

Termorezistencia vegetatívnych buniek kvasinky *Candida maltosa*

DENISA LAUKOVÁ - LUBOMÍR VALÍK
- FRIDRICH GÖRNER - ŠTEFAN SCHMIDT

SÚHRN. V práci sa skúmala teplotná odolnosť kvasinky *Candida maltosa* izolovanej z bombáovaných ovocných jogurtových krémov. Táto sa identifikovala ako druh *Candida maltosa* Komagata, Nakase et Katsuya (Dr. E. Sláviková). Devitalizácia buniek *C. maltosa* sa stanovila v Ringerovom roztoku kapilárnou metódou pri teplotách 65, 70, 75, 80 a 85 °C. Stanovené D-hodnoty boli: $D_{65} = 337,2\text{--}492,0$ s ($n = 6$), $D_{70} = 147,6\text{--}174,0$ s ($n=6$), $D_{75} = 31,1\text{--}44,1$ s ($n = 4$), $D_{80} = 5,1\text{--}5,6$ s ($n=4$) a $D_{85} = 0,8\text{--}0,9$ s ($n=4$). z-Hodnota pre túto kvasinku bola 7,6 °C. Z porovnania D-hodnôt kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* ($D_{55} = 92,5\text{--}102,5$ s a $D_{65} = 7,0\text{--}7,7$ s; $n = 4$) s D-hodnotami *C. maltosa* sa dokázalo, že vyšetrovaný kmeň *C. maltosa* vykazoval významne vyššiu teplotnú odolnosť.

KLÍČOVÉ SLOVÁ: termorezistencia; *Candida maltosa*; D-hodnota; z-hodnota

Poznatky o vplyve zvýšených teplôt na mikroflóru požívatín sú nevyhnutným predpokladom pre aplikáciu účinných procesov opracovania a spracovania požívatín a tiež aj pre postupy sanitačného ošetrovania plôch technologických zariadení, ktoré prichádzajú s požívatinami do styku.

Teplotná odolnosť mikroorganizmov, ich vegetatívnych foriem alebo spór sa v potravinárskej mikrobiologickej praxi charakterizuje D- a z-hodnotami. D-hodnota je čas potrebný na zníženie počtu živých mikroorganizmov o 90 %, resp. o 1 logaritmický poriadok. z-hodnota vyjadruje zvýšenie teploty, ktorému za daných podmienok zodpovedá zníženie hodnoty D o 1 logaritmický poriadok [1–6].

Potravinársku prax z hľadiska príslušných technologických procesov zaujíma, či zvolená kombinácia teploty a času záhrevu je postačujúca na požadovanú devitalizáciu mikrobiálnej populácie.

Ing. Denisa LAUKOVÁ, Ing. Lubomír VALÍK, PhD., Prof. Ing. Dr. Fridrich GÖRNER, DrSc., Doc. Ing. Štefan SCHMIDT, PhD., Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Korešpondujúci autor: Doc. Ing. Lubomír VALÍK, PhD., e-mail: valik@chtf.stuba.sk

Počas teplotnej devitalizácie mikroorganizmov dochádza predovšetkým k poškodeniam DNA a RNA, k denaturácii a koagulácii proteínov, k strate integrity bunkovej steny, príp. k iným zmenám. Inaktiváciu spór sprevádza degradácia malých, v kyseline rozpustných proteínov (angl. small acid soluble spore proteins; SASP), ktoré sú naviazané na molekulu DNA v jadre spóry, chrániac ju tak pred stratou purínových zásad. Tieto proteíny spolu s kyselinou dipikolínovou, iónmi vápnika, horčíka a mangánu udržiavajú spóry v dormantnom stave, ktorý sa vyznačuje značnou odolnosťou voči nepriaznivým vplyvom prostredia. Zníženie obsahu týchto látok v spórach výrazne prispieva k strate tejto odolnosti, vrátane termorezistencie [3, 7–9].

