

Hitzetoleranz von Hefen

Von G. Engel, N. Rösch und K. J. Heller.

Institut für Mikrobiologie der Bundesanstalt für Milchwissenschaft, Kiel

1. Einleitung

Hefen verursachen mikrobiellen Verderb von sauren Getränken und Lebensmitteln einschließlich Sauermilchprodukten. Dabei gibt es zahlreiche Spezialisten, die noch bei sehr extremen Umgebungseinflüssen wachsen können (1). Der sicherste Schutz dieser Produkte vor mikrobiellem Verderb ist eine Inaktivierung oder Abtötung der vorhandenen Hefen durch Hitzebehandlung. Um nachteilige Produktveränderungen zu vermeiden, sollten dabei möglichst schonende aber gleichzeitig ausreichend inaktivierende Erhitzungsbedingungen angewendet werden. Hefen sind ziemlich hitzeempfindlich. Sie werden in der Regel durch 20 bis 30 min langes Erhitzen auf 50 bis 65 °C abgetötet. Dies ist eine Erfahrung der Praxis, vor allem aus der Getränketechnologie. Übertragen auf die milchverarbeitende Industrie geht man davon aus, daß eine Pasteurisierung von Milch und Milchprodukten ausreicht, um einem Verderb durch Hefen vorzubeugen. Voraussetzung ist allerdings, daß man nach der Erhitzung eine Reinfektion erfolgreich verhindern kann.

Es werden in der Literatur keine eindeutigen Angaben über die Hitzetoleranz von Ascosporen gemacht. Man geht zwar davon aus, daß Ascosporen von Hefen, wie die einiger Schimmelpilzarten, wesentlich hitzeresistenter sein sollen als ihre vegetativen Zellen, wobei pH-Wert und Zusammensetzung des Substrates, in dem sich die Hefen bei der Hitzebehandlung befinden, einen gravierenden Einfluß auf die Hitzeresistenz ausüben sollen. Es liegen hierfür aber keine endgültigen, durch entsprechende Untersuchungen belegte Beweise vor (1-3).

In der folgenden Arbeit wurden daher von Hefen einschließlich ihrer Ascosporen, die überwiegend aus Milchprodukten isoliert wurden, Überlebenskurven erstellt und dezimale Reduktionszeiten errechnet. Weiterhin wurde untersucht, ob in Milch Hefezellen thermoresistenter sind als in Ringerlösung und ob eine Pasteurisierung der Milch ausreicht, um Hefezellen einschließlich ihrer Ascosporen abzutöten.

2. Material und Methoden

Malzextrakt-Agar

Fertig-Nährboden der Biologischen Arbeitsgemeinschaft, 35423 Lich

Acetat-Medium, modifiziert, nach Mc Clary (4)

Entmineralisiertes Wasser wurde mit 0,1 % Glucose, 0,12 % NaCl, 0,07 % $MgSO_4 \cdot x H_2O$, 0,25 % Hefeextrakt und 0,98 % Kaliumacetat gemischt und 15 min bei 121 °C autoklaviert. Um ein flüssiges Nährmedium zu erhalten, wurde in Abweichung vom Original-Medium auf Agar-Agar verzichtet.

Herkunft und Kultivierung der Hefestämme

Insgesamt wurden 43 Hefestämme 33 verschiedener Hefearten untersucht, von denen 27 aus Milch bzw. Milchprodukten isoliert wurden. Die Stämme sind mit den Bezeichnungen der Stammsammlung des Instituts für Mikrobiologie der Bundesanstalt für Milchwissenschaft, Kiel versehen. Sie wurden 72 h bei 25 °C auf Malzextrakt-Agar vorge-

züchtet, zur Ascosporenbildung in 50 ml Acetat-Medium überführt, 7 Tage bei 25 °C inkubiert und anschließend bei 6-8 °C gelagert. Für die Hitzeinaktivierungsversuche wurde in Ringerlösung bzw. UHT – Milch (3,5 % Fett) so verdünnt, daß die Konzentration der Hefezellen bzw. Ascosporen zwischen 10^4 und 10^5 K.b.E./ml lag. Um für alle zu untersuchenden Hefestämme gleiche Bedingungen zu gewährleisten, wurden auch die nicht Ascosporen-bildenden Stämme in diesem Medium kultiviert.

