

24860

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN KÜFLÜ PEYNİRLERDE
KÜF FLORASI VE MİKOTOKSİNLERİN
(B₁, B₂, G₁, G₂ ve Penisilik asit) ARAŞTIRILMASI

Biröl ÖZKALP
DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Konya, 1992

24860

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN KÜFLÜ PEYNİRLERDE
KÜF FLORASI VE MİKOTOKSİNLERİN
(B₁, B₂, G₁, G₂ ve Penisilik asit) ARAŞTIRILMASI

Bırol ÖZKALP

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez tarihinde
aşağıdaki jüri tarafından edilmiştir.

Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK

(Danışman)

(Üye)

(Üye)

ABSTRAKT

Doktora Tezi

KONYA VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN KÜFLÜ PEYNİRLERDE
KÜF FLORASI VE MİTOKSİNLERİN
(B₁, B₂, G₁, G₂ ve Penisilik asit) ARAŞTIRILMASI

Birol ÖZKALP

Selçuk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK

1992, Sayfa 64

Jüri: Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK

Prof.Dr.Nezihe TUNAİL.....

Prof.Dr.Velittin.GÜRGÜN....

Bu çalışmada, Konya ve çevresinde üretilen 140 küflü peynir örneği, küf florası ve mikotoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) yönünden araştırılmıştır.

Küflü peynir örneklerinde Penicillium cinsine ait dominant türler sırası ile Penicillium roqueforti (% 42.91), P. verrucosum var. cyclopium (% 22.30), P. camemberti (% 5.08), P. chrysogenum ve P. brevicompactum

herbiri (% 4.73), P. frequentans (% 4.05), P. echinulatum (% 3.38) olarak bulunmuştur. Aspergillus cinsine ait dominant türler ise sırasıyla A. flavus (% 8.45), A. versicolor (% 4.39) olarak belirlenmiştir.

Küflü peynir örneklerinin hiçbirinde mikotoksin (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) saptanamamıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Küflü peynir, mikotoksin, penisilik asit, aflatoksin, küf.



ABSTRACT

Doctora Thesis

THE INVESTIGATION OF MOLD FLORA AND MYCOTOXINS
(B₁, B₂, G₁, G₂ and penicillic acid) IN MOLDY CHEESES
WHICH HAVE BEEN PRODUCED IN AND AROUND OF KONYA

Birol ÖZKALP

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK

1992, Page: 64

Jury: Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK

Prof.Dr.Nezihe TUNALI.....

Prof.Dr.Velittin.GÜRGÜN....

In this study, mycoflora and mycotoxins (B₁, B₂, G₁, G₂ and penicillic acid) of 140 moldy cheese samples were investigated which have been produced in and around of Konya.

The dominant species of genus Penicillium which have been found in moldy cheese samples and their prevalences are; P. roqueforti (42.91 %), P. verrucosum

var. cyclopium (22.30 %), P. camemberti (5.08 %), P. chrysogenum and P. brevicompactum each one (4.73 %), P. frequentans (4.05 %), P. echinulatum (3.38 %).

The dominant species of genus Aspergillus which have been determined and their prevalences are; A. flavus (8.45 %), A. versicolor (4.39 %).

No mycotoxins (B₁, B₂, G₁, G₂ and penicillic acid) were found in any moldy cheeses.

KEY WORDS: Moldy cheese, Mycotoxin, Aflatoxin, Penicillic acid, Mold.

TEŐEKKÖR

Bana bu tez konusunu veren ve çalıőmalarımnda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Y. Doç. Dr. Yusuf DURAK'a en içten dileklerimle őükranlarımı sunarım. Ayrıca tez metinlerini itina ile daktilo eden Mustafa ÇALIŐKAN'a da teőekkör ederim. Tez çalıőmalarımnda teővik ve desteğini esirgemeyen Halk Sağlığı Laboratuvarı Mődőrü Mik. Uzm. Adil YILMAZ'a da teőekkör etmeyi bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Peynirin Tanımı	4
2.2. Peynirin Besin Değeri	4
2.3. Peynirin Sınıflandırılması	4
2.4. Peynirin Teknolojisi	5
2.5. Peynirlerle Geçen Hastalıklar	6
2.6. Peynirler ve Küfler	7
2.7. Mikotoksinler	9
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Denemede Kullanılan Peynirler	15
3.1.2. Besiyerleri	15
3.1.3. Denemede Kullanılan Çözeltiler	18
3.2. Metod	20
3.2.1. Küflü Peynirlerde Toplam Mikroorganizma ve Koliform Sayımı	21
3.2.2. Küflü Peynirlerde Toplam Küf ve Maya Sayımı	21
3.2.3. Küflerin İdentifikasyonu	21
3.2.4. Küflü Peynirlerde Mikotoksinlerin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ ve penisilik asit) Ekstraksiyonu ve Analizleri	22
3.2.5. İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer	

Chromatography : TLC) Plaklarının Kaplanması	24
3.2.6. Mikotoksinlerin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ ve penisilik asit) Standartlarının Hazırlanması	24
3.2.7. TLC'de Yürütücü Fazın Hazırlanması	25
3.2.8. TLC'de Mikotoksinlerin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ ve penisilik asit) Saptanması	25
3.2.9. Küflü Peynirlerde Yapılan Kimyasal Analizler	26
3.2.9.1. Küflü Peynirlerde Asitliğin Belirlenmesi.	26
3.2.9.2. Küflü Peynirlerde Tuz Miktarının Belirlenmesi	27
3.2.9.3. Küflü Peynirlerde Rutubetin Belirlenmesi.	27
3.2.9.4. Küflü Peynirlerde Yağ Miktarının Belirlenmesi	28
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Küflü Peynirlerde Toplam Mikroorganizma ve Koliform Bakteri Sayımı	30
4.2. Küflü Peynirlerde Toplam Küf ve Maya Sayımı	32
4.3. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Küf Türleri	32
4.4. Küflü Peynirlerde Mikotoksin Analiz Sonuçları	41
4.5. Küflü Peynirlerde Kimyasal Analiz Sonuçları	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
6. ÖZET	45
7. LİTERATÜR	47

1. GİRİŞ

Peynir; peynir mayası, zararsız organik asitler veya starter kültürlerle pıhtılaştırılan sütlerin işlenmesi, tuzlanması, yöreye göre (Erzurum'da ot, Konya'da küf v.b.) tat ve koku verici zararsız maddelerin katılması, farklı süre ve ısı derecelerinde olgunlaştırılması sonucunda elde edilen bir süt ürünüdür (Eralp 1974).

Sütte bulunan protein, yağ ve vitaminlerin tümü peynirde konsantre olarak bulunduğundan sağlığa yararlı bir gıda maddesidir. Beslenmemizde önemi büyük olan peynir, dünyadaki birçok ülkede yapılmakta ve bol miktarda tüketilmektedir.

Peynir ülkemizde çok eskiden beri üretilip, tüketilmektedir. Son yıllarda bu üretim endüstrileşme yolunda büyük mesafeler katetmiştir. Ülkemizde süt üretiminin yaklaşık % 20'si peynir olarak işlenmektedir (Anonim 1981 a, Anonim 1981 b, Ülgüray 1986).

