

**BAZI TAZE PEYNİR ÇEŞİTLERİNDE KÜF FLORASI VE  
AFLATOKSİN İÇERİKLERİ İLE AFLATOKSİN OLUŞUM  
POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI :  
ILAFLATOKSİN ARAŞTIRMALARI (1)**

**Selahattin SERT (2)**

**ÖZET :** *Erzincan'ın Taze Tulum, Erzurum'un Taze Beyaz, Civil ve Kaşar peynirlerinden toplam 51 adet örnek üzerinde aflatoksin analizleri yapılmıştır. Ayrıca, bu peynir çeşitlerinde aflatoksin oluşum potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla, peynir örnekleri Aspergillus flavus ve A. parasiticus sporlarıyla aşılanarak 5 °C'de 10, 21 gün ve 14 hafta, 25 °C'de 10 ve 21 gün depolanmışlar ve bu sürelerin sonunda aflatoksin analizlerine tabi tutulmuşlardır.*

*İnce tabaka kromatografisi yöntemiyle yapılan analizlerde, 51 peynir örneğinin hiç birisinde izlenebilir miktarlarda aflatoksin M<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> tesbit edilememiştir.*

*Bulgular, aflatoksijenik suşlarla kontamine olan ve 5 °C'de depolanan taze peynirlerde aflatoksin teşekkülünün olmayacağını, 25 °C'de ise, peynir çeşidine, küf suşuna ve inkübasyon süresine bağlı olarak değişeceğini göstermiştir. Sonuçlar, özellikle Tulum peynirlerinin, buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.*

**AN INVESTIGATION ON AFLATOXIN CONTENT AND  
AFLATOXIN FORMATION OF SOME FRESH CHEESE TYPES**

**SUMMARY :** *In this research, aflatoxin analyses were made in samples from Tulum cheese of Erzincan and White, Civil and Kashar cheeses of Erzurum. In addition to aflatoxin formation potentials on these cheese types were investigated. All of the total 51 cheese samples were obtained freshly. For aflatoxin formation analysis, cheeses were inoculated with Aspergillus flavus or A. parasiticus spores,*

(1) Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir (Proje No : 1988/4).

(2) Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240 Erzurum.

and stored at 5 °C for 10 and 21 days and 14 weeks. Then, the cheese samples were examined for their aflatoxin contents.

Thin layer chromatography analysis showed that, no detectable levels of aflatoxin M<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> were found in these 51 cheese samples.

The results showed that no aflatoxin formation was observed in the fresh cheeses which were contaminated with aflaoxigenic strains and stored at 5 °C. Variable amounts of aflatoxin were formed at 25 °C depending on the cheese type, mold strain and incubation period. These findings also suggest that the Tulum cheeses should be kept with refrigeration.

## GİRİŞ

Hijyenik kurallara uyulmadan elde edilen veya uygun olmayan şartlarda depolanan peynirlerde çeşitli küfler gelişebilir. Bunun sonucunda aflatoksinler veya diğer mikotoksinler oluşabilir. Ayrıca, peynire işlenen sütlerin aflatoksin içermesi halinde, peynire de aflatoksin geçebilir. Peynirlerde aflatoksin mevcudiyetini tesbit etmek amacıyla birçok araştırma yapılmıştır.

Demirer (1972) Ankara piyasasından sağlanan Beyaz, Kaşar ve Eritme peynirlerini içeren 18 örneğin hiçbirisinde aflatoksin bulamamıştır. Aynı araştırmacı, incelediği 102 peynir örneğinde de teşhis edilebilir miktarda aflatoksinle rastlamamıştır (Demirer, 1973). Isparta, Konya ve Mersin'den alınan 4 adet tulum peyniri örneğinde de aflatoksin bulunamamıştır (Çoksöyler ve Köşker, 1980). Marmara Bölgesi illerinden sağlanan ve içerisinde Kaşar, Tulum, Eritme, Otlu vb. peynir çeşitleri bulunan 85 örneğin birinde (Tulum) aflatoksin tesbit edilmiştir (Alperden ve ark., 1978).

Yabancı peynir çeşitlerinde de aflatoksin araştırmaları yapılmıştır. Örneğin, Mısır'da, 60 Roqueforti peynirinin 2'sinde (Naguib ve ark., 1981), A.B.D'de ithal 118 peynir örneğinin 8'inde (Trucksess ve Page, 1986), aflatoksin bulunmuştur. Fransa'da 40 fabrikaya ait 100 Camambert (Applebaum ve ark., 1982), Yunanistan'da 94 Teleme (Zerfiridis, 1985) peynir örneğinin hiç birisinde aflatoksin saptanamamıştır. A.B.D.'de içerisinde 209 Cottage, 190 Cheddar peynir örneği bulunan toplam 992 süt ürünüden sadece Cottage peynirlerinin birinde 0.3 ng/g miktarında aflatoksin M<sub>1</sub> tesbit edilmiştir (Stoloff ve ark., 1981). Bu araştırma sonucunda A.B.D'de peynirlerde aflatoksin probleminin önemli olmadığı kaydedilmiştir.