Odolnosť mikroorganizmov voči pôsobeniu teplôt vyšších, než sú maximálne teploty pre ich rast, závisí od druhu, fyziologického stavu, formy existencie a ovplyvňuje ju súbor faktorov vnútorného prostredia potravín, ako napríklad, prítomnosť NaCl, sacharidov a iných osmoticky účinných látok a z toho vyplývajúca znížená hodnota aktivity vody, hodnota pH, obsah tuku, konzervačných látok a pod. Významnú úlohu pri stanovení termorezistencie zohrávajú aj regeneračné schopnosti kultivačného média a spôsob stanovovania počtu buniek alebo spór, ktoré prekonal pôsobenie devitalizačnej teploty [1,3,5].

Značné množstvo kvasiniek sa vyskytuje na nedostatočne sanitačne ošetrovanom technologickom zariadení, ako aj vo vzduchu z okolitého prostredia [10]. Viacero druhov nežiaducich kvasiniek, ktoré sa nachádzajú v prostredí, kde sa spracováva mlieko, býva rezistentných voči bežným čistiacim a dekontaminačným prostriedkom. Podľa Laubschera a Viljoena [11] kvasinky *Debaryomyces hansenii*, *Candida versatilis*, *Torulaspora delbrueckii* a iné javili značnú rezistenciu aj po 60-minútovom pôsobení týchto prostriedkov. Žiadny z deviatich skúmaných komerčných sanitačných prostriedkov nedevitalizoval tieto kontaminačné kvasinky. Je preto možné, že takéto rezistentné kvasinky môžu kontaminovať plochy prichádzajúce do styku s mliekom a mliečnymi produktami.

Ich rast v mliečnych produktoch je umožnený nízkou teplotou, fermentáciou laktózy, asimiláciou organických kyselín ako kyseliny jantárovej, mliečnej a citrónovej, ich lipolytickou a proteolytickou aktivitou, rezistenciou voči vyšším koncentráciám soli a odolnosťou voči čistiacim a dekontaminačným prostriedkom [12].

Podľa Tudora a Boarda [13] z mliečnych produktov bývajú najčastejšie izolované kvasinky rodov *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Yarrowia* a *Candida*. Rody *Kluyveromyces* a *Debaryomyces* bývajú podľa týchto autorov najčastejšie izolované zo syrov a jogurtov. Podľa Jakobsena a Narvhusa [14] bývajú spomedzi príslušníkov rodu *Candida* z jogurtov najčastejšie izolované

C. famata (imperfektné štádium *Debaryomyces hansenii*), *C. lusitaniae* a *C. krusei*. Ak sú jogurty fermentované pri klasických teplotách 42 až 44 °C, pri ktorých sa kvasinky 3 až 4 h nerozmnožujú, potom je ich prítomnosť v jogurtoch vo väčších množstvách spôsobená nedostatočne sanitálne ošetrovaním náradím a zariadením. V prípade, že sú fermentované pri nižších teplotách 35 až 36 °C, môžu sa kvasinky začať rozmnožovať aj počas fermentácie, čo v tomto prípade trvá 12 až 14 h.

Podľa skúseností a poznatkov z literatúry sa chemorezistencia u mikroorganizmov obyčajne vyskytuje spolu s ich termorezistenciou. U izolovanej kvasinky *C. maltosa* sme predpokladali jej zvýšenú termorezistenciu.

Cieľom našej práce bolo charakterizovať teplotnú odolnosť kvasinky *C. maltosa* a porovnať ju s odolnosťou kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Kmeň *C. maltosa* sa v potravinárstve podľa dostupných prameňov izoloval a identifikoval na Slovensku prvýkrát v spojitosti s bombážovaním mliečnych produktov jogurtového typu [15].

Materiál a metódy

Mikroorganizmy

Kmeň *C. maltosa* bol izolovaný z bombážovaného ovocného jogurtového krému. V laboratóriu bol uchovávaný na agare s glukózou, tryptónom a kvasničným autolyzátom (GTK; Imuna, Šarišské Michaľany, SR) pri teplote (5 ± 1) °C. Na prípravu suspenzie vegetatívnych buniek *C. maltosa* s hustotou $\geq 10^5$ KTJ.ml⁻¹ v Ringerovom izotonickom roztoku s hodnotou pH upravenou na 6,8 až 7,0 sa použila 48h kultúra.