Peynirlerin üretimi sırasında gerekli hijyenik ve teknolojik şartlara uyulmadığı için çok faydalı olan bu gıda maddesi, içerdiği mikroorganizmalardan ve onların metabolizma artıklarından dolayı zararlı duruma geçebilmektedir (Özgümüş 1962).

Konya yöresinde çeşitli peynir türlerinin üretim ve tüketimi yapılmaktadır. Bunlar; beyaz peynir, tulum peyniri, kaşar peyniri ve yöreye has olan küflü peynirdir.

Yöre halkı tarafından özellikle çok tüketilen küflü peynir; tulum peynirinin olgunlaşmasından sonra, tulumun çeşitli yerlerinden kesilerek bodrum, mahzen, yöreye göre de mağaralara konarak doğal olarak küflendirilmesi ile elde edilmektedir (Şekil 1.1).

Şekil 1.1 Küflü peynirin genel görünümü



Küflendirme işlemi herhangi bir starter kültür kullanılmadan yapıldığı gibi, sağlığa elverişli olmayan yerlerde de yapılmaktadır. Yöre halkında mavi ve yeşil küflerin peynire hoş koku ve güzel tad verdiği ve sağlığa faydalı olduğu inancı yaygındır. Damak lezzeti bakımından çok aranan bu peynir araştırma konusu olarak önemli görülmüştür. Yapılan bu çalışmada küflü peynirin mikrobiyal

populasyonunun, küf florasının saptanması ve içerdiği mikotoksinlerin (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) belirlenmesi ve kimyasal analizlerinin yapılması amaçlanmıştır. Sonuç olarak peynirlerin kalitesinin ve insan sağlığı açısından değerinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Peynirin Tanımı

Sağlık Bakanlığının yayınlamış olduğu gıda maddeleri mevzuatınının 61. maddesinde (06. 03. 1980 tarih ve 8/525 sayılı kararname ile değişik şekli) peynir; çiğ, pastörize ya da 72 °C de 2 dakika ısıtılmış sütlerin peynir mayası, organik zararsız bir asit ile pıhtılaştırılıp işlenmesi ve belli bir olgunlaşma süresi geçirmesi sonunda elde edilen, tadı, kokusu ve kıvamı kendine özgü bir süt ürünüdür (Ercoskun 1984).

2.2. Peynirin Besin Değeri

1 kg. peynirde ortalama olarak 240 g. protein, 320 g. yağ, 18 g. karbonhidrat, 0.08 g. kalsiyum ve 10000-20000 International Unit (IU) A vitamini olduğu tesbit edilmiştir (Kaptan 1986).

2.3. Peynirin Sınıflandırılması

Yabancı ülkelerde peynirin sınıflandırılması teknik özellikler dikkate alınarak yapılmaktadır. Bu özelliklere göre peynirler:

- a. Yumuşak peynirler
- b. Yarı sert peynirler
- c. Sert peynirler
- d. Eritme peynirler

olmak üzere 4 grup altında toplanır (Kaptan 1986).

Ülkemizde peynirlerin sınıflandırılması, peynirlerdeki yağ oranı dikkate alınarak yapılmaktadır. Buna göre peynirler:

a. Tam yağlı peynirler: Kuru maddede en az % 45 süt yağı

b. Yağlı peynirler: Kuru maddede en az % 30 süt yağı

c. Yarı yağlı peynirler: Kuru maddede en az % 20 süt yağı

d. Yağsız peynirler: Kuru maddede % 20 den az süt yağı içeren peynirler olmak üzere 4 grup altında toplanırlar (Ercoskun 1984).

Halk arasında da beyaz peynir, kaşar peyniri, dil peyniri, çayır peyniri, tulum peyniri, çömlek peyniri, Mihaliç peyniri, otlu peynir, Urfa peyniri, Edirne peynirive küflü peynir olmak üzere çeşitli sınıflandırmaların yapıldığı Omurtag (1976) tarafından bildirilmektedir.

2.4. Peynirin Teknolojisi

Peynir; sütün 65 - 68 °C'ye ısıtıldıktan sonra 28 °C'ye kadar soğutulup peynir mayası (rennin) ile mayalanmasıyla elde edilir. Mayalanan peynirde pıhtı oluşumu gerçekleştikten sonra, tüm suyunu bırakıncaya kadar süzülür. Daha sonra peynir kalıpları % 16 tuz ihtiva eden salamuraya konur. 2 - 4°C'de soğuk hava depolarında

saklanır. En az 3 ay olgunlaşma devresi geçirdikten sonra satışa sunulur (Eralp 1974). Peynirlerde olgunluk olayı tamamen enzimattiktir. Mikroorganizmalar çıkarmış oldukları enzimlerle laktozu, proteinleri, yağları parçalayarak lezzet ve aroma oluşturlar ve bilinen değişik tür peynirleri meydana getirirler (Karasoy 1955, Kaptan 1986).

Peynir; yağlı, yarım yağlı veya yağsız koyun, keçi, inek, manda sütlerinden veya bunların karışımından yapılır. Bu sütler krema veya sütyağı karıştırılarak zenginleştirilebilir. Yapılacak peynir çeşidine göre süte özel olarak hazırlanmış starter kültür ve kalsiyum klorür karıştırılabilir. Peynirin içine özelliklerine göre özel bakteri kültürleri, zararsız küf, mutfak tuzu, koku ve tat verici bazı bitkiler, baharat ve sütün diğer elemanları katılabilir (Ercoskun 1984).

2.5. Peynirlerle Geçen Hastalıklar

Yapılan çalışmalarda peynirlerden; Brucellosis, Antraks, Botulizm, Enteropatojenik E. coli enfeksiyonları, Diphtheria, Clostridium perfringens enfeksiyonları, Mycobacteria enfeksiyonları, Staphylococcus enterotoksin intoksikasyonları, Salmonellozis, Shigellozis, Streptococ'lara ait enfeksiyonlar, Pastorellozis, Listeriozis, Leptospirozis gibi hastalıkların geçebileceği araştırmacılar tarafından tesbit edilmiştir (Anonim 1962 ve 1969, Altan 1963, Omurtag 1966, William ve Hausler 1972,

Hobbs ve Gilbert 1978).

Gilman ve Marquardt (1951) yaptıkları araştırmada, çiğ süttten imal edilmiş İtalyan peynirlerinde Brucella abortus'u izole etmişlerdir.

Salmonella thyphi, Brucella melitensis, B. abortus epidemileri ile Streptococ'lara bağılı enfeksiyonlarla Clostridium botulinum'dan kaynaklanan besin intoksikasyonlarına peynirlerin sebep olduğu Fabian (1946) tarafından bildirilmiştir.

2.6. Peynirler ve Küfler

Küflerin mantarlar alemi içinde, çok hücreli filamentli funguslar olarak tanımlandığı Fraizer ve Westhoff (1978) tarafından bildirilmektedir.

Küfler yeryüzünde her iklimde gelişmektedirler. Nemli ve kuru ortamlarda canlılıklarını devam ettirebilirler. Küfler, ölü organik maddeler üzerinde saprofit veya canlı organizmalar üzerinde parazit olarak yaşarlar (Ingold 1984).

Küflerin az nemli ortamlarda ve çeşitli sıcaklık derecelerinde üreyebilmeleri nedeni ile depolanmış gıda ürünlerinde önemli sorunlara neden oldukları Jarvis ve ark. (1983) tarafından tesbit edilmiştir.