Çeşitli peynirlerin laboratuvar şartlarında aflatoksin oluşumuna uygunluğu üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Alperden ve ark. (1978) tarafından, taze kaşar,

olgunlaşmış kaşar, Mihalicık, tulum ve dil peynirleri, iki ayrı aflatoksijenik suşla aşılandıktan sonra 15 ve 25°C'de inkübe edilerek 5'er gün aralıklarla aflatoksin analizlerine tabi tutulmuşlardır. Oluşan aflatoksin miktarları, çevre şartlarına, küf suşlarına ve peynir çeşitlerine göre değişmiştir. Çoksöyler ve Köşker (1980), Tulum peynirinde, 26 °C'de *A. parasiticus* tarafından oluşturulan aflatoksin miktarlarının, *A. flavus* 'a göre daha fazla olduğunu tesbit etmişlerdir. Bu konuda, Frank (1986), Tilsit peyniri, Oldham ve ark. (1971), Bullerman ve Olivigni (1974) Cheddar peynirleri, Park ve Bullerman (1983) Cheddar ve Cottage peynirleri, Shih ve Marth (1972) Brick peyniri, Karaioannoglou (1984) Feta peyniri, Zerfiridis (1985) Teleme peynir çeşitleri üzerinde çalışmışlardır.

Bu araştırmada, ilkbahar ve yaz aylarında tüketime sunulan Erzincan'ın tulum, Erzurum'un beyaz, civil ve kaşar peynir örnekleri aflatoksin analizlerine tabi tutulmuş ve halk sağlığı açısından aflatoksin riskinin bulunup bulunmadığı ortaya konulmaya çalışılmıştır. Ayrıca, aflatoksijenik suşlarla aşılınıp, buzdolabı ve oda sıcaklıklarında depolanan bu peynir çeşitlerinin, aflatoksin oluşumuna uygunluğu araştırılmıştır.

## **MATERYAL VE METOT**

### **Peynir Örnekleri**

Nisan-Temmuz aylarında, örnek alma kurallarına uygun olarak (Hausler, 1974), Erzincan'ın tulum, Erzurum'un beyaz, civil ve kaşar taze peynirlerinden sırasıyla, 14, 13, 13 ve 11 adet olmak üzere toplam 51 adet örnek alınmıştır.

### **Aflatoksijenik Suşlar ve Aflatoksin Standartları**

Peynir örneklerinin aşılınmasında *Aspergillus flavus* NRLL 5918 ve *A. parasiticus* NRRL 2999 suşları kullanılmıştır. Küf suşları "Northern Regional Research Center, USDA, Peoria, IL, USA" adresinden, aflatoksin M<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> standartları da "Food and Drug Administration, Washington, D.C. 20204, USA" adresinden ücretsiz olarak temin edilmişlerdir.

### **Aflatoksijenik Suşların Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması**

Küçük cam tüplerdeki liyofilize kültürler, prospektüsünde tarif edildiği üzere, 1'er ml nutrient buyyon içerisinde çözündürüldükten sonra, patates dekstroz agar (PDA) plaklarına ekilerek 25 °C'de 1 hafta inkübe edilmişlerdir. Burada gelişen küfler yatık PDA'lara transfer edilerek spor teşekkülü sağlanmıştır. Steril % 0.05 Tween 80 içerisinde spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyonların 10<sup>-2</sup>

-10<sup>-5</sup> 'lik dilüsyonlarından PDA plakalarına ekim yapılarak süspansiyonun 1 ml'sinde bulunan canlı spor sayısı tesbit edilmiştir. Peynir örneklerine ekilmek üzere, süspansiyonların spor konsantrasyonu 10<sup>4</sup>/ml'ye ayarlanmıştır (Park ve Bullerman, 1983a; 1983b).

### **Peynir Örneklerinin Aflatoksijenik Suşlarla Aşılınmaları ve Depolanmaları**

Taze, tulum, beyaz, civil ve kaşar peyniri örneklerinden steril bıçaklarla 10'ar g alınmış ve küçük dilimlere ayrılmıştır. Muhtelif yerlerinden 10-15 delik açılan 5 cm çapındaki steril alüminyum kaplara konulmuştur. Bunlar da, içerisinde rutubeti sağlamak için 25 ml destile su bulunan 500 ml'lik kavanozlara konulmuştur. Bu peynir örnekleri, suya temas etmemesi için, daha önce kavanoz içine ters çevrilerek konulan tartı kapları üzerine yerleştirilmiştir. Kavanozdaki örnekler *A. flavus* NRRL 5918 ve *A. parasiticus* NRRL 2999'un 0.1 ml spor süspansiyonları ile iki paralel halinde ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Kavanozlar, ortası 1.4 cm çapında delinerek pamuklanan kapaklarıyla kapatılmışlardır. Böylece her gram peynir örneği 10<sup>2</sup> adet spor ile aşılınmıştır (Park ve Bullerman, 1983a; 1983b).

Örnek kavanozları, oda sıcaklığı sayılabilen 25°C'de 10, 21 gün ve buzdolabı sıcaklığında, yani 5°C'de, 10, 21 gün ve 14 hafta sürelerle depolanmışlardır. Ayrıca, aflatoksijenik suşlarla aşılınmayan kontrol grubu örnekler de aynı şartlarda depolanmışlardır (Bullerman, 1981; Park ve Bullerman, 1983a; 1983b).

### **Aflatoksin Analizleri**

Aflatoksin analizlerinde uygulanan ekstraksiyon, kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi safhaları, (Stubblefield, 1979) tarafından geliştirilen metot esas alınarak yapılmıştır. Ayrıca, Pons ve ark. (1972), Anonymous (1975), Park ve Bullerman (1983a)'dan yararlanılmıştır.

