

Estudio de hongos contaminantes en el proceso de elaboración de jugos concentrados de naranja y mandarina

Sobrero, M.S.*; Basílico, M.L.**; Sanchis, J.C.*; Basílico, J.C.**

* Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral.

** Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral.

Santiago del Estero 2829. (3000) Santa Fe. E-mail: sobrero @ fbcb.unl.edu.ar

RESUMEN: Hasta la actualidad se consideraba a los jugos concentrados, un medio poco apropiado para el desarrollo de microorganismos, por su baja actividad acuosa, bajo pH, escasez de oxígeno y por haber sido pasteurizados. Todo esto reduce al mínimo el ataque bacteriano, por lo que hongos y levaduras son la flora predominante en su alteración. El propósito de este trabajo fue, evaluar la incidencia del proceso de elaboración y las condiciones de higiene en la contaminación por mohos de los jugos concentrados. Se observó como la calidad de la fruta y el ambiente del proceso inciden en el producto final. Se constató la presencia de *Neosartorya fischeri* que se caracteriza por su termoresistencia. Además, se aislaron mohos xerofílicos, mohos que toleran bajas concentraciones de oxígeno y mohos que metabolizan conservantes. También se identificaron hongos productores potenciales de toxinas de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.

Palabras claves: Jugos - Cítricos - Mohos - Elaboración.

SUMMARY: Analysis of contaminating fungi in the elaboration process of oranges and tangerines concentrated juices. Sobrero, M.S.*; Basílico, M.L.**; Sanchis, J.C.*; Basílico, J.C.**. Concentrated juices have been traditionally considered as little suitable media for the development of microorganisms because of their low pH, water activity, their low dissolved oxygen content and the pasteurization process. All these factors minimize the possibility of development of bacteria and so only some species of yeast and moulds are the microflora commonly found. The aim of this work was to evaluate the incidence of the elaboration process and its hygienic conditions on the characteristic moulds of concentrated juices. It was observed that the fruit quality as well as the ambient in which the process is carried out determine the fungi found. *Neosartorya fischeri*, a thermoresistant species, was found in the majority of the samples. Moulds able to develop in low water activity and low oxygen media were also isolated as well as moulds able to metabolise conserving agents. Moulds that are potentially toxicogenic (*Alternaria*, *Fusarium* and *Penicillium*) were also found.

Key words: Juices - Citrus - Mould - Elaboration.

Para que todo el potencial alimenticio de los jugos cítricos llegue al consumidor es indispensable mantener, en la mayor medida posible, todas las virtudes del producto fresco. Lamentablemente para que esto ocurra se debe consumir dentro de las tres horas posteriores a su extracción ya que es altamente perecedero (1-2).

Por esta razón se comenzaron a utilizar diferentes formas de conservación, que en la actualidad van desde el agregado de productos químicos, uso de bajas temperaturas, pasteurización, concentración, atmósferas modificadas y / o la combinación de ellas. Particularmente, al preparar jugos concen-

trados se logran productos más estables, fáciles de conservar y transportar.

Los jugos concentrados argentinos tienen buenos atributos de calidad, buen color y acidez, lo que los hace aptos para la fabricación de bebidas analcohólicas. De la parte de los jugos que se comercializan internamente, el 50% llega a elaboradoras de bebidas gaseosas, el resto se utiliza para diluir, preparar mezclas, polvos con sabores frutales y jugos puros (3).

Dentro de las características que debe reunir un jugo (color, textura, sabor, aroma, valor nutritivo, etc.), se considera fundamental la calidad

microbiológica. La elevada acidez de los jugos reduce al mínimo el ataque bacteriano, por lo que hongos y levaduras son la flora predominante en los procesos de alteración (4-5). Con la pasteurización de los jugos aumenta la vida útil de los mismos al inactivar enzimas (particularmente la pectinometilsterasa) y destruir microorganismos, (levaduras y conidios de contaminantes comunes) (6). Sin embargo los hongos productores de ascosporos son capaces de sobrevivir y hasta de verse favorecida su germinación luego de recibir el shock térmico (7-8). Muchas especies de los géneros *Aspergillus*, *Mucor* y *Penicillium* son más resistentes al calor que los otros hongos. Los esclerocios son realmente difíciles de destruir por calor (5). En el caso de los jugos concentrados, estos hongos tienen posibilidades de desarrollarse ya que son capaces de soportar el proceso de pasteurización, las bajas temperaturas de almacenamiento, la elevada acidez y concentración, además luego de la pasteurización se los ha librado de otros microorganismos competidores.