Toksik küfler; gıda maddelerinin büyük çoğunluğunda gelişebilmekte, fakat mikotoksin üretmesi her gıda maddesinde aynı şekilde olmamaktadır. Burada çevre

faktörleri yanında, substrat yapısı da önemli rol oynamaktadır (Topal ve Aran 1987, Topal 1988).

Saprofit küf mantarları içinde Aspergillus, Penicillium, Fusarium ve Mucor'ların büyük önem taşıdığı ve bu mantarların her iklimde geliştiği Anonim'de (1985) bildirilmektedir.

Towers (1979)'a göre küflerden, Aspergillus claviceps, Fusarium, Penicillium, Phoma, Stochybatrys, Pithomyces, Dipladia, Phomopsis, Myrothecium cinsleri önemli toksik küf türlerini ihtiva etmektedirler.

Aspergillus'ların belirlenmiş olan 132 türünün 64 değişik toksik metabolitinin olduğu araştırmacılar tarafından tesbit edilmiştir (Rapel ve Fennel 1965).

Penicillium'ların 150 türü ve 97 toksik metaboliti olduğu Pitt (1979) tarafından bildirilmiştir.

Bazı küflerin faydalı olduğu, değişik metodlar ve teknikler ile bu küflerden içkiler, gliserol, yağlar, organik asitler, vitaminler, antibiyotikler, enzimler ve çeşitli fermente ürünlerin üretildiği belirtilmektedir (Topal 1986 a, Topal 1986 b, Sert 1985).

Küflerin insan ve hayvan hastalıklarına sebep olduğu, ölüme sonuçlanan zehirlenmelerin tarihinin 800' lü yıllara dayandığı ve Ergotismos adıyla bilinen mikotoksikozis olayı ile belgelendiği (Topal 1984) tarafından bildirilmektedir.

Omurtag (1976)'a göre peynirlerde, Penicillium,

Cladosporium, Aspergillus, Mucor, Monilia, Alternaria cinsine ait küfler rahatlıkla üremektedir.

Aran ve ark. (1986), yarı sert özellikteki Türk peynirlerinde yapmış oldukları küf florası çalışmalarında hakim florayı Penicillium'ların oluşturduğunu tesbit etmişlerdir.

Kaşar peynirlerinde yapmış olduğu çalışmalarda, küflerin kaşar peynirinde önemli sorunlar oluşturduğu Topal (1989) tarafından bildirilmektedir.

Topal (1987 a, 1987 b), kaşar peynirlerinde yapmış olduğu çalışmada, izolatların % 86.1 inin Penicillium, % 3 ünün Aspergillus, % 10.9 unun diğer küfler olduğunu, P. verrucosum cyclopium'u dominant tür olarak tesbit etmiştir.

Trakya ve Marmara bölgesi peynirlerinde yapılan bir araştırmada çoğunlukla Penicillium türlerinin ürediği tesbit edilmiştir (Alperden 1977).

2.7. Mikotoksinler

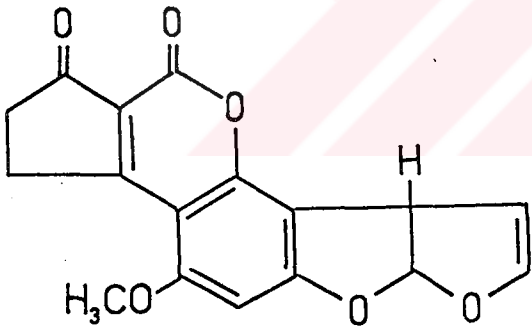
Mikotoksinler, küfler tarafından üretilen toksik metabolitler olup, canlılarda zararlı ve toksik etkiler meydana getiren maddelerdir. Mikotoksinlerle meydana gelen zehirlenmelere mikotoksikozis adı verilir (Vural 1984).

Yapılan araştırmalara göre 250'den fazla küfün mikotoksin oluşturduğu, bunların içinde en çok 20 tanesinin insanlar ve hayvanlar için çok toksik metabolitler sentezledikleri bildirilmektedir (Vural 1984).

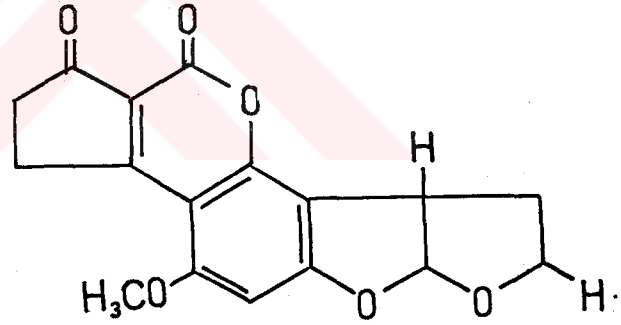
İlk olarak Aspergillus flavus'tan izole edilen mikotoksine aflatoksin adı verilmiştir. Başlangıçta aflatoksinin B₁, B₂, G₁, G₂ olmak üzere dört çeşidi olduğu tesbit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bunun 18'e ulaştığı belirlenmiştir (Anonim 1985, Topal 1987 c).

Aflatoksinler, fumarin türevi olup farmakolojik özellikleri önemlidir. Aflatoksinlerin açık formülleri Şekil 2.1. de verilmiştir (Laura ve Robert 1987, Rhonas ve ark. 1982, Lindsoy 1981).

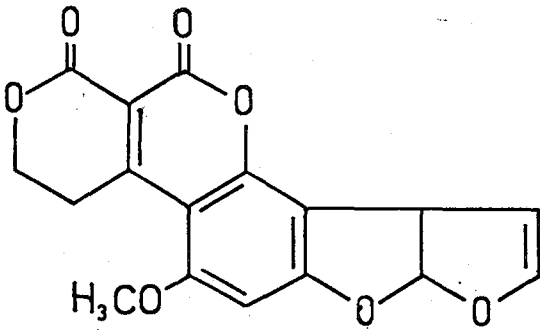
Şekil 2.1. Aflatoksinlerin açık formülleri



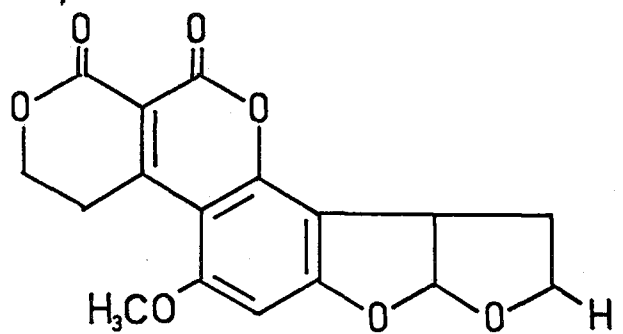
AFLATOKSİN B₁



AFLATOKSİN B₂



AFLATOKSİN G₁



AFLATOKSİN G₂

Aflatoksinlerin doğal kaynaklı önemli kanserojen maddeler oldukları yapılan araştırmalarla belirlenmiştir. Çeşitli deney hayvanlarında, aflatoksinlerin karaciğer tümörleri oluşturdukları, aflatoksin B₁ in ise en kuvvetli kanserojen etkiye sahip olduğu tesbit edilmiştir (Vural 1984).