Hitzeinaktivierung

Die Hitzeinaktivierung der in Ringerlösung bzw. UHT-Milch suspendierten Zellen wurde in sterilisierten, spiralförmig gebogenen Stahlrohrkapillaren (nahtloser Edelstahl) durchgeführt, deren Bohrung 2 mm, Wandstärke 0,5 mm und Länge 1 m betrug. Zur Temperaturadaptation wurden die mit 2 ml Ascosporensuspension gefüllten Spiralen 5 min bei 40 °C vorgewärmt und anschließend in ein Wasserbad mit Umwälzvorrichtung und geeichter Inaktivierungstemperatur getaucht. Nach Ablauf der Einwirkzeiten wurden die gefüllten Spiralen zur sofortigen Abkühlung in ein Eisbad gelegt, entleert und mit jeweils 2 ml Ringerlösung gespült. Die Spüllösung wurde mit der hitzebehandelten Zellsuspension vermischt und davon abgestufte 1 : 10 Verdünnungen hergestellt. Je 0,1 ml der Verdünnungen wurden auf Malzextrakt-Agar ausplattiert. Die Auszählung der Kolonien erfolgte frühestens nach 3 Tagen und wurde so lange fortgeführt, bis keine Änderungen der Koloniezahlen mehr auftraten, was maximal bis zu 12 Tagen dauern konnte. Die Untersuchung erfolgte als Doppelbestimmung.

3. Ergebnisse und Diskussion

Nach Kreger – van Rij (5), Barnett et al. (6) sowie nach eigenen Erfahrungen eignet sich Acetat-Medium nach Mc Clary besonders gut zur Induzierung einer Ascosporenbildung bei vielen Hefestämmen. Nach Inkubation unter den beschriebenen Bedingungen konnte mikroskopisch festgestellt werden, daß z.B. bei *Saccharomyces cerevisiae* 5640 über 90 % und bei *Kluyveromyces marxianus* 5636 über 80 % der Hefezellen als Ascosporen vorlagen. Bei *S. cerevisiae* 5644 und *K. marxianus* 5651 handelt es sich um nicht-ascosporogene Stämme, so daß auch nach Kultivierung in Acetat-Medium keine Ascosporen nachzuweisen waren.

Zunächst wurde der Einfluß der Lagerdauer auf die Vermehrungsfähigkeit einzelner Hefen bei 8 °C in Acetat-Medium untersucht. Beispielhaft sind die Ergebnisse für die *S. cerevisiae* Stämme 5640 und 5644 in Tabelle 1 aufgelistet. Wie bei anderen Hefearten konnte auch bei 5640 und 5644 innerhalb von 2 Monaten keine signifikante Abnahme der überlebenden Keime beobachtet werden. Es fand zunächst ein moderater Anstieg der Hefezahlen statt, der vermutlich mit dem Auseinanderfallen von Zellverbänden zusammenhängt. Hierdurch erhöht sich die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (K.b.E.). Beobachtet wurde außerdem, daß sich mit zunehmender Lagerdauer der Zeitraum bis zum Erreichen einer konstanten Koloniezahl verlängerte, was zur Folge hatte, daß das endgültige Ergebnis bei den länger lagernden Suspensionen später erreicht wurde.

Tab. 1: Einfluß der Lagerung bei 8 °C in Acetat-Medium auf die Lebensfähigkeit von Hefezellen der *Saccharomyces cerevisiae*-Stämme 5640 (überwiegend Ascosporen) und 5644 (keine Ascosporen)

Lagerdauer	K.b.E./ml	
	5640	5644
0 Tage	$2,8 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$
3 Tage	$4,8 \times 10^5$	$6,7 \times 10^5$
20 Tage	$3,5 \times 10^5$	$5,2 \times 10^5$
40 Tage	$9,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$
60 Tage	$5,1 \times 10^5$	$9,2 \times 10^5$

In den folgenden Abbildungen sind Überlebenskurven verschiedener Hefestämme dargestellt. Diese erhält man, wenn man den Logarithmus der Keimzahl gegen die Zeit aufträgt (7). Diese experimentell aufgenommenen Überlebenskurven verlaufen oft am Anfang und Ende der Reaktion nicht linear. Dies kann durch Inhomogenität bei der Probenentnahme, durch die in der Population in geringem Anteil vorkommenden Keime mit hoher Resistenz oder durch Aggregation von Zellen oder Ascosporen verursacht werden (8, 9). Die vorliegenden Geraden wurden über eine lineare Regressionsanalyse erstellt.