### **Ekstraksiyon**

Peynirlerin direkt aflatoksin analizleri için, her örnekten iki paralel olarak 50'er g alınmış, üzerlerine 2.5 ml doymuş NaCl çözeltisi, 100 ml kloroform ilave edilerek homojen bir şekilde parçalanmıştır. Elde edilen karışım filtre kağıdından (Whatman No.4) 100 ml'lik ölçü silindire süzümüştür. Depolama deneylerine alınan peynir örneklerinden 50 g yerine 10 g tartılmıştır (Park ve Bullerman, 1983a).

## **Kolon Kromatografisi**

Bu amaç için iç çapı 1.0 cm, boyu 30 cm olan kolon kullanılmıştır. Kolon sırasıyla, Anonymous (1975)'da belirtildiği gibi, aktive edilmiş 2 g silika jel 60 (Merck No. 7734), 2 g susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ile doldurulmuştur. Stubblefield (1979) tarafından tarif edildiği şekilde, peynir filtratı kolondan geçirilerek, karışımları bildirilen solventlerle yıkanmış ve aflatoksinler kloroform-aseton çözücüsüyle rotary evaporatör balonunda toplanmıştır. Çözücü vakum altında buharlaştırılmış, ekstrakt kloroform ile yıkanarak küçük şişelere alınmıştır. Şişelerdeki kloroform, ince tabaka kromatografisi için, azot gazı altında kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır. Şişeler, kullanılıncaya kadar  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

## **İnce Tabaka Kromatografisi**

İnce tabaka kromatografisi için, laboratuvarında slika gel G (Merck No. 7731) ile hazırlanan 20x20 cm'lik cam plaklar kullanılmıştır (Anonymous, 1975). Soğukta saklanan örnek ekstraktları, 500  $\mu\text{l}$  benzen-asetonitril (98+2) ilavesiyle iyice karıştırılmış ve aflatoksin  $\text{B}_1$ ,  $\text{G}_1$ ,  $\text{B}_2$ ,  $\text{G}_2$  ve  $\text{M}_1$  standartları ile, mikroşırınga kullanılarak, ince tabaka plaklarına spotlanmıştır (Park ve Bullerman, 1983a). Plaklar toluen-etilasetat - % 90 formik asit (60+30+10) solvent sisteminde geliştirilmiştir (Pons ve ark. 1972). Gelişme tankından çıkarılan plaklar uzun dalga (365 nm) UV altında incelenmiş ve standartla aynı Rf değerinde mavi veya yeşil floresan veren lekeler işaretlenmiştir. Teyit için lekeler üzerine % 25'lik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  püskürtülmüştür. Lekelerin sarıya dönüşmesiyle aflatoksin olduğu doğrulan örneklerdeki aflatoksin miktarları, Pons ve ark. (1972)'nin bildirdiği gibi hesaplanmışlardır.

## **ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA**

### **Peynirlerde Aflatoksin Analizi**

Aflatoksin analizlerinde, süt ürünleri için, Stubblefield (1979) tarafından tarif edilen yöntem esas alınmıştır. Bu yöntemin hassasiyet sınırı 0.1 ppb gibi oldukça düşük düzeydedir. Ayrıca bu metot ile, analizlerin daha kısa sürede yapılabildiği ve daha az kimyasal madde kullanıldığı yani, güvenilir olduğu, zaman ve ekonomik bakımından tasarruf sağlandığı bildirilmiştir.

İnce tabaka plakalarının uzun dalga UV ışığı (365 nm) altında incelenmesi sonucu, standartlarla aynı Rf değerinde, mavi veya yeşil floresan veren örnek lekelerine rastlanmamıştır. Böylece, Erzurum'un taze beyaz, taze civil, taze kaşar peynirleri ile Erzincan'ın taze tulum peynirlerine ait toplam 51 adet örneğin hiç

birisinde, izlenebilir miktarlarda aflatoksin  $M_1$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  ve  $G_2$  bulunmadığı anlaşılmıştır. Bulgularımız yurdumuzda bu konuda yapılan araştırma bulgularıyla uyum içindedir. Nitekim, Demirer (1972), Ankara piyasasından alınan 10 adet beyaz, 5 kaşar ve 3 eritme peyniri örneklerinin hiç birisinde aflatoksin bulamamıştır. Aynı araştırmanın, 102 peynir örneğinin tamamında da aflatoksin saptayamadığı kaydedilmiştir. (Demirer, 1973). Aynı sonuç, Antakya'dan alınan çökelek, Isparta, Konya ve Mersin'den sağlanan tulum peynirlerinde de görülmüştür (Çoksöyler ve Köşker, 1980). Alperden ve ark. (1978) tarafından Marmara bölgesinden toplanan 85 peynir örneğinde de benzer sonuç alınmış, sadece tulum peynirlerinin birinde aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir. Ancak, bunun süttten gelen toksin mi ( $M_1$ ,  $M_2$ ) yoksa peynirin küflenmesi sonucu oluşan toksinler mi ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ ) olduğu ve hangi oranda tesbit edildiği bildirilmemiştir.