Hasta el momento, no se habían estudiado en el país la presencia de microorganismos contaminantes y / o toxicogénicos en plantas de jugos cítricos, debido a que las rutinas internas de planta no incluyen análisis con este fin y porque la legislación no solicita más que un recuento de hongos y levaduras (1-2). A pesar de esto, los industriales que deseen seguir compitiendo, deberán asegurar la calidad, ya que existe una tendencia a nivel mundial, de tolerancia cero de microorganismos en los alimentos (9-10-11). El objetivo de este trabajo fue: Identificar el origen y riesgo de la flora fúngica contaminante de jugos cítricos concentrados, a los fines de que la planta productora pueda implementar sistemas de HACCP.

Materiales y Métodos

Muestras: Las mismas corresponden a frutas, jugos, agua y aire de una fábrica que elabora jugos cítricos concentrados, que se comercializan en el mercado interno de la República Argentina. El muestreo se realizó directamente en la planta elaboradora entre los meses de Agosto a Diciembre de los años 1999 y 2000. La misma procesa entre 1500 a 2000 litros de jugo / hora / línea de exprimido. Se trabaja en forma alternada con las diferentes frutas, realizando paradas periódicas para sanitización

que responden al manual de procedimiento de la empresa y a su laboratorio. Los puntos elegidos para la toma de muestra (marcados con un *) se detallan en el diagrama de flujo correspondiente al proceso que se lleva a cabo en la planta, tanto para jugo de naranja como de mandarina. Todas las muestras se recogieron en recipientes estériles y se conservaron a baja temperatura hasta su procesamiento (dentro de las 24 h. de extracción).

Diagrama de flujo del producto en la planta



• **Fruta entera:** Se estudiaron naranjas y mandarinas frescas, tomadas al azar de la playa de alimentación de la planta. Se seleccionaron frutas sanas, así como visiblemente afectadas y encerasadas (las ceras utilizadas en las plantas de empaque contienen fungicidas).

• **Jugo recién exprimido:** Tomado al final de la línea de extracción que está dotada de exprimidoras tipo FMC.

• **Jugo pasteurizado:** Se tomó a la salida del pasteurizador a placas tipo Alfa Laval que tiene un holding de un minuto y opera según el producto aproximadamente a 95 ° C.

• **Jugo concentrado:** En este caso la muestra se recogió a la salida del tercer efecto del evaporador.

• **Jugo enfriado:** Se recolectó de los tanques de almacenamiento interno de la planta previos al envasado.

• **Agua de recirculación interna:** Este agua se utiliza para pulverizar en las copas de exprimido y arrastrar los aceites esenciales de la cáscara.

• **Aire ambiental :** Se muestreó en la playa de la planta cuando se vuelcan los bins en las cintas transportadoras, en la zona de lavado de la fruta, en la

zona de las FMC, en la zona del pasteurizador, del enfriador de envasado.

Procesamiento de las muestras

Fruta entera: Se sembraron trozos de la cáscara de la fruta tanto de zonas lesionadas, como de aquellas sin daño aparente en los medios diclorán - rosa de bengala - cloranfenicol - agar (DRBC) y papa - dextrosa- agar (PDA).

Jugos y agua del proceso: Se procedió de acuerdo al esquema que se presenta en la Tabla 1.

Aire ambiental: Se realizó la toma de aire durante un minuto, con un impactador aire - superficie (SAS) marca Himedia, modelo Hiair, India. Se procedió al recuento de los mohos ambientales utilizando medio extracto de malta - agar (MEA) inoculado durante un minuto e incubado a 25 °C durante 48 horas.

Tabla 1: Esquema de siembra para jugos de naranja, mandarina y agua del procesos

Muestra	Diluciones en agua de Peptona 0,1%P/V	DRBC	PDA	MY50G ^a	PDA de doble concentración ^b
Jugos recién exprimidos	Hasta 10 ⁻⁶	+	+	ns	+
Agua de recirculación interna	Hasta 10 ⁻⁶	+	+	ns	+
Jugos pasteurizados	ns	+	+	ns	ns
Jugos concentrados	Sin diluir y 10 ⁻¹	+	+	+	ns
Jugos enfriados	Sin diluir y 10 ⁻¹	+	+	+	+

+: Se sembró en superficie 0,1 ml y en profundidad 1 ml.