Kmeň *S. cerevisiae* bol izolovaný z čerstvého pekárskeho droždia (Fala, Strasbourg, Francúzsko) a uchovávaný obdobne na GTK agare pri teplote (5 ± 1) °C.

Príprava mikrobiálnej suspenzie a spôsob inaktivácie

Na prípravu suspenzie vegetatívnych buniek *C. maltosa* bolo použitých 5 ml fyziologického roztoku s hodnotou pH upravenou na 6,8 až 7,0, v ktorých bola suspendovaná 48 h stará kultúra vyrastená na definovanom povrchu agaru. Počiatočné počty *C. maltosa* alebo *S. cerevisiae* boli v každej z použitých suspenzií stanovené zriedovacou kultivačnou metódou podľa STN ISO 7954 [16] a pohybovali sa v rozmedzí od $7,9 \cdot 10^6$ do $1,0 \cdot 10^8$ KTJ.ml⁻¹ (*C. maltosa*) a od $5,1 \cdot 10^6$ do $1,7 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹ (*S. cerevisiae*). Na inaktiváciu boli zvolené teploty 65, 70, 75, 80 a 85 °C (pre *C. maltosa*) a teploty 55 a 65 °C pre *S. cerevisiae*.

Vlastná devitalizácia bola vykonaná kapilárnou metódou vo vodnom kúpeli (Jumbo, Funke Gerber, Nemecko; 1 K.min⁻¹). Kapiláry boli z vodného kúpeľa po uplynutí príslušného času ihneď prenesené do ľadového kúpeľa a rýchlo ochladené. Po omytí ich povrchu etanolom bol obsah každej z paralelných kapilár prenesený do paralelných sterilných Petriho misiek a zaliaty agarovým médiom s prídavkom odstredeného mlieka (Merck, Darmstadt, Nemecko). Naočkované Petriho misky boli inkubované pri teplote (25 ± 1) °C 48 až 96 h a príslušne vyhodnotené.

Výpočet D- a z-hodnoty

D-hodnoty kvasiniek *C. maltosa* a *S. cerevisiae* boli vypočítané regresnou analýzou zo smernice (k) lineárnej závislosti dekadického logaritmu počtu buniek stanovených kultivačne (KTJ.ml⁻¹) od času pôsobenia inaktivačnej teploty (D = 1/k). Vypočítané D-hodnoty boli overené podľa vzťahu:

$$D = \frac{t_2 - t_1}{\log N_1 - \log N_2}$$

v ktorom N₁ a N₂ sú počty buniek v KTJ.ml⁻¹ stanovené v časoch t₁ a t₂.

z- hodnoty boli vypočítané obdobne, avšak zo závislosti logaritmu D-hodnot od použitých teplôt, pričom

$$z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

kde D₁ a D₂ sú D-hodnoty pri príslušných teplotách T₁ a T₂ [1].

Výsledky a diskusia

Termorezistencia vegetatívnych buniek *C. maltosa*

Kinetika devitalizácie buniek *C. maltosa*, uskutočnená v Ringerovom rozroku pri teplotách 65, 70, 75, 80 a 85 °C, je graficky znázornená na obr. 1 a 2. Ako je z nich vidieť, smernice lineárnych letalitných čiar sa znižujú so zvyšujúcou sa teplotou. Kým pri teplote 65 °C bolo na zníženie počtu *C. maltosa* o 1 logaritmický poriadok potrebných v priemere 6,6 min (397 s), pri teplote 70 °C to bolo už len 2,7 min (160 s). Výraznejšie urýchlenie devitalizácie vegetatívnych buniek *C. maltosa* bolo pozorované po zahreве na 75 a 80 °C. Pri teplote 75 °C sa čas potrebný na zníženie populácie kvasiniek o 1 logaritmický poriadok pohyboval v rozmedzí od 30 do 44 s, čo predstavovalo