Diğer ülkelerde, peynirler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda da aflatoksine rastlanmamıştır. Almanya'da 169, Fransa'da 100 (Applebaum ve ark. 1982), Yunanistan'da 94 peynir örneğinin hiç birisinde aflatoksin izlenemediği kaydedilmiştir (Zerfiridis, 1985). Bununla beraber peynir örneklerinde az veya çok oranda aflatoksin tesbit edilmiş çalışmalarda da mevcuttur. Örneğin, A.B.D'de 399 adet Cottage ve Cheddar peyniri örneğinin 1'inde (Stoloff ve ark, 1981), 118 ithal peynirinin 8'inde (Trucksess ve Page, 1986), Almanya'da; 115 Eritme peynirinin 2'sinde, 19 peynir çeşidine ait 222 örneğin 34'ünde, 197 ticari peynirin 136'sında (Applebaum ve ark. 1982), Mısır'da 60 Roquefort peynirinin 2'sinde (Naguib ve ark. 1981) aflatoksin bulunmuştur. Örneklerde aflatoksin bulunmasına, ya peynirlerin aflatoksin içeren süttten işlenmesi, ya da peynirlerde aflatoksijenik küflerin çoğalması neden olarak gösterilmiştir.

İncelediğimiz peynir örneklerinde aflatoksin  $M_1$  bulunmaması, peynire işlenen sütlerin aflatoksin yönünden temiz olduğunu gösterir. Sütlerin aflatoksinsiz olmasına peynir örneklerinin ilkbahar ve yaz aylarında toplanmasının da rolü olmuştur. Çünkü, bu aylarda hayvanlar daha ziyade çayır ve mer'alarda taze ot yemekte, küflenme riskinin olabildiği depolanmış ot ve yemlerle pek beslenmemektedir. Erzurum çevresinden temin edilen sütlerin ince tabaka kromatografisi yöntemi ile yapılan analizlerinde aflatoksin  $M_1$  bulunmaması da peynire işlenen sütlerin aflatoksin içermediği ihtimalini teyit etmektedir (Kıvanç ve ark. 1992). Ayrıca Sert (1984)'in Erzurum yem fabrikasından alınan karma yemlerde ve karma yem hammaddelerinde aflatoksin tesbit edememesi de, bu duruma kuvvet kazandırmaktadır. Öte yandan Ankara'dan alınan 35 süt örneğinin (Demirer, 1972),

Ankara ve Bolu'dan sağlanan 101 süt numunesinin hiç birisinde aflatoksin bulunmadığı ifade edilmiştir (Çoksöyler ve Köşker, 1980). Peynir örneklerimizde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'de saptanamamıştır. Peynirlerin taze ve küfsüz olması ve hiç bir örnekte aflatoksijenik suş bulunmaması nedeniyle bu sonucun alınmış olduğunu söylemek mümkündür.

İncelediğimiz peynirlerde aflatoksin bulunmaması, halk sağlığı açısından memnuniyet verici bir durumdur. Ancak bu durum, bütün peynirlerimiz için genelleştirilemez. Bu konuda birkaç araştırma yapılmış olmakla beraber, yurdumuzun diğer bölgelerinde üretilen çeşitli tipteki peynirler üzerinde yeni araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

### **Peynirlerde Laboratuvar Şartlarında Aflatoksin Oluşumu Kontrol Grubu Peynirler**

Peynir örnekleri denemeye alınmadan önce aflatoksin yönünden incelenmişlerdir. Analizler sonucunda örneklerin hiçbirisinde aflatoksin bulunmadığı saptanmıştır. *A. flavus* ve *A. parasiticus* sporlarıyla aşılansadan, doğal mikroflorasıyla depolanan kontrol grubu örneklerde de aflatoksin izlenememiştir. Bunlardan beyaz ve civil peynir örneklerinde; depolama sıcaklığı ve sürelerinin tümünde misel gelişmesi ve sporulasyon görülmemiştir. Beyaz peynirler, dilim şekillerini 5 °C'de 10. ve 21. günlerde muhafaza etmişler, 14. haftada deformasyona uğramışlardır. 25°C'de 10. ve 21. günlerde beyaz ve civil peynir örnekleri şekillerini kaybetmişler, sulu ve erimiş bir vaziyet almışlardır. Bütün sıcaklık ve sürelerde her iki peynirde fena bir koku algılanmıştır. Tulum peynirlerinde; 5 °C'de, üç inkübasyon süresinde de küf gelişmesi olmamış, 25°C'de 10. ve 21. günlerde peynirler üzerinde fazla miktarda doğal küf florasının misel ve sporları görülmüştür. 5°C'de her iki inkübasyon süresi sonunda tulum peynirlerinin erimiş bir durumda ve fena kokulu olduğu müşahade edilmiştir. Kaşar peynirlerinde ise; 5°C'de 10. ve 21. günlerde ve 14. haftada dilim şekilleri bozulmamıştır. 10. günde küf gelişmesi olmamış, 21. günde çok az küf miselleri görülmüştür. 14. hafta sonunda peynir yüzeyleri küf sporlarıyla kaplanmış ve depolama sürelerinin sonunda, hoşça gitmeyen bir koku algılanmıştır.

Denemeye alınan peynir örneklerinde, daha önce yapılan küf izolasyon ve identifikasyonu işlemleri neticesinde, *A. flavus* ve *A. parasiticus* bulunamamıştır. Bunun doğal bir sonucu olarak kontrol grubu örneklerde aflatoksin tesbit edilememiştir. Oldham ve ark. (1971)'da *A. flavus*'la aşılansamış hiçbir örnekte aflatoksin izole edemediklerini bildirmişlerdir.