ns: No se sembró.

a: El medio extracto de malta - extracto de levadura - 50 % de glucosa - agar (MY50G) posee un a_w similar al de los jugos cítricos concentrados, se utilizó para recuperar hongos xerofílicos.

b: El medio PDA de doble concentración se utilizó para sembrar jugos que previamente se sometieron a un choque térmico de 30 minutos a 80 ° C para activar los esporos de los hongos termo resistentes. En el caso de los jugos pasteurizados y concentrados se consideró innecesario. A los jugos concentrados y enfriados si se les realizó este procedimiento, por las contaminaciones que puedan haber ocurrido post - pasteurización.

minutos) a este jugo previamente diluido con agua de peptona, para luego sembrar en PDA de doble concentración. (12).

Recuento, aislamiento e identificación: Todos los recuentos se realizaron por duplicado luego de incubar las placas a 25°C durante 5 - 30 días. Luego del recuento y aislamiento, se procedió a la identificación de la flora fúngica, siguiendo la metodología de Pitt et al., 1997. Como bibliografía accesoria se usó entre otros: Booth, C (13); Carmichel, J.W et al., (14); Deak T. Et al., (15); Ellis, M.B., (16); Gerlach, W.et al. (17); Klinch,M.A. et al., (18); Nelson.Pet al., (19) y Pitt,J.I., (20).

Determinación del pH: Se realizó por potenciometría directa, se utilizó un peachímetro marca Orion modelo 420 A.

Determinación de los grados Brix: Se determinó en forma indirecta midiendo el índice de refracción a 20°C con un refractómetro tipo Abbe marca Zeiss y luego se ingreso a tablas para realizar la conversión.

Determinación de la actividad acuosa (a_w): Se utilizó un equipo marca Aqualab., se trabajó a

20°C y la lectura se realizó cuando se alcanzó el punto de rocío.

Resultados y Discusión

En la Tabla 2 se pueden observar los hongos aislados de la superficie de las frutas enteras; se destaca la presencia de gran cantidad y variedad de mohos, así como algunos potencialmente toxico-génicos. Los géneros y especies encontrados en las frutas coinciden con los mencionados por la bibliografía Nacional e Internacional (5 - 21 a 27) y con lo observado durante años anteriores por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Concordia, Entre Ríos. (Datos aportados por el Ing. Agrónomo Sergio Garram, fitopatólogo del citado Instituto en el año 1999).

Debido al fuerte predominio de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* y a su poder invasivo elevado, para poder aislar otros géneros de la cáscara de las frutas, no se pudo utilizar la técnica de lavado superficial en bolsas de Stomacher, ni hisopado superficial. Se eligió tomar trozos de cáscara y colocarlo sobre los medios de cultivo ya que de esta forma se pudieron recuperar la mayor cantidad y variedad de mohos.

La calidad de los jugos dependerá directamente de la calidad de la fruta con que se trabaje. La presencia de fruta en mal estado en la playa de la planta afecta el ambiente ya que la contaminación del aire por los esporos que vuelan al descargar los camiones y los silos es muy marcada. Además las principales enfermedades de la fruta causadas por hongos se transmiten por simple contacto de una fruta con otra. (25 - 26 - 27). Por otra parte si entra fruta en mal estado a la línea de elaboración se provocan salidas de servicio de las máquinas que exprimen por compresión. Lamentablemente en nuestro país la frutas que llegan a las industrias son el descarte de la fruta de exportación y de consumo, no hay plantas elaboradoras que posean sus propias quintas, ni se premia al productor por la calidad de la fruta como en otros rubros. (28 - 29). En la Argentina no se acostumbra a lavar la fruta con agua con sanitizantes como se hace en otros países porque se considera que puede afectar el sabor. (28 - 29 - 30).

Los jugos recién exprimidos de naranja tiene un pH comprendido entre $3,40 \pm 0,20$, 11° Brix y un a_w de $0,993 \pm 0,012$. Luego del proceso de concen-

tración el pH baja a $2,50 \pm 0,22$, los Brix aumentan a 60° y el a_w desciende a $0,830 \pm 0,010$. En el caso de los jugos de mandarina, los valores iniciales son: $4,34 \pm 0,12$ para el pH, 11° Brix, y $0,992 \pm 0,008$ de a_w , que pasan a $3,50 \pm 0,16$, 60° y $0,870 \pm 0,013$ respectivamente. Estos datos nos ilustran sobre el medio en que van a desarrollar estos mohos, cabe destacar que los jugos concentrados luego se envasan en bolsas de polietileno dentro de tambores de 200 litros, los que se conservan congelados a -18°C o bien se adicionan con benzoato de sodio en las concentraciones permitidas. (1 - 2)

En la Tabla 3 puede observarse el recuento y la identificación de la flora fúngica contaminante en jugos recién exprimidos. La carga fúngica inicial es variable alcanzando los valores más elevados en jugo de mandarina de la campaña 1999.

