

## NALAZ *PENICILLIUM CAMEMBERTI* THOM U EDAMSKOM SIRU I NJEGOVA TOKSIČNOST\*

Dr Marija ŠKRINJAR, Tehnološki fakultet, Novi Sad

### Sažetak

U ovom radu ispitana je zastupljenost *Penicillium camemberti* kao kontaminanta u edamskom siru tokom zrenja i skladištenja, kao i u uzorcima sira uzetim iz prodajne mreže.

U nastavku rada, u ogledima izvedenim na embrionima pilića, ispitana je toksičnost odabranih sojeva *P. camemberti*.

### Uvod

*P. camemberti* predstavlja tzv. belu plesan, koja se upotrebljava u proizvodnji kamamera, a raste na površini sira, dajući mu specifičan izgled i okus (K o s i k o w s k i, 1966). Imajući u vidu izuzetan značaj *P. camemberti* za tehnologiju sira, brojni autori posvetili su svoja istraživanja toj vrsti plesni, pogotovo u zemljama s visokom proizvodnjom sira.

Međutim, većina tih istraživanja posvećena je *P. camemberti* kao starter kulturi, dok ima malo podataka o eventualnoj toksičnosti te plesni. Uzrok tome je, verovatno, nedovoljna posvećenost pažnje *P. camemberti* kao kontaminantu životnih namirnica. Podela mišljenja pojedinih istraživača o toksičnosti *P. camemberti* upravo je posledica nedovoljno posvećene pažnje toj problematici (G i b e l et al., 1971., L a f o n t et al., 1976., M i l c z e w s k i et al., 1976., F r a n k et al., 1977.).

Cilj ovog rada bio je, da se ispita zastupljenost *P. camemberti* kao kontaminanta u uzorcima edamskog sira tokom njegovog zrenja, kao i u uzorcima istog tipa sira dobijenim iz skladišta mlekare odnosno uzetim iz prodajne mreže. Biološkim ogledima, izvedenim na embrionima pilića, želeli smo ispitati toksičnost filtrata podloga na kojima su rasli odabrani sojevi *P. camemberti*.

### Materijal i metode rada

Uzorci edamskog sira uzimani su iz pogona mlekare periodično tokom zrenja sira. Usporedo su ispitivane tri proizvodne partije (I, II i III). Tokom zrenja sir je pran svakodnevno vodenim rastvorom sorbinske kiseline, osim na dan uzimanja uzoraka.

Prisustvo *P. camemberti* ispitano je i kod 575 uzoraka edamskog sira, uzetih iz skladišta mlekare ili iz prodajne mreže metodom slučajnog izbora. Ovi uzorci sira bili su zaštićeni folijom.

Za izolaciju i determinaciju *P. camemberti* korišćene su Sabouraud podloga i Czapek agar. Determinacija *P. camemberti* izvršena je prema R a p e r-u i T h o m-u (1949.) i S a m s o n-u et al. (1977.).

\* Rad je izvod iz doktorske disertacije MIKOPOPULACIJE I MIKOTOKSINI SIRA TIPA «EDAMER», odbranjene 4. 10. 1984. na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu.

U završnim ogledima, na embrionima pilića ispitana je toksičnost 10 ekstrakata filtrata *P. camemberti*. Kao podloga za gajenje odabranih sojeva upotrebljena su pšenična zrna.

Samlevena i sterilisana pšenična zrna (40 g) inokulisana su sa 5 ml inokuluma plesni. Erlenmajer boce (300 ml) s tako pripremljenim supstratom inkubirane su nedelju dana na temperaturi od 26 do 28°C. U toku drugog i trećeg dana inkubiranja dodato je još po 5 ml sterilne destilovane vode. Boce su mućkane svakodnevno, kako ne bi došlo do spajanja zrna i izrasle micelije. U toku narednih četiri do šest nedelja inkubiranja se vršilo na temperaturi od 10°C. Za pripremanje ekstrakata *P. camemberti* korišćen je deo multimitoforminskog metoda po E p p l e y-u (1978.). Ekstrakti svih uzoraka uparavani su do suve materije, a zatim razređeni hloroformom.

Ogledi ispitivanja toksičnosti *P. camemberti* izvedeni su u tri ponavljanja. U žumančanu kesu svakog jajeta starog osam dana, inokulisano je 0,1 ml uzorka razređenog na  $10^{-5}$ , a kontrolna grupa jaja inokulisana je sa istom količinom sterilnog fiziološkog rastvora.