Anonim (1985) de bildirildiğine göre, ilk önce, alınan aflatoksin seviyesine bağlı olarak ölen kişinin karaciğerinde aflatoksin B₁ bulunmuştur.

Mikotoksinlerin insan ve hayvan sağlığı açısından en tehlikelisinin aflatoksinler olduğu tesbit edilmiştir. Aynı zamanda aflatoksinlerin kanserojenik maddelerin en etkililerinden olduğu belirlenmiştir (Sert 1983 ve 1984).

Ciegler (1975) yaptığı bir çalışmada, aflatoksinin biyolojik aktivliğinin hayvanlarda hücre ve metabolizmaya olan etkilerinin olumsuz olduğunu saptamıştır.

Mikotoksinlerin, insan ve hayvanlara etkileri ve oluşturduğu hastalıklar üzerine araştırmalar 1860 yılından sonra daha detaylı bir şekilde başlamıştır. Tablo 1 de mikotoksinlerin toksikolojik etkileri verilmiştir (Anonim 1985).

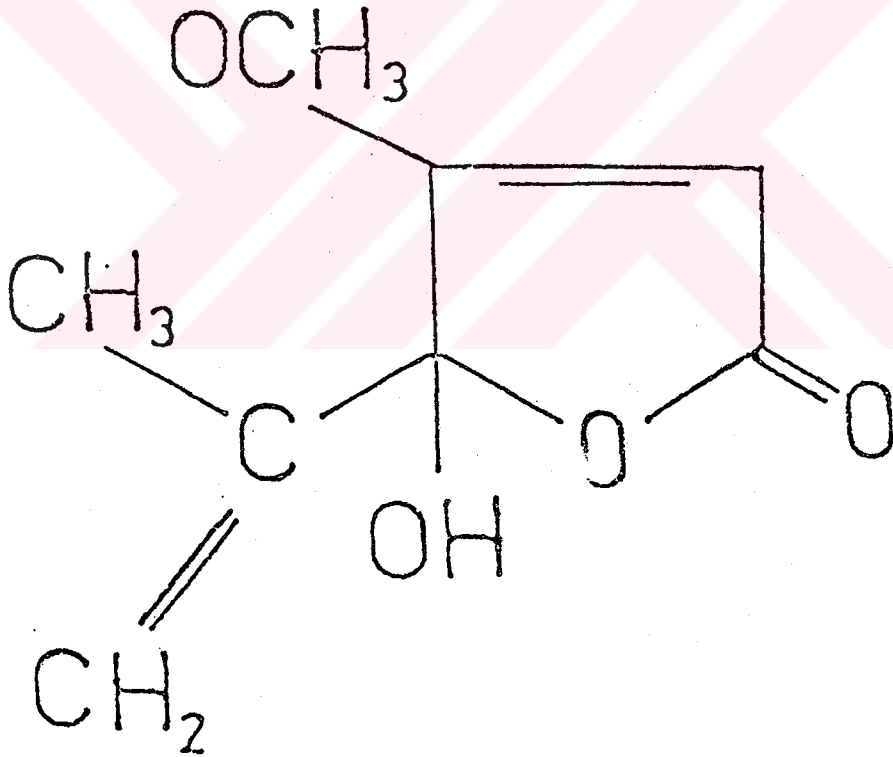
Çeşitli gıda maddeleri ile alınan mikotoksinler hayvanların karaciğer ve kas dokularında biriktiği, ayrıca süt ve yumurtaya da geçtiği Sert (1987) tarafından bildirilmektedir.

Bullerman ve ark. (1984) yaptıkları çalışmalarda

yağlı tohumların mikotoksin oluşumu için riski en fazla gıdalar olduğunu belirtmişlerdir.

Penisilinin, insanlarda doza bağlı olmaksızın, iltihaplı, interstisyen nefrit yaptığı gösterilmiştir (Vural 1984). Penisilik asitin açık formülü Şekil 2.2. de verilmiştir.

Şekil 2.2. Penisilik asitin açık formülü



Tablo 2.1. Mikotoksinlerin Toksikolojik Etkileri

Mikotoksin	Etkisi
Aflatoksinler ve sterigmatosistin	Hepatotoksik ve hepatokarsinojen
Ochratoksin-A, Citrinin	Nefrotoksin
T - 2 toksin	Dermatotoksik
Citreoviridin	Neurotoksik
Penitrem A Fumitremorgin Paksillin	Tremorgen
Ergotin	Halluzinatif
T - 2 Toksin Vomitoksin	Emetik
Austdiol	Ülseratif
Phomasorghins Nikototsimi	Hemolitik
Sporidesmin	Fotosensitiv etkili
Zearolenon	Ostrojen
Ochratoksin A Aflatoksin B ₁ Rubratoksin B	Teratojen

Penisilik asit, patulin ve sitrinin 1950 li yıllara kadar gıda sanayinde koruyucu madde ve antibiyotik olarak kullanılmışlardır (Towers 1979).

Penisilik asit, bakterilere karşı etkili olduğu için uzun süre antibiyotik olarak kullanılmıştır. Bugün çeşitli hayvanlara, mikroorganizma kültürlerine şiddetli toksik etki yaptığı tesbit edilmiştir. Bu nedenle kemoterapideki kullanımının durdurulduğu Topal (1987 c) tarafından bildirilmektedir.

Yem ile birlikte alınan aflatoksinler süt ineklerinin vücudunda biyotransformasyona uğrayarak metabolitler halinde süte geçmekte veya idrar ile atılmaktadır. Sütte bulunan bu türevler "Süt Aflatoksini" anlamına gelen aflatoksin M₁ ve M₂ olarak adlandırılmaktadır (Banoğlu 1985).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Denemede Kullanılan Peynirler

Denemede kullanılan peynir örnekleri; Konya'daki çeşitli mandıra, market, semt pazarları ve laboratuvarımıza kontrol için gelen numunelerden temin edilmiştir. Araştırmada 140 peynir örneği incelenmiştir. Bu peynirlerden izole edilen 296 izolatla çalışılmıştır.

3.1.2. Besiyerleri

Denemede kullanılan besiyerleri ve bileşimleri aşağıda verilmiştir.

a. Standard Plate Count Agar (SPCA) (Oxoid, 1982)

Tryptone	: 5.0 g.
Yeast extract	: 2.5 g.
Dextrose (glucose)	: 1.0 g.
Agar No. 1	: 9.0 g.
Distile su	: 1000.0 ml.
PH	: 7.0 +/- 0.2

Bileşimi verilen maddeler distile su içerisinde eritilerek 20 ml. vidalı tüplere dağıtıldıktan sonra 121 °C de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

b. Violet Red Bile Agar (VRBA) (Difco, 1985)

Yeast extract	: 3.0 g.
Peptone	: 7.0 g.
Bile salts No. 3	: 1.5 g.
Lactose	: 10.0 g.
Sodium chloride	: 5.0 g.
Agar	: 15.0 g.
Neutral red	: 0.03 g.
Chrystal violet	: 0.002 g.
Distile su	: 1000.0 ml.
Ph	: 7.4 +/- 0.2

Bileşimi verilen maddeler distile su içerisinde eritilerek 20 ml. vidalı kapaklı tüplere dağıtıldıktan sonra 121 °C de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

c. Malt Extract Agar (MEA) (Oxoid, 1979)

Malt extract	: 30.0 g.
Mycological peptone	: 5.0 g.
Agar No. 1	: 15.0 g.
Distile su	: 1000.0 ml.
PH	: 3.5 g.