Comparando los resultados de las tablas 2 y 3, se puede ver que muchos de los hongos que aparecen en el jugo estaban presentes en la fruta, los demás son contaminantes frecuentes del suelo y ambiente. Muchos de ellos aparecen citados en la bibliografía. (6 - 31 a 38).

En lo que respecta a los contaminantes de la cáscara, tienen marcada importancia aquellos que producen su ataque en la zona peduncular, porque puede ser allí donde la exprimidora realice el corte para introducir dentro de la fruta el tubo colector de jugo. Por esta razón es importante contar con fruta sana y limpia.

En la Tabla 4 se puede observar el grado de contaminación y los mohos que predominan en el agua que se pulveriza para arrastrar los aceites esenciales de la cáscara. Su estudio es importante porque dicha operación se realiza en las copas de exprimido y además porque este agua se recircula sin sanitización, (en algunos tramos circula a cielo abierto) y finalmente se centrifuga. Los barros que se obtienen luego de ese proceso tienen gran contaminación, lo que hace preocupante su destino final.

Los jugos pasteurizados, si bien muestran una reducción del número de unidades formadoras de colonias fúngicas (Tabla 5), muestran recuentos que siguen siendo altos y además gran parte de los hongos aislados no son termorresistentes (a excepción de los productores de ascospores como *Neosartorya fischeri*.) lo que estaría indicando que se estaría utilizando una relación tiempo / temperatura inadecuados para la carga fúngica inicial presente en estos jugos. (7 - 39 a 42)

En la Tabla 6 se puede observar la selección de los mohos presentes en los jugos concentrados. Para posibilitar la recuperación de cepas estresadas se prolongó la incubación por un mes. Si bien los recuentos resultaron entre 10 y 100 UFC / ml, que son valores aceptados por la legislación vigente para este tipo de productos. (1-2), esto no implica que los hongos no deban ser estudiados. Los mohos aislados en estos jugos, se caracterizan por ser xerofílicos, por lo tanto los mismos pueden desarrollen en un medio de bajo a_w como es el de los jugos concentrados. Entre ellos algunos son potencialmente toxicogénicos como *Alternaria alternata*, *Penicillium griseofulvum*, *P. citrinum*, *Neosartorya fischeri*, y *Aspergillus flavus*. (5-43 a 46). También hay mohos termorresistentes que pueden soportar posteriores pasteurizaciones cuando se formulen productos, como *Neosartorya fischeri*. Por otra parte, mohos como *Aspergillus niger* y *Eurotium amstelodami* son capaces de metabolizar los conservantes que usualmente se utilizan en la conservación. (1-2-24-47).

En la Tabla 7, referida a los hongos aislados de los jugos concentrados y enfriados, se advierte la presencia de los mismos contaminantes aislados en los concentrados (Tabla 6), a los que se agregan hongos típicamente ambientales como *Cladosporium cladosporioides* y de la fruta como *Penicillium digitatum*. Esto nos podría estar alertando sobre contaminaciones en el enfriador o posteriores al mismo.

Los recuentos correspondientes a los jugos concentrados enfriados no se detallan en la Tabla 7 por ser inferiores a las 100 UFC/ ml, que como ya se dijo anteriormente son valores aceptados por las normas vigentes.

Para completar el estudio se realizó un muestreo del ambiente, seleccionando diferentes puntos de la planta que van desde la zona de descarga de la fruta hasta la de envasado. La carga fúngica en todos los casos superó el orden de 10^4 UFC / m³. La flora encontrada no difirió ni en cantidad, ni en calidad en las distintas zonas y mostró un marcado predominio

de *Penicillium digitatum*, que es el principal contaminante de las frutas. Los otros géneros identificados fueron: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Verticillium*.

Por lo tanto nuevamente se pone en evidencia la necesidad de partir de materia prima de buena calidad y además se debe plantear una mejor sectorización de la planta y purificación del aire de la sala de envasado.