### Rezultati i diskusija

Prisustvo i učestalost *P. camemberti* (sl. 1) kao kontaminanta pojedinih proizvodnih partija edamskog sira prikazani su na slikama 2, 3 i 4. *P. camemberti* je predstavljao u toku prve nedelje zrenja 20 do 24% od ukupne mikopopulacije u I i II proizvodnoj partiji, koja je pripadala *Penicillium* vrstama. U toku sledećih nedelja zrenja tih proizvodnih partija zapažena je veća zastupljenost *P. camemberti*. Najveći broj kolonija *P. camemberti* izolovan je iz I proizvodne partije u toku pete nedelje zrenja, a iz II u toku četvrte nedelje. S druge strane, *P. camemberti* je predstavljao čak 45% svih *Penicillium* vrsta, koje su izolovane iz III proizvodne partije već u toku prve nedelje zrenja (sl. 4).

Tokom narednih nedelja zastupljenost *P. camemberti* u ovoj proizvodnoj partiji postepeno se smanjivala. Ustanovljeno je, da je na završetku zrenja III proizvodne partije svega 24% od svih *Penicillium* vrsta pripadalo ovoj vrsti plesni.

Iz 550 uzoraka edamskog sira koji su dobijeni iz skladišta mlekare izolovano je više hiljada sojeva plesni. *Penicillium* vrste predstavljale su najveći deo (oko 90%) mikopopulacije sira. Iz većine tih uzoraka izolovan je i *P. camemberti*, koji je bio, pored *P. verrucosum* var. *cyclopium*, najčešće zastupljen.

Prilikom ispitivanja rasta plesni u uzorcima edamskog sira uzetim iz prodajne mreže, ponovo je ustanovljena velika zastupljenost *P. camemberti*. Utvrđeno je, da je čak 92% uzoraka bilo kontaminirano tom vrstom plesni.

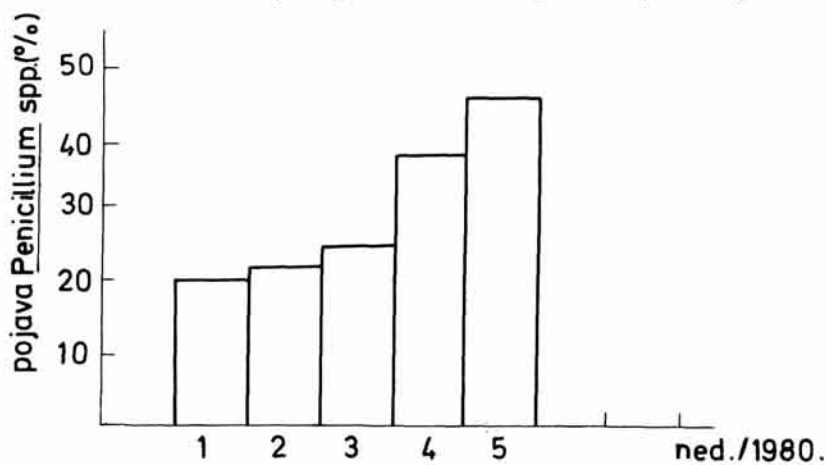
Iz napred iznetih rezultata može se videti da je *P. camemberti* imao značajan udeo u sastavu mikopopulacije ispitivanih uzoraka sira. Ova činjenica utoliko je značajnija, jer je poznato, da *P. camemberti* u izvesnim uslovima proizvodi toksičan metabolit, ciklopiazoičnu kiselinu (L e B a r s, 1979.).

U toku daljih istraživanja odabrano je deset sojeva *P. camemberti*, koji su označeni slovima A, B, F, G, H, I, N, P, S i X, čija je toksičnost ispitana na embrionima pilića. Odabrani sojevi izolovani su iz različitih uzoraka edamskog sira.