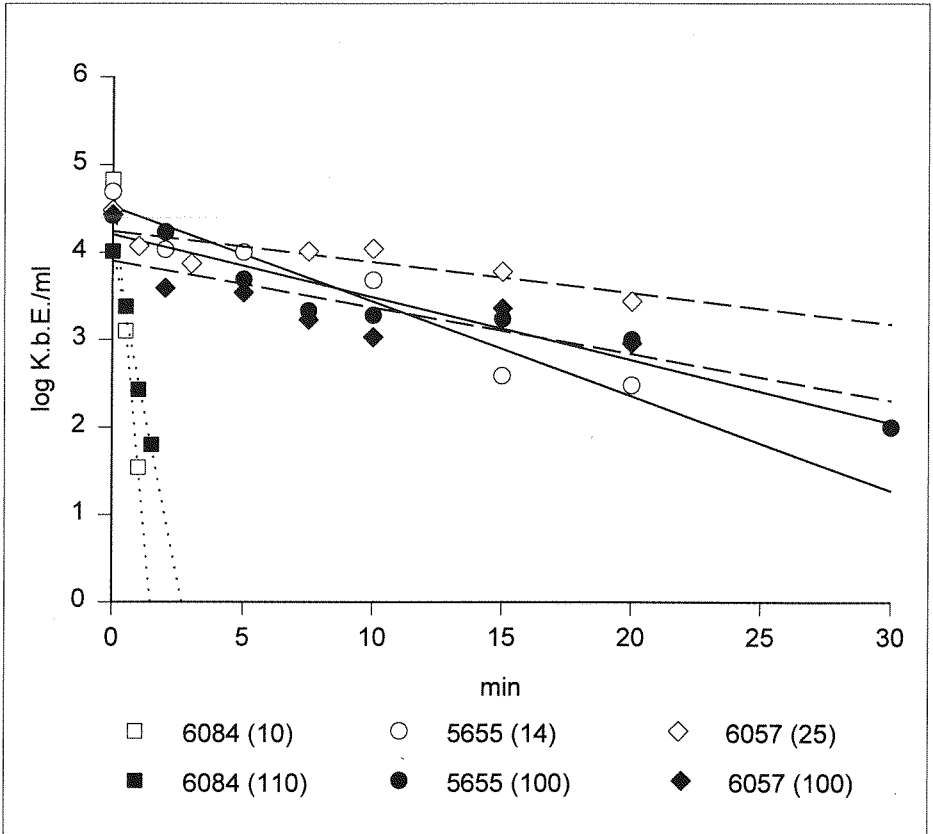


Abb. 1: Überlebenskurven von *C. famata* 6084, *P. farinosa* 5655 und *C. krusei* 6057 nach Erhitzung auf 56 °C und nach verschiedenen Lagerzeiten (Tage)

Abb. 1 zeigt die Überlebenskurven der Hefestämme von *Candida famata* 6084, *Pichia farinosa* 5655 und *Candida krusei* 6057 nach Erhitzung auf 56 °C. Diese Temperatur erwies sich als gut geeignet zur Unterscheidung der Temperaturempfindlichkeiten für die untersuchten Hefestämme. Pro Stamm sind zwei verschieden lang in Acetat-Medium bei 8 °C gelagerte Suspensionen dargestellt. Die Lagerzeiten in Tagen sind in Klammern angegeben. Die hier beispielhaft gezeigten Kurven bestätigen, daß durch eine Lagerung bis zu 60 Tagen und teilweise darüber unter den gegebenen Bedingungen die Thermoresistenz der Hefezellen einschließlich der Ascosporen nicht oder nur unwesentlich beeinträchtigt wird.

Wesentlich gravierender sind die Unterschiede in der Hitzeempfindlichkeit zwischen den einzelnen Hefearten. So ist z.B. *C. famata* 6084 deutlich sensibler als *P. farinosa* 5655 und *C. krusei* 6057. Dies zeigt sich auch in Abb. 2, in der Überlebenskurven nach Hitze einwirkung bei 56 °C von 5 in Milch und Milchprodukten vorkommenden Hefearten gegenübergestellt sind. Hiernach erwiesen sich *C. krusei*, *Pichia membranaefaciens* und *K. marxianus* bei 56 °C als relativ unempfindlich, während *S. cerevisiae* und vor allem *Saccharomyces unisporus* relativ schnell inaktiviert wurden. Aus den experimentell gefundenen Überlebenskurven läßt sich die Dezimalreduktionszeit oder Destruktionswert, auch D-Wert genannt, aus folgender Gleichung berechnen (7):

$$D = \frac{t_2 - t_1}{\lg 10^{n+1} - \lg 10^n}$$

10^{n+1} ist die Keimzahl zur Zeit t_1 und 10^n zur Zeit t_2 .