Los medios utilizados en el estudio mostraron una buena recuperación de los hongos contaminantes y la metodología adoptada resultó adecuada.

En lo que respecta a considerar la baja actividad acuosa de los jugos concentrados en general como un inhibidor del desarrollo de mohos, se destaca que se pudieron encontrar como cepas xerofílicas a: *Penicillium expansum*, *P. spinulosum*, *P. griseofulvum*, *P. citrinum*, *P. brevicompactum*, *P. glabrum*, *Aspergillus restrictus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *Eurotium amstelodami* y *Cladosporium sphaerospermum*. (5-48).

El aislamiento de hongos capaces de tolerar bajas concentraciones de oxígeno como: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium expansum*, *P. raistrickii*, *Aspergillus restrictus*, *Neosartorya fischeri*, *Eurotium amstelodami*, *Alternaria Alternata* y *Fusarium equiseti* alertan sobre la utilización sin control de atmósferas modificadas como medida de seguridad. (5-45-49).

La presencia de hongos potencialmente toxicogénicos a lo largo de todo el proceso, como: *Penicillium expansum*, *P. griseofulvum*, *P. raistrickii*, *P. citrinum*, *Neosartorya fischeri*, *Aspergillus flavus*, *A. versicolor* y *Fusarium equiseti* amerita la necesidad de establecer los sistemas de HACCP y además encarar los estudios sobre la capacidad de producción de los metabolitos secundarios de dichas cepas. (5-43 a 46).

Tabla 2: Hongos aislados de las cáscara de mandarinas y naranjas enteras

Año ^a	Naranja		Mandarina	
	PDA	DRBC	PDA	DRBC
1999	<i>Alternaria citri</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>C.</i> <i>sphaerospermum</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Dreschlera tritici-repentis</i> <i>Fusarium lateritium</i> <i>F. solani</i> <i>Penicillium digitatum.</i> <i>P. italicum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>C.</i> <i>sphaerospermum</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Endomyces fibuliger</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium digitatum.</i> <i>P. italicum</i> <i>P. citrinum</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>P. italicum</i> <i>P. expansum</i>	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Penicillium digitatum.</i> <i>P. expansum</i> <i>P. italicum</i>
2000	<i>Alternaria alternata</i> <i>Alternaria citri</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>P. expansum</i> <i>Trichoderma viride</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Mucor racemosus</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>P. italicum</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Penicillium digitatum</i>

a: Período de toma de muestras comprendido entre los meses de Agosto a Diciembre de los años citados

Tabla 3: Recuento e identificación de la flora fúngica contaminante de jugos recién exprimidos de naranja y mandarina

Jugos ^a	DRBC		PDA		Choque termico ^b	
	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados
Naranja 1999	2,3 10 ⁴	No se realizó	5,8 10 ⁴	No se realizó	20	<i>Eurotium aemstelodarni</i>
Naranja 2000	1,5 10 ⁶	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. niger</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium digitatum</i>	6,4 10 ⁷	<i>Fusarium equiseti</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>P. expansum</i> <i>P. citrinum</i>	(-)	(-)
Mandarina 1999	7,6 10 ⁷	<i>Auerobasidium pullulans</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>P. italicum</i>	1,8 10 ⁷	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. digitatum</i>	(-)	(-)
Mandarina 2000	1,7 10 ⁵	<i>Penicillium digitatum</i> <i>P. griseofulvum</i>	3 10 ⁵	<i>Fusarium</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i> <i>P. spinulosum</i>	10	<i>Neosartorya fischeri</i>

a. Se detalla el tipo de jugo y el año de la cosecha.

b. Se calentaron 50 ml de jugo a 80 °C durante 30 minutos en baño de agua, luego se sumergió en baño de hielo y por último se mezcló con medio PDA de doble efecto de la dilución. Se plasmó e incubó a 25 °C durante un mes.

(-): no hubo desarrollo.

concentración para evitar el

Tabla 4: Recuento e identificación de hongos en agua de recirculación interna del proceso de extracción de aceites esenciales de la cáscara

Agua del proceso de: ^a	DRBC		PDA	
	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados
Naranja 1999	1,9 10 ⁶	<i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. expansum</i> <i>P. italicum</i>	3,3 10 ⁶	<i>Fusarium equiseti</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i>
Mandarina 1999	3,8 10 ⁶	<i>Geotrichum candidum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i>	5,0 10 ⁶	<i>Fusarium equiseti</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i>

a: Se detalla el tipo de jugo y el año de la cosecha.

