



Doctoral Thesis

Hitzeresistenz von Schimmelpilz-Fruktifikationsorganen

Author(s):

Stadler, David

Publication Date:

1985

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000360916> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 7893

Hitzeresistenz von Schimmelpilz-Fruktifikationsorganen

Abhandlung

zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Technischen Wissenschaften
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

DAVID STADLER

Dipl. Lm.-Ing. ETH

geboren am 12. Juni 1954

von Kirchberg SG

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. W. Schmidt-Lorenz, Referent
Prof. Dr. E. Müller, Korreferent

Zürich 1985

ZUSAMMENFASSUNG

Voraussetzung für moderne, qualitätsschonende Verfahren zur Hitzepasteurisation von sauren Lebensmitteln und Getränken ist die genaue Kenntnis der spezifischen Hitzeresistenz der verschiedenen Fruktifikationsformen der verderbserregenden Schimmelpilze.

Im **ersten Teil** wurde die Gewinnung homogener Suspensionen einer einzigen Fruktifikationsform durch folgende Kultur-Bedingungen und anschliessende Trennungs-Verfahren erreicht.

• **ausschliesslich Konidien** wurden gebildet von

-*Neosartorya fischeri* var. *spinosa* auf Malzextrakt-Agar (MEA) nach 3d bei 35-40°C

-*Talaromyces helicus* auf MEA mit Hefeextrakt (MEA/YE) nach 15d bei 35°C

-*T.flavus* var. *macrosporus* auf MEA/YE oder Potato-Dextrose-Agar (PDA) nach 15d bei 35°C

-*Eurotium repens* auf PDA nach 10d bei 20°C

-*E.tonophilum* und *E.herbariorum* auf MEA nach 7-11d bei 20°C

-*Faeciomyces variotii* auf MEA nach 7d bei 25°C

-*Aspergillus flavus* auf MEA oder PDA nach 7d bei 20°C

• **ausschliesslich Ascomata** von

-*E.chevalieri* auf MEA oder PDA nach 9-11d bei 25-30°C

• **ausschliesslich Chlamydosporen** von

-*Humicola fuscoatra* auf MEA nach 7d bei 25-30°C.

• **optimale Bildung von Ascomata** neben wenigen anderen Fruktifikationsformen erfolgte von

-*N.fischeri* var. *spinosa* auf MEA nach 6-10d bei 30°C

-*T.helicus* auf PDA nach 15d bei 25°C

-*T.flavus* var. *macrosporus* auf MEA/YE nach 11 und mehr d bei 30°C

-*E.repens* auf MEA nach 7-10d bei 20-25°C

-*E.amstelodami* auf MEA nach 10d bei 30°C

-*E.tonophilum* auf MEA 30%-Glucose nach 7-10d bei 25°C

-*E.herbariorum* auf MEA 30%-Glucose nach 7-11d bei 20°C

• **eine optimale Bildung von Konidien** von

-*E.amstelodami* auf MEA 30%-Glucose nach 10d bei 20°C

-*E.chevalieri* auf MEA 30%-Glucose nach 7d bei 37°C

-*P.variotii* ZT 527 auf MEA nach 11d bei 30°C

• optimale Bildung von Chlamydosporen von

-*P. variotii* ZT8334 und ZT527 auf AqA nach 7d bei 20-25°C

• optimale Bildung von Sklerotien von

-*A. flavus* auf PDA unter CO₂-Begasung nach 11d bei 25°C.

Für die Vereinzlung von Konidien und Chlamydosporen genügte die **Homogenisation** der Suspension mit einem bochtourigen Schneidemischer. Für das Aufbrechen der Asci und die Vereinzlung der Ascosporen war die Homogenisation im Zell-Homogenisator notwendig.

Zur **Abtrennung** der Konidien von Ascosporen eignete sich die Filtration durch Glasfrüthen unterschiedlicher Grössenklassen. Sklerotien von *A. flavus* liessen sich durch Filtration durch ein Polyestergewebe von 300µm Maschendurchmesser abtrennen. Chlamydosporen und Konidien von *P. variotii* konnten mit allen geprüften Verfahren nicht vollständig getrennt werden.

Im **zweiten Teil** wurden die Kinetik der Hitzeinaktivierung und damit die spezifische Hitzeresistenz von Konidien, Chlamydosporen, Ascosporen und Sklerotien, soweit sie von den 13 geprüften Schimmelpilzen gebildet wurden, bestimmt.

Bei Erhitzung der Ascosporen von *T. flavus* var. *macrosporus* auf subletale Temperaturen von 60, 65 und 67°C sowie bei der Erhitzung der Eltern- und Folgekulturen von *N. fischeri* var. *spinosa* bei 80°C war eine **echte Hitze-Aktivierung** d.h. ein Anstieg der Koloniezahlen in den ersten 5 bis 10 min nachweisbar. Bei den Ascosporen von *E. chevalieri* und den *N. fischeri*-Varietäten *spinosa* und *thermomutatus* erfolgte dagegen eine **unechte Hitze-Aktivierung**, d.h. zuerst eine stärkere Reduktion und nach weiterer Erhitzung ein Wiederanstieg der Koloniezahlen, jedoch nicht bis zur Höhe der Anfangskoloniezahlen.