115 °C de 10 dakika süre ile otoklavda sterilize edildikten sonra 55 °C ye kadar soğumaya bırakılmış, Ph'sı vasatın her 100 ml. için % 10 luk laktik asitten 2 ml. ilave edilerek 3.5'e ayarlanmıştır.

d. Czapek Yeasty Autolysate (CYA) (Ramirez 1982, Pitt 1979)

K ₂ HPO ₄	: 1.0 g.
Czapek concentration	: 10.0 ml.
Yeast extract	: 5.0 g.
Sucrose	: 30.0 g.
Agar	: 15.0 g.
Distile su	: 1000.0 ml.

121 °C de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

Czapek concentration	
NaNO ₃	: 30.0 g.
MgSO ₄ 7H ₂ O	: 5.0 g.
KCl	: 50.0 g.
FeSO ₄ 7H ₂ O	: 1.0 g.
Distile su	: 1000.0 ml.

Bu stok çözelti sterilize edilmeden uzun süre saklanarak kullanılmıştır.

e. Czapek - Dox Agar (CDA) (Samson ve Ark. 1981)

Sucrose	: 30.0 g.
NaNO ₃	: 3.0 g.
K ₂ HPO ₄	: 1.0 g.
KCl	: 0.5 g.
MgSO ₄ 7H ₂ O	: 0.5 g.
Agar	: 15.0 g.

Distile su : 1000.0 ml.

121 °C de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.1.2. Denemede Kullanılan Çözeltiler

a. Dilüsyon Çözeltisi (Özkalp 1987)

Pepton : 1.0 g.

Distile su : 1000.0 ml.

PH : 7.0

Dilüsyon çözeltisi 9 ar ml. vidalı kapaklı tüplere dağıtıldıktan sonra 121 °C de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

b. Tween 80 li Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

NaCl : 8.5 g.

Tween 80 : 0.5 g.

Distile su : 1000.0 ml.

Çözelti kapaklı kavanozlara 90 ml. olarak dağıtıldıktan sonra, 121 °C de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

c. Kurşun Asetat Çözeltisi

Kurşun asetat : 200.0 g.

Asetik asit : 3.0 ml.

Distile su : 1000.0 ml.

200 g. kurşun asetat, ılık suda çözüldükten sonra 3 ml. asetik asit ilave edilerek distile su ile 1000 ml. ye

tamamlanmıştır.

d. Doymuş Sodyum Sülfat Çözeltisi

Na_2SO_4 : 150.0 g.

Distile su : 1000.0 ml.

Bu çözelti, doygunluğunun artması için iki - üç gün önce hazırlanmıştır.

e. Laktofenol Çözeltisi

Karbolik asit kristalleri : 20.0 g.

Laktik asit : 20.0 ml.

Gliserin : 40.0 ml.

Distile su : 20.0 ml.

Bu çözeltide karbolik asit kristalleri yerine sıvılaştırılan karbolik asit (fenol) kullanılmıştır.

f. Fenolfitalein Çözeltisi

Fenolfitalein : 1.0 g.

Alkol (% 55 lik) : 100.0 ml.

1 g. fenolfitalein 100 ml. lik ölçülü balonda bir miktar alkol ile çözüldükten sonra çizgiye kadar alkol ile tamamlanmıştır.

g. Potasyum Kromat Çözeltisi

K_2CrO_4 : 5.0 g.

Distile su : 100.0 ml.

5 g. potasyum kromat bir miktar distile su ile 100 ml. lik ölçülü balonda çözüldükten sonra çizgiye kadar distile su ile tamamlanmıştır.

h. N/10 luk NaOH Çözeltisi

NaOH : 4.0 g.
Distile su : 996.0 ml.

i. N/10 luk AgNO₃ Çözeltisi

AgNO₃ : 16.99 g.
Distile su : 983.0 ml.

j. H₂SO₄ Çözeltisi

Özgül ağırlığı 1.5 olan derişik H₂SO₄ den 512 ml. alınarak distile su ile 1000 ml.'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Küflü Peynirlerde Toplam Mikroorganizma ve Koliform Sayımı

Araştırmada kullanılan, küflü peynirlerdeki mikroorganizma sayımları "Dilüsyon Plak" metoduna göre yapılmıştır. Küflü peynir örneklerinden birer gram alınarak peptonlu suda 10⁷ ye kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan alınan birer ml. örnek toplam bakteri sayımı için SPCA'a koliformların sayımı için de

VRBA'a 3 paralelli olarak aşılantmıştır. 37 °C de 48 saat süre ile inkübasyondan sonra sayımları yapılmıştır (Collins ve Butterworth 1976, Alkış 1982, Köşker ve Tunail 1985, Özçelik 1985 ve 1988, Gürgün ve Halkman 1988).

3.2.2. Küflü Peynirlerde Toplam Küf ve Maya Sayımı

Araştırmada kullanılan küflü peynirlerdeki toplam küf ve maya sayımı "Dilüsyon Plak" metoduna göre yapılmıştır. Sayım için 10 g. örnek 90 ml. tween 80 li fizyolojik tuzlu suda oda sıcaklığında 1 - 2 saat bekletilerek sporların germinasyonu ve aktivasyonu sağlandıktan sonra 5 - 10 dakika süre ile ratatorda çalkalanmıştır. Bu süspansiyondan 10^6 ya kadar hazırlanan dilüsyondan alınan 0.1 ve 1 ml. lik örnekler, MEA plaklarının yüzeyine 3 paralelli olarak aşılantmıştır. Küf ve mayaların sayımı 25 °C de 5 günlük inkübasyondan sonra yapılmıştır (Harrigan ve ark. 1966, Collins ve Butterworth 1976, Alkış 1982, Köşker ve Tunail 1985, Özçelik 1985 ve 1988, Gürgün ve Halkman 1988).

3.2.3. Küflerin İdentifiğasyonu

MEA'da sayımları yapılan küflerden kolonileri farklı olanların saf kültürleri elde edildikten sonra CYA, MEA ve CDA'ya 3 nokta halinde ekimleri yapılarak 25 °C de 5 - 14 gün arasında inkübe edilmişlerdir. Gelişimini tamamlayan küf kolonilerinin morfolojik özellikleri olan

koloninin şekli, büyüklüğü (çapı), yüzey görünümü, yapısı, rengi, eksuda meydana getirip getirmediği ve besiyerinde pigment oluşumu gibi özellikler çıplak gözle ve binoküler mikroskop ile incelenmiştir. Aynı zamanda laktofenol çözeltisinde hazırlanan prepatlarda, sporların büyüklük ve şekilleri, bir zar içinde veya serbest halde bulunuşları, eşeyli veya eşeysiz yolla oluşumları, spor üreten yapıların farklılıkları, hiflerin bölmeli veya bölmesiz oluşları gibi özellikler mikroskop altında incelenmiştir. Makroskopik ve mikroskopik incelemeler birleştirilerek küflerin identifikasyonu yapılmıştır (Raper ve Fennel 1965, Pitt 1979 ve 1985, Gams ve ark. 1980, Hartog 1981, Samson ve ark. 1981, Ramirez 1982).