Agua que se utiliza para arrastrar los aceites esenciales, se pulveriza en las copas de exprimido y recircula sin tratamiento en la planta.

Tabla 5: Recuento e identificación de la flora fúngica contaminante de jugos de naranja y mandarina pasteurizados

Jugos ^a	DRBC		PDA	
	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados	Recuento (UFC/ ml)	Hongos identificados
Naranja 1999	$1,3 \cdot 10^2$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. crustosum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i> <i>Neosartorya fischeri</i>	$3,4 \cdot 10^2$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. brevicompactum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. italicum</i> <i>P. spinulosum</i>
Naranja 2000	$1,5 \cdot 10^3$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Eurotium aemstelodami</i>	$5,5 \cdot 10^3$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Eurotium aemstelodami</i>
Mandarina 1999 ^b	$1,6 \cdot 10^2$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Neosartorya fischeri</i>	$1,8 \cdot 10^3$	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Colletotrichum gloesporioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. griseofulvum</i> <i>P. glabrum</i> <i>Neosartorya fischeri</i>

a: Se detalla el tipo de jugo y el año de la cosecha.

b: En el año 2000 no se realizó esta determinación en jugos de mandarina.

Tabla 6: Flora fúngica contaminante de jugos de naranja y mandarina concentrados

Jugos ^a Concentrados	Mohos aislados sin tratamiento		
	DRBC	PDA	MY50G
Naranja 1999	<i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium glabrum</i>	<i>Aspergillus restrictus</i> <i>Aspergillus versicolor</i> <i>Penicillium glabrum</i>	<i>Penicillium glabrum</i>
Naranja 2000	<i>Alternaria alternata</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. glabrum</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Eurotium aemstelodami</i> <i>Penicillium glabrum</i>
Mandarina 1999	<i>Aspergillus restrictus</i> <i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium glabrum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	<i>Aspergillus restrictus</i> <i>Penicillium glabrum</i> <i>P. expansum</i>
Mandarina 2000	(-)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium citrinum</i>

a: Se detalla el tipo de jugo y el año de la cosecha.

(-): no hubo desarrollo.

Tabla 7: Flora fúngica contaminante de jugos de naranja y mandarina concentrados y enfiados

Jugos ^a enfiados	Mohos aislados sin tratamiento			Mohos ^b aislados con choque térmico
	DRBC	PDA	MY50G	
Naranja 1999	<i>Aspergillus versicolor</i> <i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium glabrum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium digitatum</i>	<i>Penicillium glabrum</i> <i>Eurotium aemstelodami</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>
Naranja 2000	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium glabrum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium glabrum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Eurotium aemstelodami</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>
Mandarina 1999	<i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium glabrum</i> <i>P. citrinum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus restrictus</i> <i>Eurotium aemstelodami</i> <i>Penicillium glabrum</i> <i>P. citrinum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>
Mandarina 2000	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Neosartorya fischeri</i> <i>Penicillium digitatum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus versicolors</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium citrinum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>

a: Se detalla el tipo de jugo y el año de la cosecha.

b: Se calentaron 50 ml de jugo a 80 °C, durante 30 minutos en baño de agua, luego se sumergió en baño de hielo y por último se mezcló con medio PDA de doble concentración para evitar el efecto de la dilución. Se plaqueó e incubó a 25 °C durante un mes.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos pudo observarse que la principal fuente de contaminación es la materia prima utilizada, indicando la necesidad de extremar las precauciones en la selección de la misma y la conveniencia de llevar a la práctica tratamientos de sanitización de la fruta.

Por otra parte, el tratamiento térmico de un minuto a 95 °C, no resulta suficiente para lograr una efectiva pasteurización. Así mismo se constató la presencia de ascosporas de *Neosartorya fischeri* que se caracteriza por su elevada termoresistencia.

Respecto a la presencia de mohos xerofílicos, se pudo constatar que los mismos se encuentran presentes a lo largo de todo el proceso productivo, incluyendo la materia recompensa.

En cuanto al riesgo toxicológico se pudo observar la presencia de especies potencialmente toxicogénicas y amerita la necesidad de establecer los sistemas de HACCP, para garantizar la calidad del producto final.

Por último cabe destacar que la metodología utilizada resultó satisfactoria para cumplir con el objetivo propuesto.