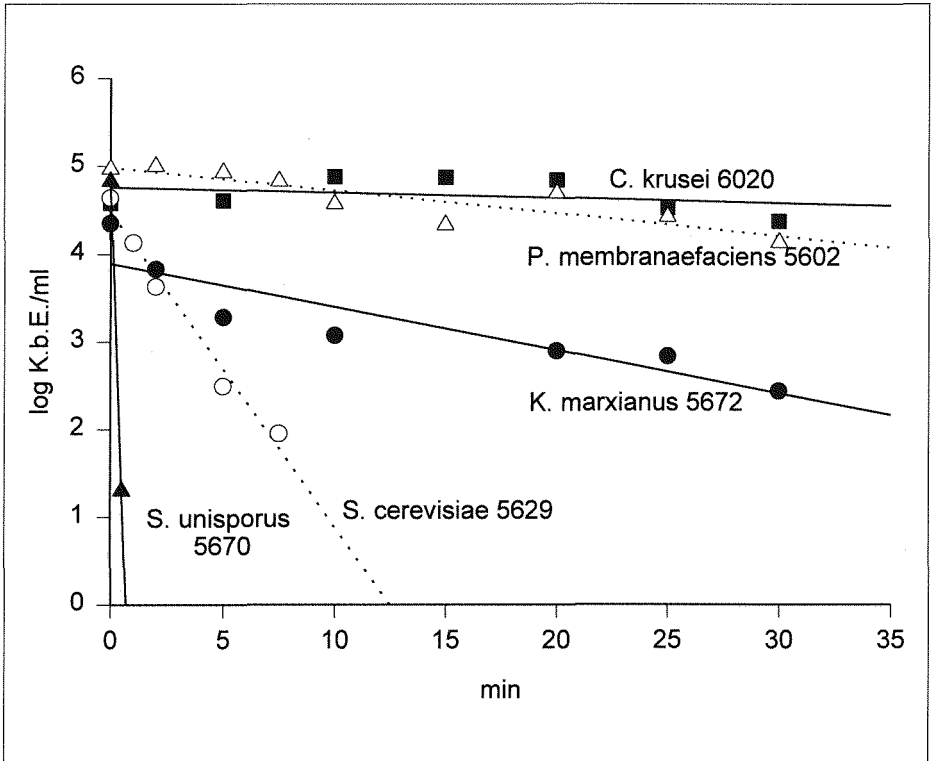


Abb. 2: Überlebenskurven von verschiedenen Hefearten in Ringelösung bei 56 °C

Dieser D-Wert gibt die Zeit an (hier in sec), die erforderlich ist, um die Ausgangskeimzahl für einen bestimmten Mikroorganismus in einem bestimmten Funktionszustand sowie unter genau festgelegten Bedingungen, wie z.B. der Letaltemperatur, um eine Zehnerpotenz herabzusetzen, was einer Abtötungsquote von 90 % entspricht. Je höher der D-Wert ist, desto unempfindlicher sind die Zellen. In Tabelle 2 sind die D-Werte für 43 verschiedene Hefestämme bei 56 °C in Ringerlösung und UHT-Milch (3,5 % Fett) zusammengestellt. Auch hier erkennt man zwischen den einzelnen Arten große Unterschiede. So wurden z.B. für *Cryptococcus laurentii* und *Kloeckera apiculata* nach Hitzeinaktivierung bei 56 °C D-Werte von < 8 bestimmt. Dies bedeutet, daß bei einem Anfangskeimgehalt zwischen 10^4 und 10^5 K.b.E/ml und der ersten Entnahme nach 30 sec keine überlebenden Keime mehr nachgewiesen werden konnten. Für den Stamm 5667 von *P. membranaefaciens* wurden sowohl in Ringerlösung als auch in UHT-Milch D-Werte von > 3000 ermittelt, d.h. auch nach mehr als 30 min dauernder Einwirkzeit bei 56 °C konnte keine signifikante Inaktivierung festgestellt werden, die Kurve verlief während dieses Zeitraumes annähernd parallel zur x-Achse. Für *Geotrichum candidum* und *Trichosporon beigelii* konnten keine linearen Überlebenskurven ermittelt werden. Diese Arten bilden Hyphen, die vermutlich während der Erhitzung in Bruchstücke, den Arthrokonidien zerfallen, wodurch sich die Zahl der K.b.E. ständig verändert. Daher dürften diese ermittelten D-Werte mit größeren Fehler belastet sein. Während zwischen den einzelnen Arten beträchtliche Unterschiede auftraten, waren diese zwischen den Stämmen der gleichen Art so gering, daß sie nicht eindeutig auf unterschiedliche Temperaturempfindlichkeiten zurückzuführen sind.