3.2.4. Küflü Peynirlerde Mikotoksinlerin (B₁, B₂, G₁, G₂ ve Penisilik Asit) Ekstraksiyonu ve Analizleri

Ufak parçalara ayrılan peynirden 50 g. tartılarak blendere konmuştur. Blendere 80 ml. su, 300 ml. aseton ve 10 g. diatome toprağı ilave edilerek 3 dakika süre ile karıştırılmıştır. Bu karışım Whatman No: 2 V kağıdı ile ölçü kabına süzölmüştür. Süzüntünün 275 ml. si, içerisinde 20 ml. kurşun asetat bulunan behere aktarılmış, ölçü kabı 200 ml. suyla yıkanarak bu da behere ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Çökmesi için yaklaşık 5 dakika süre ile bekletilmiştir. Aynı behere 10 ml. doymuş Na₂SO₄ ile 10 g. diatome toprağı ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışım

500 ml. lik erlene filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntünün 350 ml. si 500 ml. lik ayırma hunisine transfer edilmiş, üzerine 100 ml. eter ilave edilerek bir dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Faz ayrılmasına bırakılmıştır. Faz ayrımı olduktan sonra alt faz (sulu faz) temiz 600 ml. lik erlene alınarak üst faz atılmıştır. Aynı ayırma hunisine, erlene alınan alt faz aktarılmıştır. Erlen, 50 ml. % 5 lik NaCl çözelti ile yıkanarak aynı ayırma hunisine aktarılmıştır. Ayırma hunisine 100 ml. eter ilave edilerek 1 dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Faz ayrımı için yaklaşık 2 - 3 dakika bekletildikten sonra alt faz 600 ml. lik erlene alınmıştır. Ayırma hunisine tekrar 50 ml. eter ilave edilerek yukardaki gibi ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra alt faz 600 ml. lik erlene alınmıştır. Ayırma hunisindeki üst faz atılmıştır. Toplanan eterler aynı ayırma hunisine transfer edilerek 600 ml. lik erlende 100 ml. % 5 lik NaCl çözeltisi ile yıkanarak ayırma hunisine ilave edilmiştir. Eter ekstraktları yaklaşık 1 dakika çalkalanarak yıkanmıştır. Alt faz üzerine 45 g. granüler Na₂SO₄ bulunan Whatman No: 2 V filtre kağıdından 400 ml. lik temiz bir beher içerisine süzölmüştür. Ayırma hunisi de eter ile 2 defa yıkanmıştır. Aynı şekilde süzölerek 400 ml. lik beher içinde toplanmıştır. 600 ml.lik erlen de eterle yıkanmıştır. Aynı şekilde süzölerek 400 ml. lik erlende toplanmıştır. Ekstraktlar Rotary Vakum Evaporatörde kuruluğa yakın, azot gazı altında kuruluğa

kadar kurutulmuştur (AOAC 1980).

3.2.5. İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography : TLC) Plaklarının Kaplanması

20 x 20 cm. lik cam plakların üzeri iyice yıkanıp temizlendikten sonra distile sudan geçirilerek kurutma dolabında kurutulmuştur. Plak kaplama maddesi olarak silica gel (Merck) kullanılmıştır. 30 g. silica gel temiz bir erlende tartılarak üzerine 65 ml. deiyonize su ilave edilerek karışım bulamaç haline getirilmiştir. Otomatik olarak plakları kaplayan cihazın deposuna bu karışım aktarılmıştır. Plaklar silica gel ile kaplanmıştır. Jelleşmenin meydana gelmesi için oda ısısında 15 dakika bekletildikten sonra 110 °C lik etüvde 1 saat süre ile aktive edilmiştir. Kullanılincaya kadar desikatörde saklanan plaklar, kullanımdan hemen önce 100 °C lik etüvde önlem olarak 15 dakika daha aktive edilmiştir (AOAC 1980).

3.2.6. Mikotoksinlerin (B₁, B₂, G₁, G₂, Penisilik asit) Standartlarının Hazırlanması

Standartlar, Ünitay firması (Ünitay Laboratuar Sanayi A.Ş. Sanayi Cad. 12/3 ANKARA) aracılığı ile Sigma Chemical Company'den sağlanmıştır. Kloroform standartlarda çözücü olarak kullanılmıştır. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ nin son konsantrasyonları 1 µg./ml. olacak şekilde karıştırılarak kullanılmıştır. Penisilik asit çözeltisi de

son konsantrasyonu 1 µg./ml. olacak şekilde hazırlanarak kullanılmıştır (AOAC 1980).

3.2.7. T.L.C.'de Yürütücü Fazın Hazırlanması

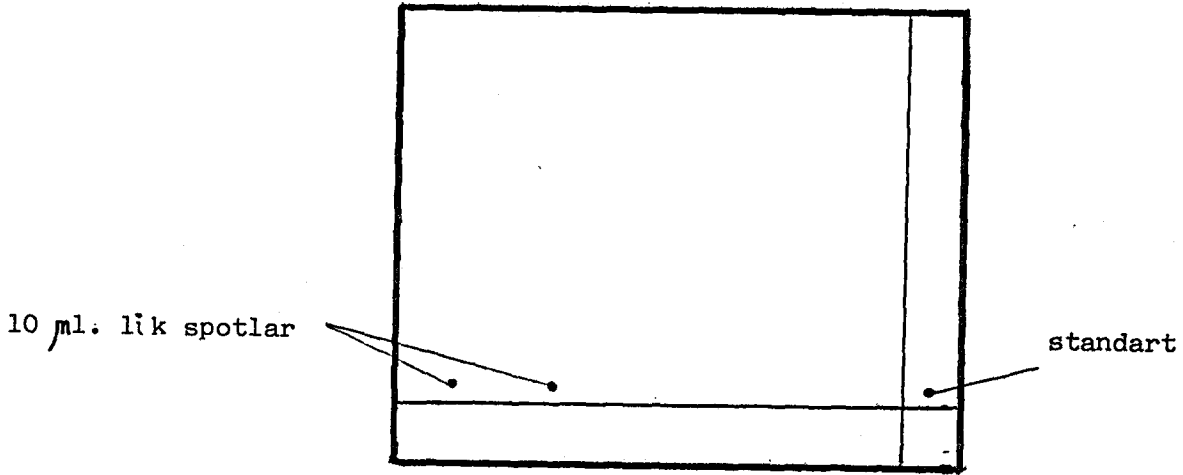
Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ nin yürütücü faz çözeltisi olarak kloroform: aseton 9:1(V/V) oranında kullanılmıştır (AOAC 1980).

Penisilik asitin yürütücü faz çözeltisi olarak kloroform: etil asetat; formik asit 6:4:1 (V/V) oranında kullanılmıştır (AOAC 1980).

3.2.8. T.L.C.'de Mikotoksinlerin (B₁, B₂, G₁, G₂ ve Penisilik asit) Saptanması

Hazırlanmış olan plaklar alttan 4 cm. olacak şekilde işaretlenmiştir. Buraya ekstraksiyon materyalinden iki tane 10 µl'lik damla (spot) damlatılmıştır. Silica gel plağın sağ tarafında 4 cm. işaretlenerek yukarıya doğru bir kanal açılmış ve buraya da alttan 4 cm. yükseklikte olacak şekilde aflatoksin standartlarından 5 µl'lik damla damlatılmıştır (Şekil 3.1.). Yukarıda belirtilen yürütücü faz çözücülerinde, karanlıkta yürütme işlemi yapıldıktan sonra oda sıcaklığında kurutulmuş ve 365 nm. dalga boyundaki Ultra Viole (UV) ışığı altında incelenmiştir. Aflatoksin B₁, B₂'nin mavi, G₁, G₂'nin ise yeşil floresan verme özelliği aranmıştır (AOAC 1980).