Bibliografía

1- CODEX ALIMENTARIUS. (1992): "Zumos de fruta y productos afines". Programa conjunto FAO/OMS sobre normas Alimentarias. Volumen 6.

2- Código Alimentario Argentino. (1992): "Zumos (jugos) normas alimentarias". Marzochi Ediciones Argentinas. 6: 259 - 260.

3- SAGYP (1998). "Jugos Citricos Concentrados". Rev. Alimentos Argentinos. 6: 33 - 37.

4- ICMSF (1990): "Ecología microbiana de los alimentos 1. Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos". Editorial Acribia. España. 19-25.

5- Pitt, J.I.; Hocking, A.D. (1997): "Fungi and food spoilage". 2nd Ed. Blackie A. & P. London U.K..

6- Berry, J.M.; Witter, L.D.; Folinazzo, J.F. (1977): "Growth characteristics of spoilage organisms in orange juice". Food Technol. 10: 553 - 556.

7- Beuchat L.R. (1986): "Extraordinary heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri*. ascospores in fruit products". Journal of Food Science, 51: 1506 - 1510.

8- Douglas King, A.; Halbrook, J.R., W.U. (1987): "Ascospores heat resistance and control measures for *Talaromyces flavus* isolated from fruit juice concentrate". Journal of Food Science., 52: 1252 - 1266.

9- Cherry Burrell Waukesha. (1999): "Cero tolerancia en la producción de jugos". Beverage world. : 52.

10- ICMSF (1991): "El sistema de Análisis de riesgos y Puntos Críticos". Ed. Acribia. España.

11- Bryan F. (1992): "Evaluaciones por análisis de peligros en puntos críticos de control: guía para identificar peligros y evaluar riesgos relacionados con la preparación y la conservación de alimentos". OMS. Ginebra.

12- Pitt, J.I.; Hocking, A.D.; Samson, R.A.; King, A.D. (1992): "Recommended Methods for Mycological Examination of foods". En: Modern Methods in Food Mycology. 1st Ed., Elsevier Sc. Publishers B.V. Holland.

13- Booth, C. (1977): "Laboratory guide to the identification of the mayor Species of *Fusarium*". CMI, Surrey, England.

14- Carmichel, J.W.; Kendrick, W.B.; Connors, I.L.; Sigler, L. (1980): "Genera of *Hyphomycetes*". The University of Alberta Press, Canada.

15- Deak T, Timar E. (1998): "Simplified identification of aerobic sporeformers in the investigation of foods". Intern. Journal of Food Microbiology. 6 (XII):115-125.

16- Ellis, M.B. (1971): "*Demateaceous Hyphomycetes*". Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.

17- Gerlach, W., Nirenberg, H. (1983): "The genus *Fusarium*, a pictorial atlas". Arno Bryndar G., Berlin, Alemania.

18- Klinch, M.A.; Pitt, J.I. (1994): "A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs". CSIRO Division of Food Science. Australia.

19- Nelson, P. et al. (1983): "*Fusarium* Species". An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press. Universty Park and London.

20- Pitt, J.I. (1991): "A laboratory guide to common *Penicillium* species". CSIRO Division of Food Processing. Australia.

21- Nagy, S., Shaw, P. and Veldhuis, M. (1977): "Citrus Science and Technology". Nutrition, Anatomy, Chemical Composition and Bioregulation. The Avi Publishing Company, Inc. Westport. Connecticut. USA. Vol 1.

22- Ranganna, S.; Govindarajan, V. S.; Ramana, K. V. R. (1981): "Citrus Fruits- Varieties, chemistry, technology, and quality evaluation". C.R.C. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, volume 18, issue 4.

23- Ting, S., Russell, L. (Edts) (1986): "Citrus fruit and their products". Analysis and Technology. Ed. by Tannenbaum, S. and Walstra, P. Florida Department of Citrus. Lake Alfred, Florida. USA.

24- Somogyi, L.P., Ramaswamy, H.S., Hui, Y.H. (Edts.) (1996): "Processing fruit Science". Technomic Publishing Company, Inc. Lankaster. Pennsylvania. USA.

25- Palacios, J. (1978): "Citricultura Moderna". Ed. Hemisferio Sur Bs. As. Argentina.