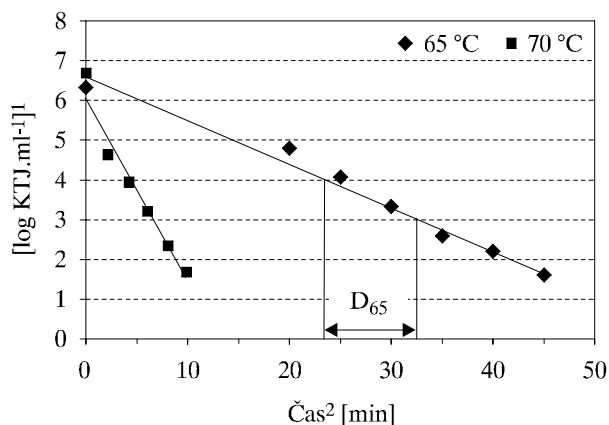
OBR. 1. Letaltná čiara *C. maltosa* v Ringerovom roztoku pri teplotách 65 a 70 °C.

FIG. 1. Survival curves of *C. maltosa* during heat treatment in Ringer's solution at 65 and 70 °C.
1 - [log CFU.ml⁻¹], 2 - time.

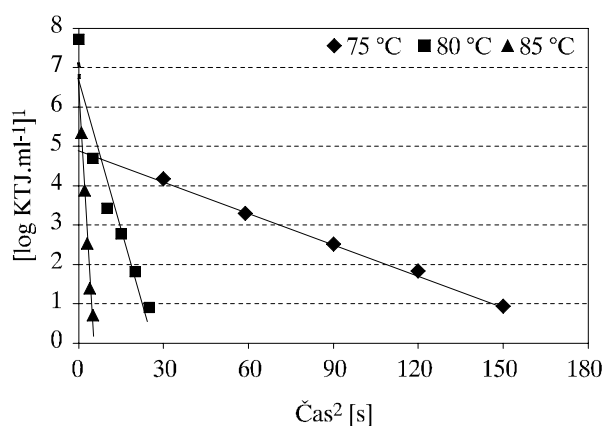
OBR. 2. Letaltná čiara *C. maltosa* v Ringerovom roztoku pri teplotách 75, 80 a 85 °C.

FIG. 2. Survival curves of *C. maltosa* during heat treatment in Ringer's solution at 75, 80 and 85 °C.
1 - [log CFU.ml⁻¹], 2 - time.

10,5-násobné skrátenie v porovnaní s hodnotou D_{65} . Pri teplote 80 °C sa D -hodnota znížila 71 až 77-krát ($D_{85} = 5,14\text{--}5,60$ s; $n = 4$). Najvýraznejšia teplotná devitalizácia buniek *C. maltosa* bola zaznamenaná pri teplote 85 °C, kedy sa vypočítané D -hodnoty pohybovali v intervale od 0,80 do 0,91 s

($n = 4$). V porovnaní s devitalizáciou vegetatívnych buniek *C. maltosa* pri teplote 80 °C bol na zníženie počtu *C. maltosa* o 1 logaritmický poriadok pri 85 °C potrebný 6,3-násobne kratší čas (tab. 1, obr. 2).

Vykonanými experimentami sme zistili, že rýchlosť devitalizácie vegetatívnych buniek *C. maltosa* nebola závislá od počiatkovej denzity buniek *C. maltosa* v suspenziách. Smernice čiar prežívania sa v paralelných pokusoch odlišovali iba minimálne v rozsahu chýb metódy. Napríklad pri pokusoch s počiatkovými počtami od $8,9 \cdot 10^4$ KTJ.ml⁻¹ do $8,9 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹ ($n = 6$), vykonaných pri teplote 65 °C, sa príslušné vypočítané D-hodnoty (tab. 1) líšili v rozsahu variačného koeficienta (relatívnej smerodajnej odchýlky) $v_k = 2,8 \%$. Podobnú situáciu sme pozorovali aj v sérii opakovaných pokusov pri teplotách 70, 75, 80 a 85 °C. Variačné koeficienty boli v poradí uvedených teplôt 7,1 %, 14,4 %, 3,6 % a 5,8 % ($n = 6$ až 4).