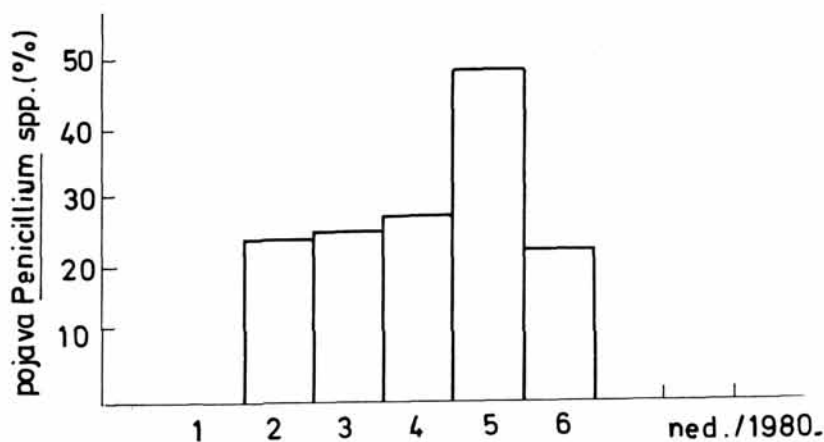
Sl. 1. *P. camemberti*, konidiofore rapave, asimetrično granate, s metulama i fialidama karakterističnog oblika ( $10 \times 100$ ).

Fig. 1. *P. camemberti*, conidiophores rough, asymmetrically branched, with characteristically shaped metulae and phialida ( $10 \times 100$ )



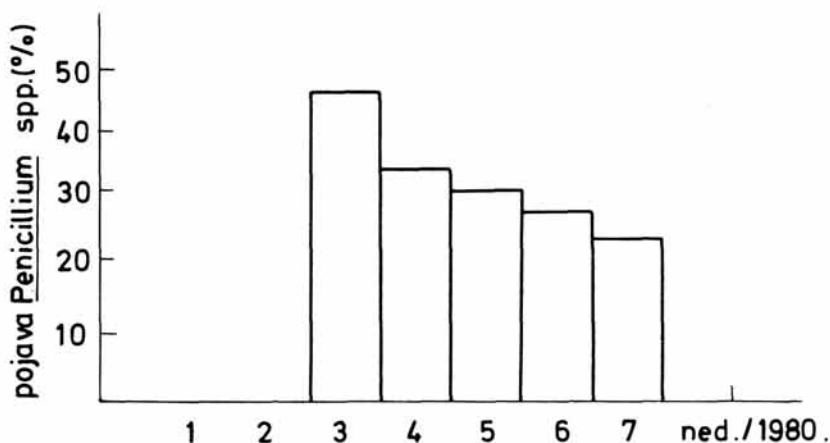
Sl. 2. Učestalost *P. camemberti* u I proizvodnoj partiji

Fig. 2. — Frequency of *P. camemberti* in I series



Sl. 3. Učestalost *P. camemberti* u II proizvodnoj partiji

Fig. 3. — Frequency of *P. camemberti* in II series



Sl. 4. Učestalost *P. camemberti* u III proizvodnoj partiji

Fig. 4. — Frequency of *camemberti* in III series

Kao što se u tablici 1 može uočiti, 83,33% pilećih embriona inokuliranih ekstraktima *F. camemberti* uginulo je već u toku prvog dana ogleda. Najveću toksičnost ispoljili su ekstrakti, A, B, N, P i S sojeva. U toku drugog dana ogleda ustanovljeno je uginuće još 6,67% embriona, dok su preostali embrioni uginuli u toku trećeg dana ispitivanja. Ni jedan embrion inokulisan ekstraktima *P. camemberti* nije preživio ogled.

Zapaženo je, da je ubrzo nakon inokulisanja došlo do snažnog krvarenja u glavenom delu embriona. Ovo krvarenje se za veoma kratko vreme proširilo na ceo embrion, a kao posledica toga sledilo je uginuće embriona.

Svi embrioni iz kontrolne grupe preživeli su ogled.

**Tablica 1. — Ispitivanje toksičnosti P. CAMEMBERTI na embrionima pilića**  
**Table 1. — Investigation of P. CAMEMBERTI toxicity on chicken embryos**

Vrsta plesni Strain	Vreme (Dani) Time (Days)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
P. camemberti A	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti B	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti F	2/3	2+1/3	—	—	—	—	—	—
P. camemberti G	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti H	1/3	1/3	1+2/3	—	—	—	—	—
P. camemberti I	2/3	2+1/3	—	—	—	—	—	—
P. camemberti N	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti P	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti S	3/3	—	—	—	—	—	—	—
P. camemberti X	2/3	2/3	2+1/3	—	—	—	—	—

Legenda: 3/3; 2/3; 1/3 i 0/3 = prvi broj označava broj uginulih embriona, a drugi broj inokulisanih embrioniranih jaja.