### **Aspergillus Suşlarıyla Aşılanan ve 5°C'de Depolanan Peynirler**

*A. parasiticus* ve *A. flavus* ile aşılansarak 5 °C'de 10 gün bekletilen hiç bir örneğinde, görülebilir bir küf gelişmesi olmamıştır. 21. günde, sadece kaşar peynirlerinde, hafif bir şekilde küflenme başlamıştır. 10. ve 21. günlerde, peynir örneklerinin dilim şekillerinde bir değişiklik olmamıştır. 14. haftada; beyaz, civil ve tulum peynirlerinde misel gelişmesi ve spor teşekkülü görülmemiş ancak, peynir dilim şekillerinin bozulduğu, sulu ve erimiş bir vaziyet alarak, buldukları kaba yayıldıkları müşahade edilmiştir. Peynir yüzeylerinde mukoid görünüşte, renkli maya veya bakteri kolonileri oluşmuştur. Kaşar peynirleri ise, aflatoksijenik suşların dışında, kahverengi-siyah küf sporları ile kaplanmış, dilim şekilleri pek bozulmamıştır. 14. haftada bütün peynir örneklerinde, hoş gitmeyen fena bir koku oluşmuştur. 5 °C'de 10, 21 gün ve 14 hafta depolanan hiçbir peynir örneğinde aflatoksin oluşmadığı belirlenmiştir.

Bulgularımız, bu konuda yapılan araştırma bulgularıyla uyum içerisindedir. Nitekim, *A. flavus* ile aşılansan ve 4.4 veya 7.2 °C'de 12 gün süreyle depolanan Cheddar peynirlerinde (Oldham ve ark. 1971), *A. flavus* ve *A. parasiticus* ile inokule edilerek 7.2°C'de 1, 2, 4 ve 14 hafta bekletilen Brick peynirlerinde küf gelişmesi ve aflatoksin teşekkülü olmadığı tesbit edilmiştir (Shih ve Marth, 1972). Lieu ve Bullerman (1977), *A. flavus* NRRL 2520 suşunun Swiss ve Mozzarella peynirlerinde 5 ve 12°C'de gelişmediğini ve aflatoksin üretmediğini görmüşlerdir. Park ve Bullerman (1983a; 1983b), *A. flavus* NRRL A16100 ve *A. parasiticus* NRRL /2999 suşlarıyla aşılansan Cheddar ve Cottage peynirlerinin 5°C'de, 10 ve 21 gün; Kaarioannoglou (1984), *A. flavus* ile inokule edilen Feta peynirlerinin 5 veya 10°C'de 60 gün depolanmaları sonucu, örneklerde sporulasyon görülmediğini ve aflatoksin oluşmadığını bildirmişlerdir.

Böylece bulgularımız, incelenen taze beyaz, civil, kaşar ve tulum peynirlerinin, *A. parasiticus* veya *A. flavus* suşlarıyla kontamine olarak, buzdolabı sıcaklığında 14 haftaya kadar depolanmaları halinde, aflatoksijenik küf gelişmesinin ve aflatoksin teşekkülünün olmayacağını göstermiştir.

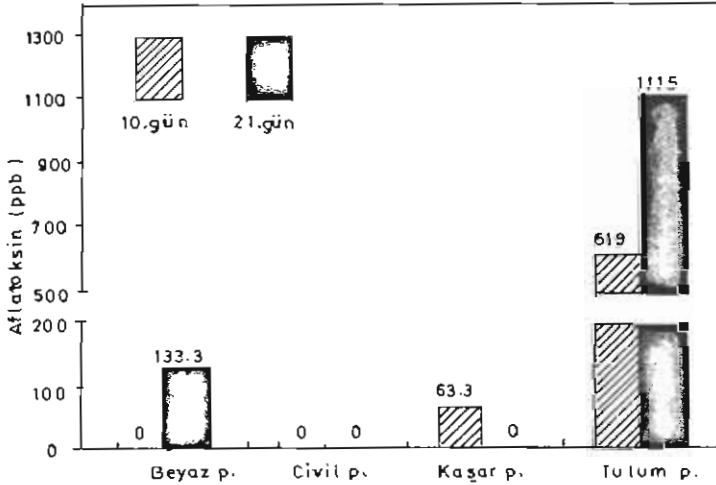
### **Aspergillus Suşlarıyla Aşılansan ve 25°C'de İnkübe Edilen Peynirler**

*A. parasiticus* ve *A. flavus* suşlarıyla aşılansan peynir örneklerinde 25°C sıcaklıkta, 10. ve 21. günlerdeki misel gelişmesi ve sporulasyon durumları ile aflatoksın (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) oluşumları Tablo 1'de verilmiştir. *A. parasiticus* veya *A. flavus* ile inokule edilen civil peynirlerin hiçbirinde misel gelişmesi ve sporulasyon



olmamıştır. Ancak, bütün civil peynir örnekleri, fena bir kokuya ve cıvık bir görünüme sahip olmuşlar ve yenilebilir vasıflarını kaybetmişlerdir. Diğer peynir örneklerinin hepsinde misel gelişmesi ve sporulasyon görülmüştür.

*A. parasiticus* ile aşılanan ve 25°C'de inoküle edilen beyaz peynirlerde 10. günde aflatoksin izlenememiş, 21. günde 33.3 ppb B<sub>1</sub>, 100.0 ppb G<sub>1</sub> olumuş, B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> oluşmamıştır. Civit peynirlerin her iki inkübasyon süresinde aflatoksin tesbit edilememiştir. Kaşar peynirlerinin 10. gününde sadece B<sub>1</sub> (30.0 ppb) ve G<sub>1</sub> (33.3 ppb) meydana gelmiş, 21. gününde hiçbir toksin tipine rastlanamamıştır. En yüksek aflatoksin oluşumu tulum peynirlerinde görülmüştür. Dört toksin tipinin de teşekkül ettiği tulum peynirlerinde 10. günde; 300.0 ppb B<sub>1</sub>, 13.3 ppb B<sub>2</sub>, 285.7 ppb G<sub>1</sub>, 20.0 ppb G<sub>2</sub>, 21. günde 500.0 ppb B<sub>1</sub>, 600.0 ppb G<sub>1</sub>, 15.0 ppb G<sub>2</sub> oluşmuştur (Şekil 1).