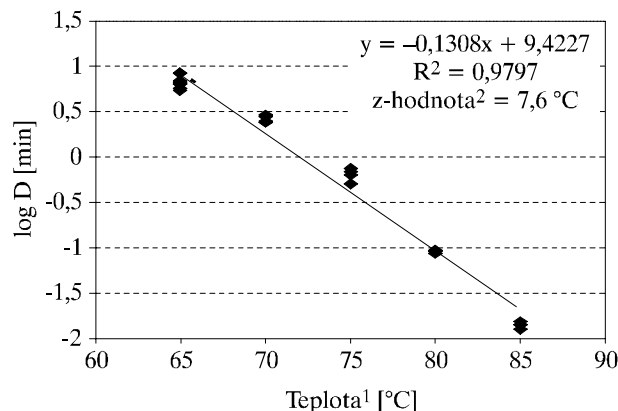
Z vypočítaných D-hodnôt *C. maltosa* sme následne zostrojili tzv. TDT čiaru (z angl. thermal death time) ako semilogaritmickú závislosť D-hodnôt od príslušných teplôt. z-hodnota vypočítaná zo smernice tejto lineárnej závislosti pre vyšetrovanú kvasinku *C. maltosa* bola 7,6 °C (obr. 3), čo znamená, že na 90%-nú devitalizáciu, teda zníženie počtu vegetatívnych buniek o 1 logaritmický poriadok, bolo v intervale inaktivačných teplôt potrebné jej zvýšenie o 7,6 °C.

TAB. 1. D-hodnoty *C. maltosa* experimentálne stanovené kapilárnou metódou v Ringerovom roztoku pri teplotách 65, 70, 75, 80 a 85 °C.

TAB. 1. D-values of *C. maltosa* experimentally determined by the capillary method in Ringer's solution at 65, 70, 75, 80 and 85 °C.

| 65 °C | | 70 °C | | 75 °C | 80 °C | 85 °C |
|------------------------------------|-----|--------------|-----|------------|-----------|-------------|
| D-hodnoty ¹ | | | | | | |
| [min] | [s] | [min] | [s] | [s] | | |
| 6,53 | 392 | 2,84 | 170 | 31,12 | 5,60 | 0,85 |
| 6,51 | 391 | 2,75 | 165 | 40,71 | 5,54 | 0,86 |
| 6,56 | 394 | 2,90 | 174 | 37,00 | 5,14 | 0,91 |
| 6,40 | 384 | 2,53 | 152 | 44,06 | 5,52 | 0,80 |
| 6,72 | 403 | 2,48 | 149 | - | - | - |
| 6,93 | 416 | 2,46 | 148 | - | - | - |
| Priemerné hodnoty ² [s] | | | | | | |
| 396,7 ± 11,3 | | 159,7 ± 11,4 | | 38,2 ± 5,5 | 5,5 ± 0,2 | 0,86 ± 0,05 |

1 - D-values, 2 - average values.



OBR. 3. Inaktivačná „TDT“ čiara *C. maltosa* v Ringerovom roztoku v rozsahu teplôt 65, 70, 75, 80 a 85 °C.

FIG. 3. Thermal death time curve of *C. maltosa* in Ringer's solution within the temperatures of 65, 70, 75, 80 and 85 °C.
1 - temperature, 2 - z-value.

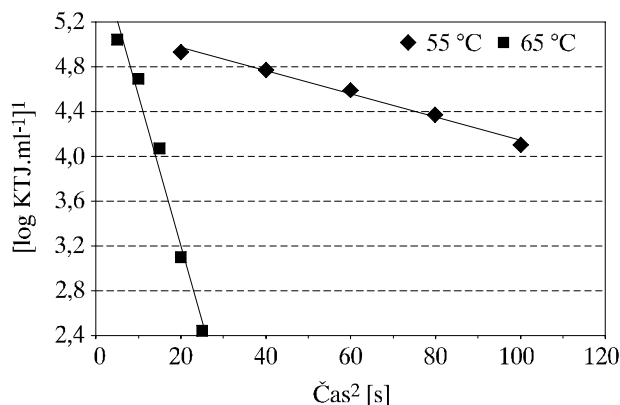
Porovnanie teplotnej odolnosti kvasiniek *C. maltosa* a *S. cerevisiae*

Kinetika teplotnej devitalizácie kvasinky *S. cerevisiae*, stanovená obdobne ako v prípade kvasinky *C. maltosa*, je graficky znázornená na obr. 4.