Rezultati dobijeni u toku ovih oglada ukazuju na visoku toksičnost odabranih sojeva *P. camemberti* i slažu se sa nalazima Gibela et al. (1971.) Ekstrakti kultura *P. camemberti*, kako su ustanovili ovi autori, bili su kancerogeni za pacove, kada su davani oralno i subkutano.

U literaturi se nalaze i podaci koji se razlikuju međusobno u pogledu toksičnosti *P. camemberti*. Dok Lafont et al. (1976.), kao i Milczewski et al. (1976.) navode da su sojevi *P. camemberti* bili blago toksični ili netoksični u toku bioloških oglada, Frank et al. (1977.) ističu da nisu zapažene nikakve promene kod pacova i pastrmki koje su hranjene duže vremena obrocima kontaminiranim *P. camemberti*.

Tek u novije vreme ustanovljeno je, da *P. camemberti* može stvarati toksičan metabolit, ciklopiazoičnu kiselinu (Le Bars, 1979.). Sposobnost stvaranja ovog toksina zavisi, s jedne strane od soja plesni, a s druge, od sastava podloge, temperature i vremena inkubiranja. Ovom činjenicom mogu se objasniti i različiti rezultati dobijeni u toku ispitivanja toksičnosti sojeva *P. camemberti*, citirani od strane pojedinih autora.

#### Summary

*P. camemberti* composed 20 to 45% of total *Penicillium* mycopopulation isolated from Edam cheese during ripening. The cheese samples taken from dairy plants and market were frequently contaminated by the same species.

During the toxicity examination of selected strains of *P. camemberti* on chicken embryos was found in 83,33% of embryos letal effect after the first test day. Non of inoculated embryos by *P. camemberti* extracts was not survived the treatment.

## Literatura

- BARS, Le J. (1979.): Cyclopiazonic Acid Production by *Penicillium camemberti* Thom and Natural Occurrence of This Mycotoxin in Cheese. **Appl. Environ. Microbiol.** 38, 6, 1052—1055.
- EPPLEY, M. B. (1978.): J. A. O. A. C. 61, 3, 584—585.
- FRANK H. K., R. ORTH, S. IVANKOVIĆ, M. KUHLMANN, D. SCHMAHL (1977.): Investigation of carcinogenic effects of *Penicillium caseicolum* and *P. roqueforti* in rats. **Experientia** 33, 515—516.
- GIBEL, W., K. WEGNER, G., G. P. WILDNER (1971.): Experimentelle Untersuchungen zur Frage einer kanzerogenen Wirkung von *Penicillium camemberti* var. *canadidum*. **Arch. Geschwulstforsch.** 38, 1—6.
- KOSIKOWSKI, F. (1966.): Cheese and Fermented Milk Foods. Edwards Brothers, Ann. Arbor., Mich.
- LAFONT, P., J. LAFONT, J. PAYEN, E. CHANY, G. BERTIN, C. FRAYSSINET (1976.): Toxin production by 50 strains of *Penicillium* used in the cheese industry **Food Cosmet. Toxicol.** 14, 137—138.
- MILCZEWSKI, K. E., G. ENGEL, U. KRUSCH, A. LOMPE (1976.): Untersuchungen zur Frage einer karzinogener Wirkung von *Penicillium camemberti*, *Penicillium caseicolum* und *Penicillium roqueforti*. Jahresber. Bundesanst. Milchwiss. Kiel, p. B. 28.
- RAPER, K. B. i C. THOM (1949.): A Manual of the Penicillia. Williams & Wilkins Co., Baltimore, XI + 875 pp.
- SAMSON, R. A., CHRISTIANE ECKARDT, R. ORTH (1977.): The taxonomy of *Penicillium* species from fermented cheeses. **Antonie van Leeuwenhoek** 43, 3/4, 341—350.

---

## PROFITI SE LAKŠE OSTVARUJU NA TRŽIŠTU, AKO SE DISTRIBUCIJA VRŠI KROZ SPECIJALIZIRANA PODUZEĆA

U prehrambenoj industriji Danske zapaža se značajna koncentracija. Svega tri velika zadružna poduzeća opskrbljuju 80% domaćeg tržišta konzumnim mlijekom, u jednoj zadruzi je koncentrirano 50% proizvodnje sira.

Krajem 1982. godine prolazilo je 95% izvoza maslaca kroz jedan kanal. Slična je koncentracija u proizvodnji i prometu svinjskog mesa gdje je u 1981. i 1982. godini jedna zadruga proizvela 62% ukupne proizvodnje svinja u Danskoj.

---