Bei den vorliegenden experimentellen Bestimmungen der Überlebenskurven wurden immer wieder zwei unterschiedliche Arten der **Inaktivierungskinetik** gefunden:

• ausschliesslicher exponentieller Verlauf der Überlebenskurven bei allen geprüften Erhitzungsbedingungen (Berechnung der D-Werte an Hand der Geradengleichung $y = ax + b$)

• exponentieller Verlauf bei niedrigeren und höheren Erhitzungstemperaturen mit biphasischem Verlauf mit scharfem Knick im mittleren Temperaturbereich. Für die nicht-exponentiellen Inaktivierungen wurde eine neue Berechnungsart nach der Formel $y = \log(10^{a_1x+b_1} + 10^{a_2x+b_2})$ eingeführt, die durchweg gute Korrelation mit den experimentell gefundenen Werten zeigte.

Die nicht-linearen Überlebenskurven mit ausgeprägten Knickpunkten bei mittleren Erhitzungstemperaturen sind nur durch einen geringen Anteil höher hitzeresistenter Fruktifikationsformen in den Suspensionen erklärbar. Offensichtlich ist zur raschen exponentiellen Inaktivierung des geringen Anteils höher resistenter Formen eine bestimmte kritische Mindest-Grenztemperatur notwendig.

Die spezifische Hitzeresistenz der einzelnen Fruktifikationsformen kann durch die folgenden D-Werte und durch die kritischen Grenztemperaturen (\Rightarrow) in der Reihenfolge ihrer Resistenz beschrieben werden:

- für Sklerotien von
 - A.flavus* ca. $D_{55^{\circ}C}=2.7$ min
- für Konidien von
 - E.herbariorum* $\Rightarrow >50^{\circ}C$
 - P.marquandii* $D_{50^{\circ}C}=3.4$ min
 - T.flavus* var. *macrosporus* $D_{50^{\circ}C}=33.3$ min
 - P.clavisporus* $\Rightarrow >70^{\circ}C$
 - A.niger* $D_{50^{\circ}C}=11$ min
 - N.fischeri* var. *spinosa* $\Rightarrow >80^{\circ}C$
 - P.varlotii* $\Rightarrow >70^{\circ}C$
- für Ascosporen von
 - E.herbariorum* $\Rightarrow >80^{\circ}C$
 - E.chevalieri* $D_{75^{\circ}C}=1.1$ min
 - T.flavus* var. *macrosporus* $D_{72^{\circ}C}=1.0$ min
 - N.fischeri* var. *spinosa* CB483.65 $\Rightarrow >75^{\circ}C$
 - N.fischeri* var. *thermomutatus* $\Rightarrow >80^{\circ}C$
 - N.fischeri* var. *glaber* $\Rightarrow >80^{\circ}C$
 - N.fischeri* var. *spinosa* ZT4590 $D_{75^{\circ}C}=34.5$ min
- für Chlamydosporen von
 - H.fuscoatra* $D_{90^{\circ}C}=12.8$ min.

Der Einfluss des pH-Wertes im Erhitzungsmedium auf die Hitzeresistenz der verschiedenen Fruktifikationsformen war insgesamt gering.

In den Untersuchungen der Hitzeresistenz von Eltern- und Folgekulturen konnte insgesamt keine genetisch determinierte Hitzeresistenz festgestellt werden, denn nur mit einer Ausnahme bei den Ascosporen von *N.fischeri* var. *spinosa* war eine Zunahme der Resistenz der Reihenfolge: Elternkultur, 1. und 2. Folgekultur zu beobachten. Auch eine Prüfung von 4 bis 5 Parallel-Kulturen von *N.fischeri* var. *spinosa* gab kein eindeutiges Ergebnis.

SUMMARY

The base for up-date qualityprotecting processes for pasteurisation of food and beverages with pH of 4.5 and lower is the accurate knowledge of the specific heat-resistances of different fructification forms of food spoiling fungi.

Through the following culture conditions and subsequent separation methods the production of homogenous suspensions was achieved in the first part of this work:

- exceptionally conidia were produced by
 - Neosartorya fischeri* var. *spinosa* on maltextract-agar (MEA) after 3d at 35-40°C
 - Talaromyces helicus* on MEA with yeastextract (MEA/YE) after 15d at 35°C
 - T.flavus* var. *macrosporus* on MEA/YE or potato-dextrose-agar (PDA) after 15d at 35°C
 - Eurotium repens* on PDA after 10d at 20 °C
 - E.tonophilum* and *E.herbariorum* on MEA after 7-11d at 20°C
 - Paecilomyces variotii* on MEA after 7d at 25°C
 - Aspergillus flavus* on MEA or PDA after 7d at 20°C
- exceptionally ascomata by
 - E.chevalieri* on MEA or PDA after 9-11d at 25-30°C
- exceptionally chlamydospores by
 - Humicola fuscoatra* on MEA after 7d at 25-30°C
- optimum formation of ascomata besides a few other fructification forms was observed with
 - N.fischeri* var. *spinosa* on MEA after 6-10d at 30°C
 - T.helicus* on PDA after 15d at 25°C
 - T.flavus* var. *macrosporus* on MEA/YE after 11 and more d at 30°C
 - E.repens* on MEA after 7-10d at 20-25°C
 - E.amstelodami* on MEA after 10d at 30°C
 - E.tonophilum* on MEA 30%-glucose after 7-10d at 25°C
 - E.herbariorum* on MEA 30%-glucose after 7-11d at 20°C
- optimum formation of conidia was observed with
 - E.amstelodami* on MEA 30%-glucose after 10d at 20°C
 - E.chevalieri* on MEA 30%-glucose after 7d at 37°C
 - P.variotii* ZT 527 on MEA after 11d at 30°C

- optimum formation of chlamydo spores with
-*P. variotii* ZT8334 and ZT527 on AqA after 7d at 20-25°C
- optimum formation of sclerotia with
-*A. flavus* on PDA with CO₂-atmosphere after 11d at 25°C.

The separation of conidia and chlamydo spores could be achieved with the homogenisation of the suspension with a highspeed blender. Homogenisation in a cell-homogenisator was necessary to break up asci and to separate the ascospores.

Conidia were separated from ascospores by filtration through fritted glass-funnels of different grades. Sclerotia of *A. flavus* could be separated through a 300µm-mesh polyester-tissue. Chlamydo spores and conidia of *P. variotii* couldn't be entirely separated with all methods tested.

In the second part kinetics of heatinactivation and specific heatresistance of conidia, chlamydo spores, ascospores and sclerotia were determined, as far as they were formed by the 13 fungi tested.

A true heatactivation, this means an increase in colony counts during the first 5 to 10 minutes could be shown after exposing ascospores of *T. flavus* var. *macrosporus* to sublethal temperatures of 60, 65 and 67°C as well as with primary and secondary cultures of *N. fischeri* var. *spinosa* after exposure to 80°C. Ascospores of *E. chevalieri* and *N. fischeri*-varieties *spinosa* and *thermomutatus* showed in contrast a false heat-activation, this means an initial strong reduction of colony counts followed by a rise after prolonged heating. However the initial colony count was not reached any more.

The present experimental determinations of survival-curves kept showing two different types of inactivation kinetics:

- exceptionally exponential survival-curves with all heating conditions tested (determination of D-values with the straight line-equation $y = ax + b$)
- exponential course with lower and higher heatingtemperatures with biphasic course with a sharp bend in the area of middle temperatures. For not-exponential type inactivations a new way of calculation according to the formula $y = \log(10^{a_1x+b_1} + 10^{a_2x+b_2})$ was introduced which showed good correlation with the determined values throughout the experiment.

Not-linear surviving curves with extensive bends in the area of middle temperatures can only be explained through a small fraction of highly heatresistant fructification forms in the suspension. For a quick exponential inactivation of the small fraction of higher resistant forms a certain minimum temperature has to be reached obviously.

The specific heatresistance of different fructification forms can be described through different D-values and critical temperature limits(=>) listed in order of their temperature resistance:

• for sclerotia of

-*A.flavus* ca. $D_{55^{\circ}C}=2.7$ min

• for conidia of

-*E.herbariorum* => $50^{\circ}C$

-*P.marquandii* $D_{50^{\circ}C}=3.4$ min

-*T.flavus* var. *macrosporus* $D_{50^{\circ}C}=33.3$ min

-*P.clavisporus* => $70^{\circ}C$

-*A.niger* $D_{60^{\circ}C}=11$ min

-*N.fischeri* var. *spinosa* => $60^{\circ}C$

-*P.variotii* => $70^{\circ}C$

• for ascospores of

-*E.herbariorum* => $60^{\circ}C$

-*E.chevalieri* $D_{75^{\circ}C}=1.1$ min

-*T.flavus* var. *macrosporus* $D_{72^{\circ}C}=1.0$ min

-*N.fischeri* var. *spinosa* CB483.85 => $75^{\circ}C$

-*N.fischeri* var. *thermomutatus* => $80^{\circ}C$

-*N.fischeri* var. *glaber* => $80^{\circ}C$

-*N.fischeri* var. *spinosa* ZT4590 $D_{75^{\circ}C}=34.5$ min

• for chlamydospores of

-*H.fuscoatra* $D_{90^{\circ}C}=12.8$ min.

The influence of the pH in the heating-medium on the heatresistance of different fructification forms was small.

With experiments on heatresistance of parental and subsequent cultures no genetically determined heatresistance could be found. There was only one exception with ascospores of *N.fischeri* var. *spinosa*, where an increase in resistance in the sequence parental, primary and secondary culture could be observed. Checking 4 to 5 parallel cultures of *N.fischeri* var. *spinosa* did not yield clear results either.