Şekil 3.1. Ekstraksiyon Materyalinin Spotlanması



Penisilik asitin aranmasında da yukardaki spotlama işlemi uygulanmıştır. Uygun yürütücü faz çözeltisi ile yürütüldükten sonra kurutulmuştur. Amonyak buharı ile muamele edildikten sonra, aynı UV lambası altında incelenerek mavi floresan renk verme özelliği aranmıştır (AOAC 1980).

3.2.9. Küflü Peynirlerde Yapılan Kimyasal Analizler

Küflü peynirlerde asit, tuz, rutubet ve yağ miktarları tesbit edilmiştir.

3.2.9.1. Küflü Peynirlerde Asitliğin Belirlenmesi

Ufak parçalar haline getirilen peynir örneğinden 3 g. tartılmıştır. Peynir erlenmayer içerisine alınarak üzerine 10 ml. su ilave edilmiştir. 45 - 50 °C deki su

banyosunda kısa bir süre tutulmuştur. Daha sonra erlenmayerin üzerine % 1 lik fenolfitalin çözeltisinden 2 - 3 damla damlatılmış ve N/10 luk NaOH ile kaybolmayan pembe renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Peynirdeki asit miktarı % süt asiti (laktik asit) cinsinden aşağıdaki formüle göre tesbit edilmiştir (Anonim 1983, Kurt 1972).

1 ml. N/10 luk NaOH = 0.009 g. süt asidine eşdeğerdir.

$$\text{Peynirdeki asitlik} = \frac{\text{Harcanan NaOH} \times 0.009}{\text{örnek miktarı}}$$

(% Süt Asidi cinsinden)

3.2.9.2. Küflü Peynirlerde Tuz Miktarının Belirlenmesi

Rendelenen peynir örneğinden behere 2 g. aktarılmıştır. Üzerine yaklaşık 10 ml. distile su konarak bir - iki saat benmaride bekletilmiş ve soğuduktan sonra 100 ml. lik balon jojeye aktarılmıştır. Balon joje, işaret çizgisine kadar distile su ile doldurulmuştur. İyice karıştırıldıktan sonra, süzgeç kağıdı ile erlene süzülmüştür. Bu süzüntüden 10 ml. alınarak, üzerine % 5 lik K_2CrO_4 indikatör çözeltisinden 2 - 3 damla damlatılmıştır. Kaybolmayan kiremit kırmızısı renk elde edilinceye kadar N/10 luk $AgNO_3$ çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır.

Aşağıdaki formüle göre % tuz miktarı hesaplanmıştır (Omurtag 1983, Keskin 1982).

$$\% \text{ Tuz Miktarı} = \frac{\text{Harcanan AgNO}_3 \text{ ml.} \times 0.000585 \times 100}{100 \times \text{Örnek Miktarı}}$$

3.2.9.3. Küflü Peynirlerde Rutubetin Belirlenmesi

Petri kutuları 105 °C de 15 - 20 dakika bekletildikten sonra desikatörde soğutularak tartımları yapılmıştır. Darası alınan petri kutusuna, iyice ezilen peynirden 5 - 6 g. tartılmıştır. 105 °C lik etüvde 4 saat bekletildikten sonra desikatörde soğutularak tartım yapılmıştır. Aşağıdaki formüle göre % rutuet miktarı hesaplanmıştır (Kurt 1972, Omurtag 1973, Keskin 1982).

$$\% \text{ Rutubet} = \frac{\text{Yaş ağırlık} - \text{Kuru ağırlık} \times 100}{\text{Örnek ağırlığı}}$$

3.2.9.4. Küflü Peynirlerde Yağ Miktarının Belirlenmesi

İki ucu açık özel peynir bütirometresinin alt tarafına yerleştirilmiş küçük behercik içerisine 3 g. peynir numunesi hassas olarak tartılarak konulmuştur. Bütirometrenin diğer ucundan özgül ağırlığı 1.5 olan 10 ml.

H₂SO₄ ilave edilmiştir. Arada bir çalkalamak koşulu ile 70 °C' lik benmaride peynir nümunesi pıhtılar halinde parçalanıncaya kadar tutulmuştur. Üzerine 1 ml. amil alkol eklenerek çalkalanmıştır. Bütirometrenin 35 taksimatına kadar H₂SO₄ ilave edilerek lastik tapa ile kapatılmıştır. Yaklaşık 10 dakika süre ile Gerber santraföjü ile santrifüjlenmiştir. Daha sonra doğrudan doğruya skaladan % yağ miktarı okunmuştur (Kurt 1972, Omurtag 1973, Keskin 1982).



4. ARASTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Küflü Peynirlerde Toplam Mikroorganizma ve Koliform Bakteri Sayımı

140 küflü peynir örneğindeki toplam mikroorganizma sayısı Tablo 4.1. de, toplam koliform bakteri sayısı ise Tablo 4.2. de verilmiştir.

Tablo 4.1. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Toplam Mikroorganizma Sayım Sonuçları

1 g. Peynirdeki Toplam Mikroorganizma Sayısı	Örnek Sayısı	% Oranı
100	0	0
100 - 1.000	5	3.5
1.000 - 10.000	10	7.1
10.000 - 100.000	22	15.7
100.000 - 1.000.000	45	32.1
> 1.000.000	58	41.4
Toplam	140	

Yapılan çalışmada 58 peynir örneğinin 1 gramında 10^6 dan fazla bakteri sayılmıştır. Bu toplam örneklerin %

41.4 lük kısmını teşkil etmektedir. Nizamlioğlu ve ark. (1989) Konya yöresindeki salamura beyaz peynirlerde yapmış oldukları araştırmada toplam mikroorganizma sayısını ortalama 2.9×10^8 , benzer bir araştırmada Yalçın (1987) da bu sayıyı 2.7×10^8 olarak tesbit etmişlerdir. Bu oranların bizim bulduğumuz değerlerden yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeni bu araştırmacıların salamura beyaz peynirler ile çalışmalarından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca mikroorganizmalar arasındaki rekabet nedeniyle, küflü peynirlerde ortama küflerin floraya hakim olması ile bakteri popülasyonunda bir azalma söz konusu olabilir (Erganiş 1992).