- 26- Wills, R. Et al. (1981): "Post Harvest an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. New South University Wales Press Limited. Kensington. NSW. Australia.
- 27- Instituto Agronomico Do Parana. (1992): "A Citricultura No Paraná". Circular 72. Londreina. Paraná. Brasil.
- 28- Diaz, J. et al. (1997): "Características principales del sector cítrico de la provincia de Corrientes". Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio de la provincia de Corrientes. Argentina.
- 29- Censo Cítrico 1995 de la Provincia de Entre Ríos (1995). Secretaría de Estado de la Producción. Paraná. Entre Ríos. Argentina.
- 30- Winniczuk, P. and Parish, M.E. (1997). "Minimum inhibitory concentration of antimicrobials against micro-organisms related to citrus juice". *Food Microbiology* **14**: 373 – 381.
- 31- Wyatt, M.K.; Parish, M.E.; Widmer, W.W.; Kimbrough (1995): "Characterization of mould growth in orange juice". *Food Microbiology*. **12**: 347-355.
- 32- Parish, M.E.; Higgins, D.P. (1989): "Yeast and moulds isolated from spoiling citrus products and by-products ". *J. Food Protect.* **52**: 261 – 263.
- 33- Sadler, G.; Parish, M.E. and Wicker, L. (1992). "Microbial, enzymatic and chemical changes during storage of fresh and processed orange juice". *J. Food Sci.* **57**: 1187 - 1191.
- 34- Wisse, C.A.; Parish, M.E. (1997) . "Acido thermophilic sporeforming bacilli in citrus industry". Citrus Research and Education Centre – University of Florida –Lake Alfred, FL 338 -350.
- 35- Fellers, P.J. (1988): "Shelf life and quality of freshly squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled citrus juice". *Journal of Food Science.* **53**: 1699.
- 36- Faville, L.W.; Hill, E.C. (1951): "Incidence and significance of microorganisms in citrus juice". *Food Technology.* **5**: 923 - 925.
- 37- Murdock, D.I.; Hatcher, W.S., Jr. (1975): "Growth of microorganisms in chilled orange juice". *Journal of Milk Food Technology.* **38**: 393 – 396.
- 38- Parish, M.E. (1991): "Microbiological concerns in citrus juice processing". *Food Technology.* **45**: 128-134.
- 39- Scott, V.N. and Bernard,D.T. (1987): "Heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* isolated from commercial fruit juice". *J. Food Prot.* **50**: 18-30.
- 40- Quintavalla,S. and Spotti, E. (1993): "Heat resistance of *Talaromyces flavus*, *Neosartorya fischeri* and *Bischoflamyces nivea* isolated from fresh fruit". *Microbiol. Alimentos, Nutr.* **11**: 335- 341.
- 41- Pitt,J.I. and Christian,J.H.B. (1970): "Heat resistance of xerophilic fungi based on microscopical assessment spore survival". *Appl. Microbiol.* **20**: 682-686.
- 42- Hocking , A. D.and Pitt , J.I. (1984): "Food Spoilage Fungi II". Heat resistant fungi. CSIRO Food Res. Q. **44**: 73-82.
- 43- Bankole, S.A. (1993): "Fungi associated with post-harvest rot of sweet and aflatoxin B1 production by isolates of *Aspergillus flavus* on plain and supplemented orange juice". *Die Nahrung*, **37**: 380 - 385.
- 44- Cole, R.J. and Cox, R. H. (1981) "Handbook of toxic fungal metabolites". Academic Press. New York.
- 45- Taniwaki,M.H. (1995): "Growth and micotoxin production by fungi under modified atmospheres". Ph.D. thesis. Kensington, N.S.W.: University of New South Wales. Australia.
- 46- Pitt,J.L. (1997): "Toxicogenic *Penicillium* species". In Doyle, M.P, Beuchat,L.R. and Montville,T.J. (Edts.). *Food Microbiology: Fundamentals and frontiers.* ASM Press. Washington D.C. pp 406 -418.
- 47- Seymour, S. Block (Ed) (1991): "Desinfection, Sterilization and Preservation". 4th Edition.. Philadelphia. London. **47**: 809-812.
- 48- Pitt,J.I. and Christian,J.H.B. (1970): "Heat resistance of xerophilic fungi based on microscopical assessment spore survival". *Appl. Microbiol.* **20**: 682-686.
- 49- Narciso, J.A. and Parish, M.E. (1997): "Endogenous mycoflora of gable-top carton paperboard used for packaging fruit juice". *Journal of Food Science.* **62**: 1223-1225.