Vergleicht man die D-Werte in Ringerlösung mit denen in UHT-Milch kann man tendenziell, von wenigen Ausnahmen abgesehen, in UHT-Milch höhere Werte erkennen. Dies bedeutet zwar, daß zur Thermoinaktivierung in UHT-Milch etwas höhere Wärmegrade angewendet werden müßten, was aber in den vorliegenden Fällen für die Praxis wegen der geringen Unterschiede unbedeutend sein dürfte. Bei den Versuchen mit UHT-Milch fiel auf, daß bei fast allen getesteten Stämmen die Anfangskeimzahlen vor der Erhitzung signifikant höher lagen als in der Ringerlösung-Suspension.

In Abbildung 3 sind die Überlebenskurven von *C. krusei* für verschiedene Temperaturen dargestellt. *C. krusei* wurde aus Rohmilch isoliert ist und im Vergleich zu anderen untersuchten Stämmen mit einer der höchsten Temperaturresistenzen ausgestattet. Während bei 56 °C nur eine minimale Inaktivierung erkennbar war, genügte bei 63 °C 8 min und bei 65 °C weniger als 2 min, um 10^5 k.b.E/ml zu inaktivieren. Für die Praxis bedeutet dies, daß Pasteurisierungstemperaturen ausreichen, um Hefen in Milch abzutöten. Das gilt auch für die Ascosporen der untersuchten Hefearten. Die hier durchgeführten Untersuchungen konnten nicht bestätigen, daß Ascosporen, wie bei einigen Schimmelpilzen, auch bei Hefen thermoresistenter sind als die vegetativen Zellen der gleichen Spezies. Während *C. krusei*, die nicht ascosporogene Form von *Issatchenkia orientalis* (6), relativ thermoresistent war, wurde *S. unisporus* trotz Ascosporenbildung (siehe Abb. 2 und Tab. 2) verhältnismäßig schnell bei 56 °C inaktiviert. Eine ähnliche Tendenz zeigen die in den Abb. 4 und 5 dargestellten Überlebenskurven der Hefearten *K. marxianus* und *S. cerevisiae* bei 53 und 56 °C. Je ein Stamm bildete Ascosporen (80 – 90 % der Zellen), und der andere war nicht-ascosporogen. Die nicht-ascosporogenen Stämme wiesen hier eine etwas höhere Thermoresistenz auf.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß Hefen einschließlich ihrer Ascosporen durch eine Pasteurisierung in Milch abgetötet werden. Die beobachteten großen Unterschiede in der Hitzetoleranz der verschiedenen Hefearten sind nur unterhalb von 65 °C von Bedeutung. Unsere Untersuchungen haben aber keinen Hinweis darauf gegeben, daß Ascosporen von Hefen temperaturresistenter sind als die vegetativen Zellen der gleichen Art.

Tab. 2: $D_{56^\circ\text{C}}$ -Werte in sec für verschiedene Hefestämme in Ringerlösung (RL) und UHT-Milch 3,5 % Fett (HM)

Nr.	Spezies	RL	HM
60102	<i>Brettanomyces intermedius</i>	16	63
60114	<i>Candida catenulata</i>	< 8	12
6084	<i>C. famata</i>	18	19
6007	<i>C. guilliermondii</i>	32	39
6059	<i>C. holmii</i>	< 8	46
6082	<i>C. inconspicua</i>	1520	> 3000
6091	<i>C. kefyri</i>	217	567
6020	<i>C. krusei</i>	2000	> 3000
6057	<i>C. krusei</i>	1360	2586
6019	<i>C. lambica</i>	72	110
6034	<i>C. lipolytica</i>	33	37
6094	<i>C. parapsilosis</i>	113	173
6077	<i>C. tropicalis</i>	46	36
6079	<i>C. utilis</i>	21	28
6090	<i>C. zeylanoides</i>	71	93
5656	<i>Clavispora lusitaniae</i>	113	184
60110	<i>Cl. lusitaniae</i>	196	230
6086	<i>Cryptococcus laurentii</i>	< 8	< 8
6204	<i>Geotrichum candidum</i>	198*)	247*)
5662	<i>Hansenula anomala</i>	37	37
6036	<i>Klöckera apiculata</i>	< 8	< 8
5636	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	102	
5651	<i>K. marxianus</i>	515	526
5672	<i>K. marxianus</i>	1040	1351
5655	<i>Pichia farinosa</i>	575	1550
5601	<i>P. membranaefaciens</i>	1735	> 3000
5602	<i>P. membranaefaciens</i>	2143	> 3000
5667	<i>P. membranaefaciens</i>	> 3000	> 3000
6040	<i>Rhodotorula (rubra) mucilaginosa</i>	470	360
6071	<i>R. glutinis</i>	154	148
5609	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	114	305
5629	<i>S. cerevisiae</i>	167	306
5640	<i>S. cerevisiae</i>	166	309
5644	<i>S. cerevisiae</i>	143	195
5647	<i>S. cerevisiae</i>	165	353
5657	<i>S. dairensis</i>	19	34
5652	<i>S. exiguus</i>	< 8	9
5670	<i>S. unisporus</i>	9	13
5501	<i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	2175	2353
5901	<i>Sporobolomyces roseus</i>	39	43
5603	<i>Torulaspora delbureckii</i>	31	37
6069	<i>Trichosporon beigelii</i>	78*)	90*)
5668	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	106	153