D-hodnoty vypočítané z experimentálne stanovených letalitných čiar *S. cerevisiae* sa pri teplote 55 °C pohybovali v rozmedzí od 1,54 do 1,71 min (92 až 103 s) a pri 65 °C od 7,03 do 7,66 s. López-Malo a kol. [17] zistili pre túto kvasinku priemerné hodnoty $D_{55} = (2,7 \pm 0,1)$ min (162 ± 6 s).

Z výsledkov prezentovaných v tab. 1 vyplynulo, že vegetatívne bunky kvasinky *C. maltosa* boli v porovnaní s kmeňom kvasinky *S. cerevisiae* výrazne odolnejšie voči pôsobeniu zvýšených teplôt. Priemerná hodnota D_{65} ($396,6 \pm 11,4$ s) buniek *C. maltosa* ($n = 6$) bola približne 53-násobne vyššia ako priemerná hodnota D_{65} pre *S. cerevisiae* ($D_{65} = 7,5$ s; $n = 6$).

Podobne, ako v prípade *C. maltosa*, aj u *S. cerevisiae* rýchlosť inaktívácie nebola závislá od počiatkovej koncentrácie buniek *S. cerevisiae* v pripravených analyzovaných suspenziách pri oboch ohrevoch (55 a 65 °C).



OBR. 4. Letalitiná čiara *S. cerevisiae* v Ringerovom roztoku pri teplotách 55 a 65 °C.

FIG. 4. Survival curves of *S. cerevisiae* during heat treatment in Ringer's solution at 55 and 65 °C.
1 - [log CFU.ml⁻¹], 2 - time.

Záver

V práci bola charakterizovaná teplotná devitalizácia kvasinky *C. maltosa*, ktorá bola na Slovensku podľa dostupných prameňov izolovaná a identifikovaná v súvislosti s bombážou kyslomliečnych produktov jogurtového typu prvýkrát [15].

Získané experimentálne čiary prežívania a z nich vypočítané D-hodnoty potvrdili zvýšenú teplotnú odolnosť tejto asporogénnej kvasinky oproti bežnej kvasinke *S. cerevisiae*. V oboch prípadoch kinetika devitalizácie významne nezávisela od počiatočnej koncentrácie buniek v pripravených suspenziách.

Zvýšená teplotná odolnosť kvasinky *C. maltosa* poukazuje na skutočnosť, že pri výrobe kyslomliečnych produktov, (ale aj nápojov [18]), je potrebné počítať s kontamináciou termotolerantnými kvasinkami zo vzduchu. Navyše v prípade, ak by kvasinky vytvorili na časti technologického zariadenia biofilm, čo napríklad *C. maltosa* dokáže [19], mohli by pri ochrannom účinku jeho povrchových vrstiev prekonať aj krátkotrvajúce ošetrenie nedefinovanou zmesou horúcej pary a vody.

