y a su vez disminuye con el aumento de la temperatura para cada °Brix. Los valores D son ligeramente mayores para 52 °Brix si se compara con los valores D para 12 y 36 °Brix, evidenciándose con ello que existe un ligero aumento de la resistencia térmica de la levadura a 52 °Brix.

Si se comparan los D de *C. intermedia* con los obtenidos en *R. rubra* se observa que ambas levaduras tienen comportamientos térmicos similares a 12 y 36 °Brix a las mismas temperaturas. Cuando se comparan los valores D obtenidos en 52 °Brix en ambas levaduras se evidencia que *C. intermedia* es más sensible al tratamiento térmico a las condiciones utilizadas que *R. rubra*, ya que los D de esta última son mucho mayores, es decir, se necesita mayor tiempo en *R. rubra* para que ocurra una reducción del 90 % de la población inicial, lo que demuestra que *R. rubra* presenta una resistencia térmica superior que *C. intermedia* cuando se encuentra en altas concentraciones de sólidos solubles.

Los resultados sugieren que los altos contajes de *R. rubra* y *C. intermedia* encontrados en las naranjadas pasteurizadas venezolanas, mayores de 10^4 ufc/ml (3), se deben al contenido de levaduras sobrevivientes en los concentrados pasteurizados utilizados para preparar dichas naranjadas y/o a la supervivencia de las levaduras remanentes a las condiciones de pasteurización de las naranjadas. En este sentido, la primera condición favorece a *R. rubra* por su elevada resistencia al calor en altas concentraciones de azúcares, mientras que la segunda favorece a *C. intermedia* por su relativamente elevada resistencia al calor en concentraciones bajas de azúcares. Como *R. rubra* es la levadura de mayor incidencia, la primera condición pareciera predominar.

CONCLUSIONES

A medida que aumenta la concentración de sólidos solubles aumenta la resistencia térmica de las levaduras estudiadas.

Los D obtenidos para *R. rubra* presentan un valor mínimo de $D_{67^\circ\text{C}}$ a 36 °Brix hasta un máximo de $D_{63^\circ\text{C}}$ a 52 °Brix, siendo éste último 40 veces mayor a los encontrados para concentraciones de sólidos solubles menores. *R. rubra* presenta la mayor resistencia térmica a 52 °Brix.

Los D obtenidos para *C. intermedia* presentan un valor mínimo de $D_{64^\circ\text{C}}$ para 12 °Brix y un valor máximo de $D_{64^\circ\text{C}}$ a 52 °Brix. *C. intermedia* es más osmotolerante que *R. rubra*, pero más sensible al calor en altas concentraciones de azúcares.

Los resultados de este trabajo son útiles para el diseño de procesos de pasteurización de concentrados de jugos con altas concentraciones de sólidos solubles.

REFERENCIAS

1. Palop A, Alvarez I, Raso J, Condon S. Heat resistance of *Alicyclobacillus acidocaldarius* in water, various buffers, and orange juice. *J Food Prot.* 2000;63(10):1377-1380.
2. Delgado SL. Efecto de los sólidos solubles en la resistencia térmica de las levaduras presentes en el jugo de naranja pasteurizado en varias etapas de concentración. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Departamento de Biología. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. 1988.
3. Guerra I. Evaluación de la calidad microbiológica de las naranjadas pasteurizadas. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Departamento de Biología. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. 1988.
4. Fennema O. *Physical Principles of Food Preservation.* M. Dekker ed. New York. 1975;199-202.
5. Nover L. Heat-shock response. CRC Press. Boca Ratón. Florida. USA. 1991.
6. Zook C, Parish M, Braddock R, Balaban M. High pressure inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores in orange and apple juices. *J Food Sci.* 1999;64(3):533-535.
7. A.O.A.C. Asociación of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis.* 13th Edition. Washington, D.C. 1980;17-38.
8. Juven BJ, Conner J. Influence of orange juice composition on the thermal resistance of spoilage yeast. *J Food Sci.* 1975;43: 1074-1080.
9. Stumbo CR. *Thermobacteriology in food processing.* 2th Edition. Academic Press. New York and London. 1973; 88-90.
10. Frazier WC and Westhoff DC. *Microbiología de los Alimentos.* 3era Edición española. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 1985.
11. I.C.M.S.F. International Commission on Microbiological Specifications for foods. Volumen I. Zaragoza. España. 1980;75-78.
12. Nash CH and Grant DW. Thermal stability of ribosomes from a psychrophilic yeast, *Candida nivalis*. *Can J Microbiol.* 1969;15: 1116-1118.
13. Jay JM. *Modern Food Microbiology.* 4th Edition. Chapman & Hall ed. New York. 1992;336-342.
14. Kefford JF and Chandler BV. The chemical constituents of citrus fruits. Academic Press. New York. 1970; 24-30.
15. Sulbarán de Ferrer B, Trávez D, Ferrer A, Ojeda de Rodríguez G, Nava R. Effect of sugar concentration and pasteurization on survival of *Rhodotorula rubra* and *Candida intermedia* in orange juice. *Rev Fac Agron. (LUZ),* 1998;15(3):256-261.
16. Blomberg A and Adler L. Physiology of osmotolerance in fungi. *Adv Microbiol.* 1992;33: 145-212.
17. Brown AD. Compatible solutes and extreme water stress in eukaryotic micro-organisms. *Adv Microbiol Pysiol.* 1978;17: 181-242.

Recibido:10-07-2000

Aceptado: 19-02-2001