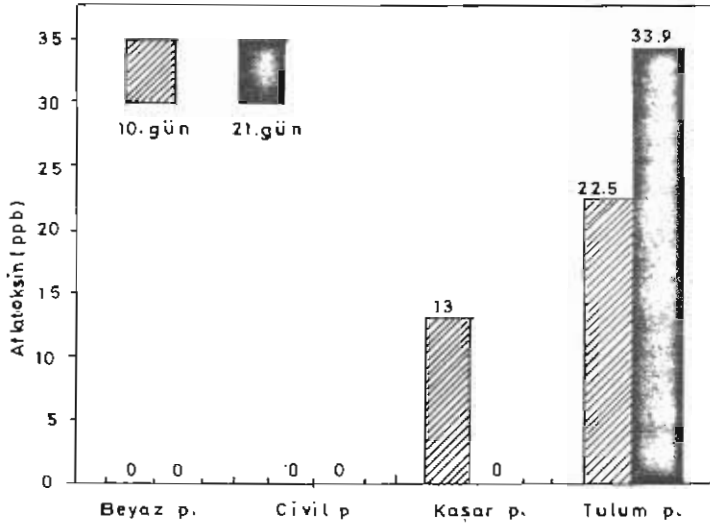
Şekil 1. *A. parasiticus* ile Aşılanarak 25°C'de Inkübe Edilen Peynirlerde Oluşan Toplam Aflatoksin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) Miktarları.

Figure 1. Total Aflatoxin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) in Cheeses Inoculated With *A. parasiticus* and Incubated At 25°C

*A. flavus* ile aşılanan beyaz ve civit peynirlerin her iki inkübasyon süresinde, kaşar peynirlerinin de 21. gününde aflatoksin oluşmamıştır. Kaşar peynirinde 10. gününde 8.3 ppb B<sub>1</sub>, 4.7 ppb G<sub>1</sub>, Tulum peynirlerinde 10. gününde 16.7; ppb B<sub>1</sub>, 5.8 ppb G<sub>1</sub>, 21. gününde 12.5 ppb B<sub>1</sub>, 21.4 ppb G<sub>1</sub> tesbit edilmiştir. *A. flavus*

tarafından hiçbir peynir örneğinde aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> oluşturulamamıştır (Şekil 2).

İncelediğimiz peynirlerde oluşan aflatoksin miktarları, yerli veya yabancı peynirler için verilen rakamların bir kısmına yakın, bir kısmından oldukça farklıdır (Alperden ve ark., 1978; Çoksöyler ve Köşker, 1980). *A. flavus* ve *A. parasiticus* 'un değişik suşlarıyla inoküle edilen çeşitli yabancı peynirlerde de farklı miktarlarda aflatoksin tesbit edilmiştir (Oldham ve ark., 1971; Shih ve Marth, 1972; Park ve Bullerman 1983 a; 1983 b; Karaioannoglou, 1984).



Şekil 2. *A. flavus* ile Aşılansarak 25°C'de İnkübe Edilen Peynirlerde Aflatoksin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) Miktarları.

Figure 2. Total Aflatoxin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) in Cheeses Inoculated With *A. flavus* and Incubated at 25°C.

*A. parasiticus* ile aşıladığımız taze civil peynirlerde ve *A. flavus* ile inoküle edilen taze civil ve beyaz peynirlerde aflatoksin tesbit edilememiştir. Kaşar ve tulum peynirleri arasında da değişik oranlarda aflatoksin tesbit edilmiştir. Peynir çeşitleri arasındaki fiziksel ve kimyasal özelliklerin ve küf suşlarının farklı olması sebebiyle bu durumun ortaya çıktığını söylemek mümkündür. Çünkü, aflatoksin oluşumunda sıcaklık, nem vb. çevre faktörlerinin yanında substrat da önemli bir faktördür. Peynirler üzerinde yapılan araştırmalar, peynir tipine bağlı olarak, sıfırdan veya çok düşük miktarlardan, yüksek seviyelere kadar aflatoksin oluşabileceğini ortaya çıkarmıştır. Nitekim bu durum, oluşan aflatoksin miktarları yukarıda verilen, kaşar ve tulum (Alperden ve ark. 1978), Swiss ve Mozzarella (Bullerman, 1981),

Cheddar, Cottage ve Eritme (Park ve Bullerman, 1983a) peynirleri arasında görülmüştür. Shih ve Marth (1972) tarafından Brick peynirlerinde düşük miktarlarda aflatoksin izlenmiştir. Araştırmacılar bu sonucun alınmasına, Brick peynirlerinde başlıca karbonhidrat olan laktozun aflatoksin teşekkülü için uygun bir karbon kaynağı olmamasını ve peynirin olgunlaşması sırasında aflatoksinlerin enzimatik ve kimyasal değişikliğe uğramasını, iki önemli neden olarak göstermişlerdir.