*) keine lineare Überlebenskurve

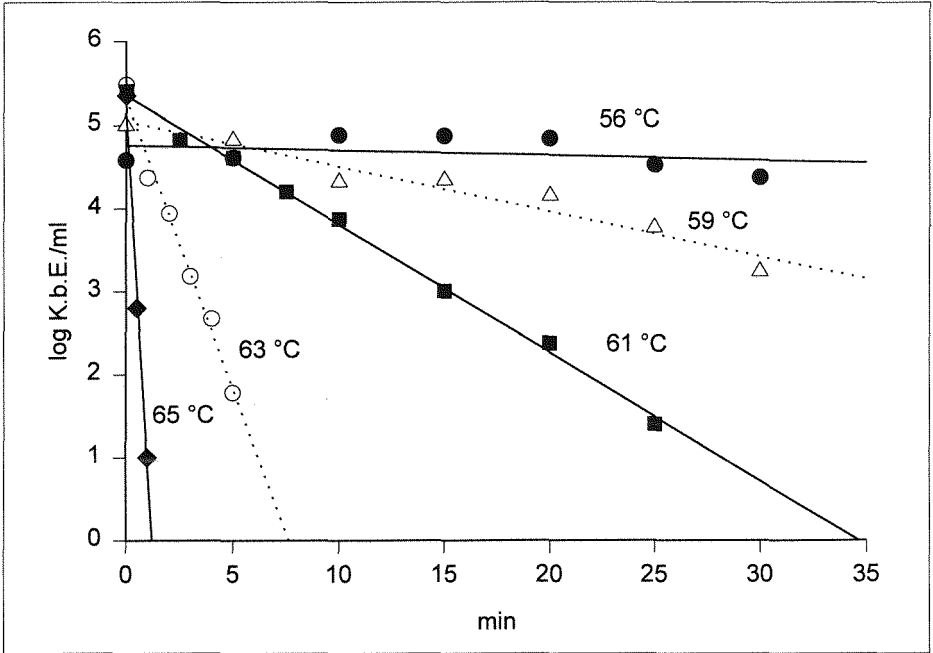


Abb. 3: Überlebenskurven von *C. krusei* 6020 in Ringerlösung nach Hitzebehandlung bei verschiedenen Temperaturen