Literatúra

1. STUMBO, C. R.: Thermobacteriology in food processing. New York, Londýn : Academic Press, 1965. 236 s.
2. KYZLINK, V.: Základy konzervace potravin. Praha : SNTL, 1980. 513 s.
3. BANWART, G. J.: Basic food microbiology. New York : Van Nostrand Reinhold, 1989. 773 s.
4. PELEG, M. - COLE, M. B.: Reinterpretation of microbial survival curves. Critical Reviews in Food Science, 38, 1998, s. 353-380.
5. MAZAS, M. - MARTÍNEZ, S. - LÓPEZ, M. - ALVAREZ, A. B. - MARTIN, R.: Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores affected by the solutes used to control water activity of the heating medium. International Journal of Food Microbiology, 53, 1999, s. 61-67.
6. GEERAERD, A. H. - HERREMANS, C. H. - VAN IMPE, J. F.: Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. International Journal of Food Microbiology, 59, 2000, s. 185-209.
7. BEDNÁŘ, M. - FRAŇKOVÁ, V. - SCHINDLER, J. - SOUČEK, A. - VÁVRA, J.: Lékařská mikrobiologie. Praha : Marvil, 1999. 558 s.
8. PAIDHUNGAT, M. - SETLOW, B. - DRIKS, A. - SETLOW, P.: Characterization of spores of *Bacillus subtilis* which lack dipicolinic acid. Journal of Bacteriology, 182, 2000, č. 19, s. 5505-5512.
9. NICHOLSON, W. L. - MUNAKATA, N. - HORNECK, G. - MELOSH, H. J. - SETLOW, P.: Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64, 2000, č. 3, s. 548-572.
10. VILJOEN, B. C.: The interaction between yeast and bacteria in dairy environments. International Journal of Food Microbiology, 69, 2001, s. 37-44.
11. LAUBSCHER, P. F. - VILJOEN, B. C.: The resistance of dairy yeasts against commercially available cleaning compounds and sanitizers. Food Technology and Biotechnology, 37, 1999, s. 281-286.
12. FLEET, G.: Yeast in dairy products - a review. Journal of Applied Bacteriology, 68, 1990, č. 3, s. 199-211.
13. TUDOR, D. A. - BOARD, R. G.: Food spoilage yeasts. In: ROSE, A. H. - HARRISON, J. S.: Yeast Technology. New York : Academic Press, 1993, s. 436-516.
14. JAKOBSEN, M. - NARVHUS, J.: Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. International Dairy Journal, 6, 1996, s. 755-768.
15. LAUKOVÁ, D. - VALÍK, L. - GÖRNER, F. - SCHMIDT, Š.: Vplyv kyseliny mliečnej na rast kvasinky *Candida maltosa*. Bulletin potravinárskeho výskumu, 41, 2002, č. 2, s. 131-143.
16. STN ISO 7954 (56 0087) Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 25 °C. 1997.
17. LÓPEZ-MALO, A. - GUERRERO, S. - ALZAMORA, S. M.: *Saccharomyces cerevisiae* thermal inactivation kinetics combined with ultrasound. Journal of Food Protection, 62, 1999, č. 10, s. 1215-1217.
18. SCHWAN, R. F. - MENDOÇA, A. T. - DA SILVA JR., J. J. - RODRIGUES, V.: Microbiology and physiology of Cachaca (Aguardente) fermentations. Antonie van Leeuwenhoek, 79, 2001, s. 89-96.
19. KOTRBA, D. - SIGLOVÁ, M. - MASÁK, J. - ČEJKOVÁ, A. - JIRKŮ, V.: Vliv podmínek prostředí na adhezi a tvorbu biofilmu. In: Abstrakty z 22. Kongresu Československé společnosti mikrobiologické. Košice : Československá spoločnosť mikrobiologická, 2001, s. 355.

Do redakcie došlo 9.4.2002.

Heat-resistance of vegetative cells of the yeast *Candida maltosa*

LAUKOVÁ, D. - VALÍK, L. - GÖRNER, F. - SCHMIDT, Š.: Bull. potrav. Výsk., 41, 2002, p. 169-178.

SUMMARY. Heat resistance of a yeast *Candida maltosa* was studied. The strain was isolated from spoiled fruit yoghurt and identified as *C. maltosa* Komagata, Nakase et Katsuya (Dr. E. Sláviková). Inactivation was determined by the capillary method at temperatures of 65, 70, 75, 80 and 85 °C in Ringer's solution. Following D-values were determined: $D_{65} = 337.2\text{--}492.0$ s ($n = 6$), $D_{70} = 147.6\text{--}174.0$ s ($n = 6$), $D_{75} = 31.1\text{--}44.1$ s ($n = 4$), $D_{80} = 5.1\text{--}5.6$ s ($n = 4$) and $D_{85} = 0.8\text{--}0.9$ s ($n = 4$). The z-value for this yeast was 7.6 °C. The D-values of *Saccharomyces cerevisiae* were as $D_{55} = 1.5\text{--}1.7$ min and $D_{65} = 7.0\text{--}7.7$ s ($n = 4$). Comparing these results, higher heat-resistance of *C. maltosa* than *S. cerevisiae* was proved.

KEYWORDS: heat-resistance; *Candida maltosa*; D-value; z-value