Peynirlerde oluşturulan aflatoksin miktarları üzerine, aflatoksijenik suşların da önemli etkisi olmuştur. Nitekim *A. parasiticus*, beyaz peynirlerde 21 günde 33.3 ppb B<sub>1</sub>, 100.0 ppb G<sub>1</sub> oluştururken, *A. flavus* hiç toksin oluşturmamıştır. Ayrıca, *A. parasiticus* tarafından kaşar ve tulum peynirlerinde aynı şartlarda oluşturulan aflatoksin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) miktarları *A. flavus* 'a göre daha fazla olmuştur. Bu fazlalık Kaşar peynirlerinde 10. günde yaklaşık 5, tulum peynirlerinde 10. günde 27, 21. günde ise 33 misline ulaşmıştır. Benzer durum Brick peynirlerinde de görülmüştür. Bu peynirlerde *A. parasiticus* CMI 96429 suşu, 1., 2. ve 4. haftalarda 14.2 ile 197.0 ppb arasında aflatoksin oluşturmuş, *A. flavus* CMI 102135 suşu ise aynı şartlarda toksin oluşturmamıştır (Shis ve Marth, 1972). Park ve Bullerman (1983a), *A. parasiticus* NRRL 2999 suşunun eritme peynirlerinde 10. günde 10 ppb aflatoksin oluşturması karşısında, *A. flavus* NRRL A16100 suşunun 1300 ppb aflatoksin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar daha birçok araştırmacı tarafından da müşahade edilmiştir (Çoksöyler ve Köşker, 1980; Park ve Bullerman 1983b). Araştırmacılar, peynirlerin çeşitleri arasında veya çeşitlerin kendi aralarında değişik fiziksel ve kimyasal yapı göstermesi ve aşılana aflatoksijenik suşların toksin üretim yeteneklerinin farklı olması nedeniyle, peynirlerde farklı miktarlarda aflatoksin oluştuğunu vurgulamışlardır.

İncelediğimiz peynir çeşitlerinin bazılarında aflatoksijenik suşların gelişmemesine veya zayıf gelişmesine ve düşük miktarlarda aflatoksin tesbit edilmesine veya hiç izlenmemesine bir sebep olarak da peynirlerin doğal mikroflorası gösterilebilir. Çünkü, bazı mikroorganizmalar, aflatoksijenik küflerin gelişmesini ve toksin üretimlerini engellemektedir. Nitekim, Shih ve Marth (1972), Brick peynirlerinden düşük miktarlarda aflatoksin izlenmesinde bu peynirlerde bulunan *Brevibacterium linens* 'in veya bazı mayaların, oluşan aflatoksinleri parçalama ihtimali üzerinde durmuşlardır. Ayrıca, *Flavobacterium aurantiacum* (Ciegler ve ark. 1966), *Aspergillus niger* suşlarının (Jarvis, 1971), aflatoksinleri detoksifiye ettikleri (Diener, 1976) kaydedilmiştir.

Aflatoksijenik suşlarla aşılana 5°C'de 14 haftaya kadar bekletilen taze peynirlerde aflatoksin oluşmaması, bu peynirlerin buzdolabı sıcaklığında emniyetle

depolanabileceği sonucunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, 25°C'de aflatoksinik suşların Erzurum'un taze civil peynirlerinde aflatoksin oluşturmaması, bu peynirlerin aflatoksin oluşumuna uygun olmadığını göstermiştir. Ancak, böyle bir genelleme yapılabilmesi için, daha fazla örnek çeşidiyle, farklı aflatoksinik suşlarla ve değişik laboratuvar şartlarında araştırmaların yapılması gerekir. Gıdalardaki aflatoksin B<sub>1</sub> limitinin 20 ppb olduğu düşünülürse, beyaz ve kaşar peynirlerinde, fazla olmamakla beraber, tolerans sınırının üzerinde aflatoksin teşekkül etmiştir. Tulum peynirlerinde oluşan miktarları ise bu limitin çok üstündedir. Bulgular, Erzincan taze tulum peynirlerinin aflatoksinik suşlarla kontamine olması halinde, yüksek seviyelerde aflatoksin oluşabileceğini göstermiştir. Bu sonuç, özellikle tulum peynirlerinin buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

### KAYNAKLAR

- Alperden, İ., 1978. Hayvansal Ürünlerde Mikotoksin Araştırmaları ve Kalite Kontrol Esasları. TÜBİTAK Marmara Bil. ve End. Araş. No. 31, s. 129.
- Anonymous, 1975. Natural Poisons, In : Official Methods of Analysis. Assoc. Off. Chem. Washington, D.C., 462-482.
- Applebaum, R.S., R.E. Brackett, D.W. Wiseman, E.H. Marth, 1982. Aflatoxin O Toxicity to Dairy Cattle and Occurrence in Milk and Milk Products-A Review. J. Food Prot. 45 : 752-777.
- Bullerman, L.B., 1981. Public Health Significance of Molds and Mycotoxins in Fermented Dairy Products. J. Dairy Sci., 64 : 2439-2452.
- Bullerman, L.B., F.J. Olivigni, 1974. Mycotoxin Producing-Potential of Mold Isolated from Cheddar Cheese. J. Food Sci. 39 : 1166-1168.
- Ciegler, A., E.B. Lillehoj, R.B. Peterson, H.H. Hall, 1966. Microbial Detoxification of Aflatoxin. Appl. Microbiol. 14 : 934-939.
- Çoksöyler, N., Ö. Köşker, 1980. Süt ve Mamüllerinde Aflatoksin Oluşumu Üzerinde Araştırmalar. Ank. Üni. Zir. Fak. Diploma Sonrası Yüksek Okulu İhtisas Tez Özetleri, Ank. Üni. Basımevi, 436-456.
- Demirer, M.A., 1972. Ankara Piyasasında Satılmakta Olan Bazı Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Araştırmaları. 15. Türk Mikrobiy. Kong. 28-30 Eylül, Ank. 346-349.
- Demirer, M.A., 1973. Süt ve Mamüllerinde Aflatoksin M1 ve B1 Aranması Üzerinde Araştırmalar. Ank. Üni. Vet. Fak. Derg. XX, 2-3 : 421-443.
- Diener, U.L., 1976. Environmental Factors Influencing Mycotoxin Formation in the Contamination of Food. Amer. Phytopath. Soc. 3 : 126-139.