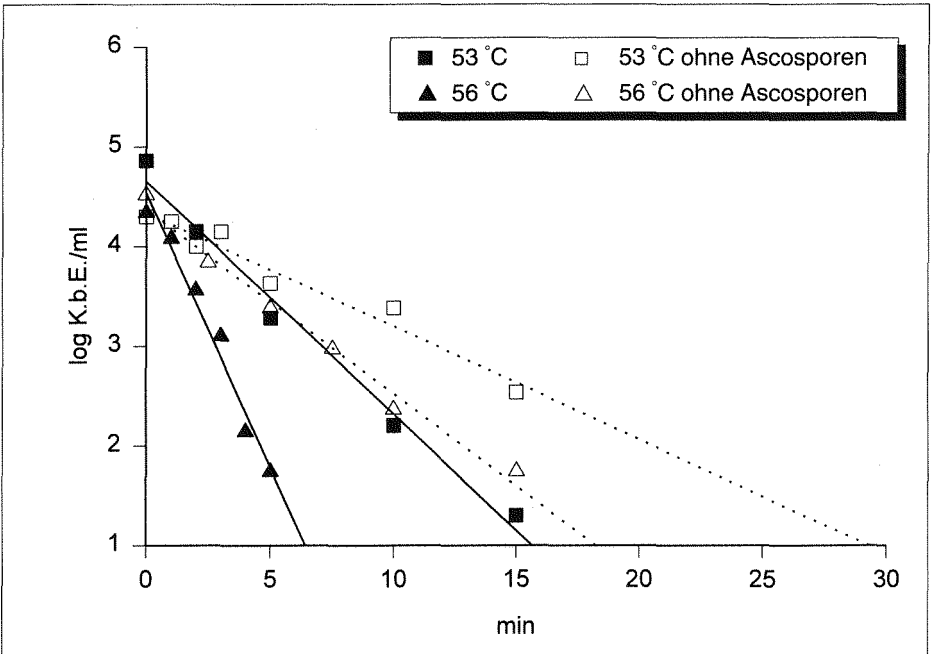


Abb. 4: Überlebenskurven von *K. marxianus* mit (5636) und ohne (5651) Ascosporen in Ringerlösung bei 53 °C und 56 °C

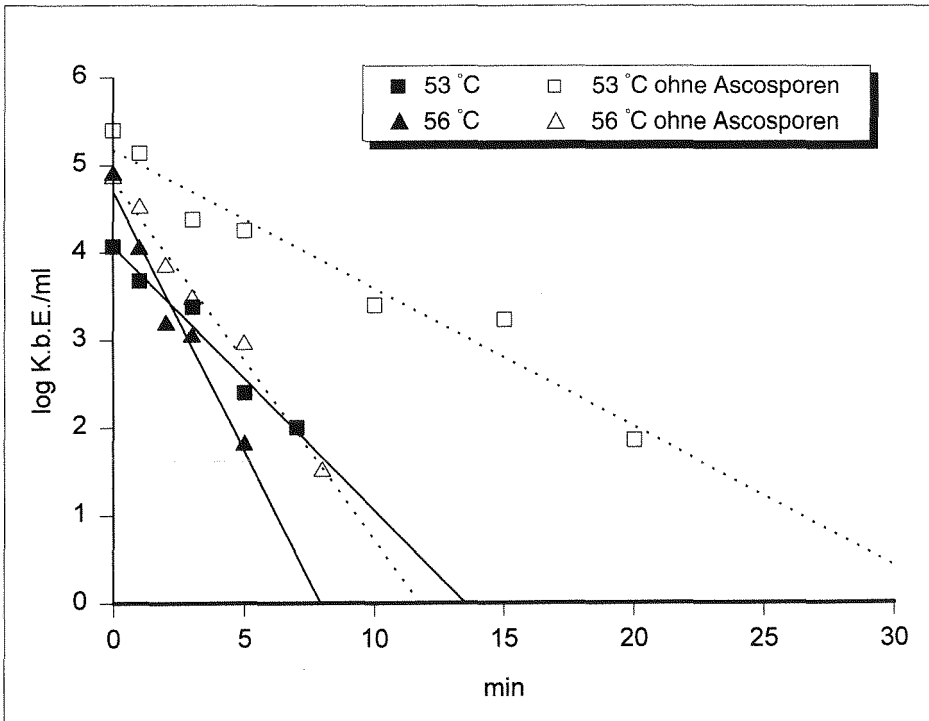


Abb. 5: Überlebenskurven von *S. cerevisiae* mit (5640) und ohne (5644) Ascosporen in Ringerlösung nach Erhitzung bei 53 °C und 56 °C

4. Literatur

- (1) Schmidt-Lorenz, W.: Chemische Rundschau **30** (33) 1 – 4, 7 (1977)
- (2) Splittstoesser, D.F., Leasor, S.B., Swanson, K.M.J.: J. Food Sci **51** 1265 – 1267 (1986)
- (3) Samson, R.A., van Reenen-Hoekstra, E.S.: Introduction to food-borne fungi . Chapter 6. Third Edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft (1988)
- (4) Mc Clary, D.O., Nulty, W.L., Miller, G.R.: J. Bacteriol. **78** 362 – 368 (1959)
- (5) Kreger-van Rij, N.J.W: The Yeasts a taxonomic study. Third Edition. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1984)
- (6) Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D.: Yeasts characteristics and identification. Second Edition. Cambridge Univ. Press., Cambridge, New York, Port Chester, Melbourne, Sydney (1990)
- (7) Wallhäußer, K.H.: Praxis der Sterilisation, Desinfektion – Konservierung. 4. überarb. erw. Auflage Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1988)
- (8) Engel G., Teuber; M.: Intern. J. of Food Microbiol. **12** 225 – 234 (1991)
- (9) Engel, G.: Milchwissenschaft **46** (12) 783 – 786 (1991)

5. Zusammenfassung

Engel, G., Rösch, N., Heller, K.J.: **Hitzetoleranz von Hefen**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **46** (1) 81–90 (1994)

26 Milchprodukte (Hefen, Thermoinaktivierung)

Es wurde die Hitzetoleranz von 43 Stämmen 33 verschiedener Hefearten, die überwiegend aus Milch und Milchprodukten isoliert wurden, in Ringerlösung und Milch untersucht. Ascosporen der getesteten Hefestämme waren nicht resistenter als die vegetati-

ven Zellen der gleichen Hefeart. Zwischen einzelnen Stämmen einer Art wurden keine gravierenden Unterschiede in der Empfindlichkeit festgestellt. Dagegen traten beträchtliche Unterschiede zwischen einzelnen Arten auf, wie aus Überlebenskurven und D-Werten zu entnehmen ist. Während z.B. *Candida krusei* und *Pichia membranaefaciens* bei 56 °C nach 30 min kaum eine Beeinflussung zeigten, wurden bei *Kloeckera apiculata* und *Cryptococcus laurentii* innerhalb von 30 sec bei 56 °C alle Hefezellen inaktiviert, wobei der Keimgehalt vor der Hitzeinaktivierung zwischen 10^4 und 10^5 k.b.E./ml lag. Eine über 60 Tage dauernde Lagerung bei 8 °C hatte keinen und die Verwendung von UHT-Milch (3,5 % Fett) anstelle von Ringerlösung nur einen sehr geringen Einfluß auf die Hitzetoleranz der Hefen. Für die Praxis ist aus diesen Ergebnissen abzuleiten, daß eine Pasteurisierung der Milch ausreicht, um die dort vorhandenen Hefen einschließlich ihrer Ascosporen abzutöten.

Summary

Engel, G., Rösch, N., Heller, K.J.: **Heat tolerance of yeasts.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **46** (1) 81–90 (1994)

26 Milk products (yeasts, thermoinactivation)

The heat tolerance of 43 strains of 33 different yeast species, which had been mainly isolated from milk and milk products, was examined in Ringer's solution and in milk. Ascospores of the tested yeast strains have not been found to be more resistant than the vegetative cells of the same yeast species. No marked differences in sensitivity were established between the individual strains of one species. On the other hand, considerable differences were observed between individual species, which can be seen from survival curves and D-values. Whilst, e.g., *Candida krusei* and *Pichia membranaefaciens* were scarcely influenced at 56 °C after 30 min, all yeast cells of *Kloeckera apiculata* and *Cryptococcus laurentii* were inactivated within 30 sec at 56 °C, the bacteria content prior to heat inactivation ranging between 10^4 and 10^5 CFU/ml. Storage for 60 days at 8 °C produced no effect and the use of UHT-milk (3.5 % fat) instead of Ringer's solution had only a rather slight influence on the heat tolerance of the yeasts. It can be concluded that under practical conditions pasteurization of milk is sufficient to destroy the yeasts present including their ascospores.

Résumé

Engel, G., Rösch, N., Heller, K.J.: **Tolérance thermique de levures.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **46** (1) 81–90 (1994)

26 Produits laitiers (levures, thermoinactivation)

On a étudié la tolérance thermique de 43 souches de 33 différentes espèces de levures, isolées surtout à partir du lait et des produits laitiers, dans la solution de Ringer et le lait. On a trouvé que des ascospores des souches de levures examinées n'étaient pas plus résistantes que les cellules végétatives de la même espèce de levures. On n'a pas établi des différences remarquables par rapport à la sensibilité entre des souches individuelles d'une espèce. Des courbes de survie et des valeurs D montrent, par contre, qu'il y a des différences considérables entre des espèces individuelles. Tandis que, par exemple, *Candida krusei* et *Pichia membranaefaciens* ne furent guère influencés après

30 min à 56°C, toutes les cellules de levures de *Kloeckera apiculata* et *Cryptococcus laurentii* étaient inactivées en 30 sec à 56°C, la teneur en germes avant l'inactivation thermique étant de 10^4 et 10^5 UFC/ml. Le stockage à 8 °C pendant 60 jours n'avait aucun effet, et l'emploi de lait UHT (3.5 % de matière grasse) au lieu de la solution de Ringer n'avait qu'une influence minimale sur la tolérance thermique des levures. On peut donc conclure que, dans la pratique, la pasteurisation du lait est suffisante pour tuer les levures présentes, y compris leurs ascospores.