- Frank, H.K., 1986. Diffusion of Aflatoxins in Foodstuffs. *J. Food. Sci.* 33 ; 98-100.
- Hausler, W.J., 1974. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Amer. Public. Health Assoc. Washington D.C.
- Jarvis, B., 1971. Factors Effecting the Production of Mycotoxins. *J. Appl. Bact.* 34 : 199-213.
- Karaioannoglou, P., 1984. Aflatoxin Production of White Brined Feta Cheese. *Milchwissenschaft.* 39 : 671-674.
- Kıvanç, M., İ. Hasenekoğlu, S. Sert., 1992. Çiğ Sütlerde Küf İzolasyon ve İdentifikasyonu ile Aflatoksin Aranması. *Gıda San.* 6 : 26-35.
- Naguib, Kh., M.M. Naguib, A. Monib, M.Nour, M. El-Khadem, I. Hosby, 1981. Studies on Mycotoxin in Local Roquefort Cheese. *Int. Symp. Workshop Mycotoxins.* 6-16 Sept., Cairo, Egypt, 38-39.
- Oldham, L.S., F.W. Oehme, D.C. Kelley, 1971. Production of aflatoxin in Pre-Packaged Lancheon Meat and Cheese at Refrigerator Temperatures. *J. Milk Food Technol.* 34; 349-351.
- Park, K.Y., L.B. Bullerman, 1983a. Effects of Substrate and Temperature on Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* and *A. flavus* . *J. Food Prot.* 46 : 178-184.
- Park, K.Y., L.B. Bullerman, 1983b. Effects of Cyclin Temperatures on Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* and *A. flavus* in Rice and Cheddar Cheese. *J. Food Sci.* 48 : 889-896.
- Pons, W.A., A.F. Cucullu, A.O. Franz Jr., 1972. Rapid Quantitative TLC Method for Determining Aflatoxins in Cottonseed Products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 55: 768-774.
- Sert, S., 1984. Bazı Karma Yem ve Karma Yem Hammaddelerinin Aflatoxin Yönünden Araştırılması. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Der.* 15 : 55-64.
- Shih, C.N., E.H. Marth, 1972. Experimental Production of Aflatoxin on Brick Cheese. *J. Milk Food Technol.* 35 : 585-587.
- Stoloff, L., G.Wood, L. Carter, Jr., 1981. Aflatoxin M<sub>1</sub> in Manufactured Dairy Products Produced in the United States in 1979. *J. Dairy Sci.* 4 : 2426-2430.
- Stubblefield, R.D., 1979. The Rapid Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Dairy Products. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56 : 800-802.

- Trucksess, M.W., S.W. Page, 1986. Examination of Imported Cheeses for Aflatoxin M<sub>1</sub>. J. Food Prot. 49 : 632-633.
- Zerfiridis, G.K., 1985. Potential Aflatoxin Hazards to Human Health from Direct Mold Growth on Teleme Cheese. J. Dairy Sci. 68 : 2148-2188.

Ta blo 1. *A. parasiticus* ve *A. flavus* ile Aşlanarak 25°C'de İnkübe Edilen Peynirlerde Aflatoksin Oluşumu, Misel Gelişmesi ve Spor teşekkülü  
 Table 1. Aflatoxin Production, Mycelium Growth and Spore Formation in Cheeses Inoculated With *A. parasiticus* and *A. flavus* Spores and Incubated 25°C

Peynir Çeşidi	İnkübasyon süresi (gün)	<i>A. parasiticus</i>						<i>A. flavus</i>						
		Aflatoksin (ppb)				Misel gelişmesi	Sporulasyon	Aflatoksin (ppb)				Misel gelişmesi	Sporulasyon	
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>			B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>			
Beyaz	10	- <sup>a</sup>	-	-	-	+ <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	+	-
	21	33.3	-	100.0	-	++ <sup>c</sup>	++	-	-	-	-	-	+	+
Civil	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kaşar	10	30.0	-	33.3	-	++	++	8.3	-	4.7	-	+	++	
	21	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	+	++	
Tulum	10	300.0	13.3	285.7	20.0	++	++	16.7	-	5.8	-	++	++	
	21	500.0	-	600.0	15.0	++	++	12.5	-	21.4	-	++	++	

-<sup>a</sup> : Aflatoksin oluşumu, misel gelişmesi veya sporulasyon yok.

+<sup>b</sup> : Misel gelişmesi veya sporulasyon orta derecede (peynir yüzeylerinin yarısı veya daha az kısmı misel veya spor ile kaplı)

++<sup>c</sup> : Misel gelişmesi veya sporulasyon fazla miktarda (yüzeyin tamamı misel veya spor ile kaplı)