Gündüz (1982), Tomas peynirleri üzerinde yaptığı çalışmalarda toplam mikroorganizma sayısını 237×10^6 olarak saptamıştır. Bu sayı bulduğumuz değerler ile benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.2. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Toplam Koliform Bakteri Sayım Sonuçları

1 g. Peynirdeki Toplam Koliform Sayısı	Örnek Sayısı	% Oranı
100	25	17.86
100 - 1.000	4	2.86
1.000 - 10.000	15	10.71
10.000 - 100.000	20	14.29
100.000 - 1.000.000	46	32.86
> 1.000.000	30	21.43
Toplam	140	

Yapılan çalışmada 46 küflü peynir örneğinin 1 gramında 10^6 ' ya kadar (% 32.86) koliform grubu bakteri sayılmıştır. Nizamoğlu ve ark. (1989) Konya ve yöresindeki salamura beyaz peynirlerde yapmış oldukları araştırmada toplam koliform bakteri sayısını ortalama 4.7×10^7 olarak bulmuşlardır. Bu sayı, belirlediğimiz sayıdan yüksektir. Yalçın (1987), Özalp ve ark. (1978) yapmış oldukları çalışmalarda tespit ettikleri sayılar ile belirlediğimiz sayılar arasında yakınlık görülmektedir.

4.2. Küflü Peynirlerde Toplam Küf ve Maya Sayımı

Yapılan çalışmada, incelenen küflü peynir örneklerinin tümünde küf gelişimi görülmüştür. Küflü peynir örneklerinin 1 gramında ortalama $10^2 - 10^5$ küf ve maya kolonisi sayılmıştır. Gündüz (1982), Tomas peynirlerinde yaptığı çalışmada toplam küf miktarını 208×10^5 olarak saptamıştır. Bu sayı, çalışmamız sonucunda belirlenen küf sayısı ile benzerlik göstermektedir.

4.3. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Küf Türleri

Toplam 140 küflü peynir örneğinden izole edilerek identifiye edilen küflerin cins ve türleri Tablo 4.3. de verilmiştir.

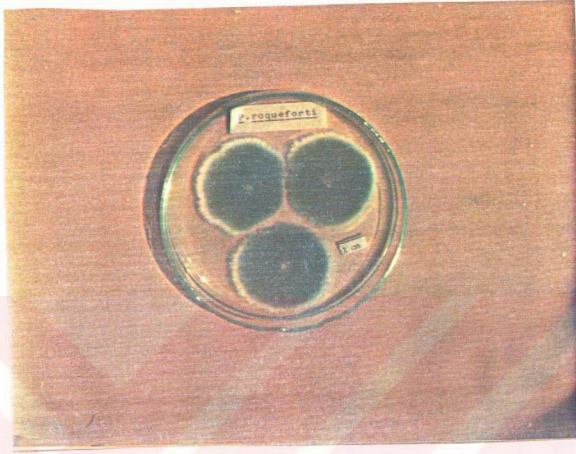
Tablo 4.3. Küflü Peynirlerden İzole ve İdentifiye Edilen Küflerin Cins ve Türleri

Küf Cins ve Türleri	İzolat Sayısı	% Oranı
<u>Penicillium roqueforti</u>	127	42.91
<u>P. verrucosum</u> var. <u>cyclopium</u>	66	22.30
<u>P. camemberti</u>	15	5.08
<u>P. brevicompactum</u>	14	4.73
<u>P. chrysogenum</u>	14	4.73
<u>P. frequentans</u>	12	4.05
<u>P. echinulatum</u>	10	3.38
<u>Aspergillus flavus</u>	25	8.45
<u>A. versicolor</u>	13	4.39
Toplam İzolat Sayısı	296	

Tablo 4.3. de görüldüğü gibi küflü peynirlerden Aspergillus ve Penicillium cinslerine ait türler izole edilmiştir. Küflü peynirler üzerine yapılmış olan çalışmada Penicillium cinsi % 87.16, Aspergillus'lar ise % 12.84 oranında izole edilmiştir. İncelenen küflü peynir örneklerinde Penicillium dominant cins olarak tesbit edilmiştir. Bullerman ve Olivigni (1974), Cheddar peynirlerinde yaptıkları çalışmalarda Penicillium'un dominant cins olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmada Penicillium cinsi içinde P. roqueforti türü (% 42.91)

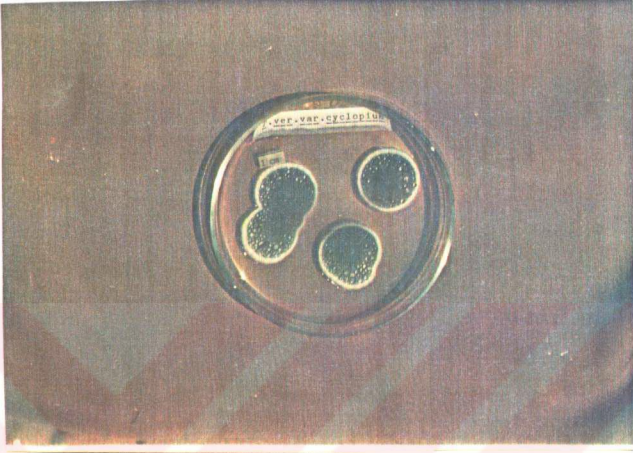
dominant tür olarak tesbit edilmiştir (Şekil 4.1.).

Şekil 4.1. Penicillium roqueforti'nin Makroskobik Görünümü



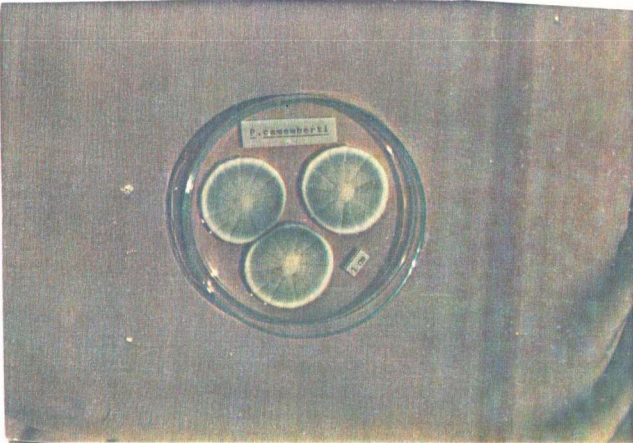
P. ver. var. cyclopium % 22.30' luk oran ile ikinci tür olarak tesbit edilmiştir (Şekil 4.2.).

Sekil 4.2. P. ver. var. cyclopium'un Makroskopik Görünümü



P. camemberti % 5'lik oran ile üçüncü tür olarak tesbit edilmiştir (Şekil 4.3.).

Sekil 4.3. P. camemberti'nin Makroskopik Görünümü

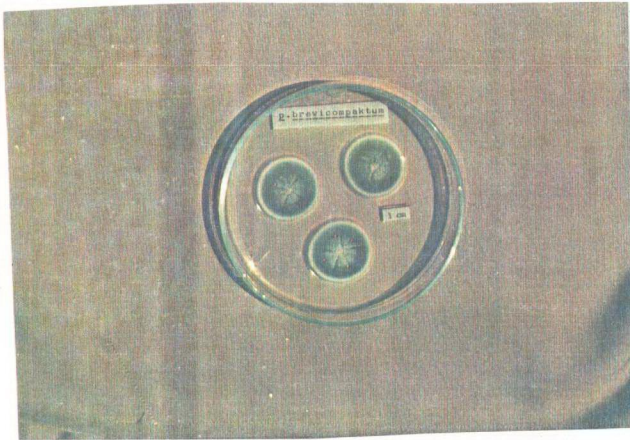


P. chrysogenum ve P. brevicompactum % 4.73 lük oranları ile dördüncü tür olarak tesbit edilmiştir (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).

Şekil 4.4. P. chrysogenum'un Makroskobik Görünümü

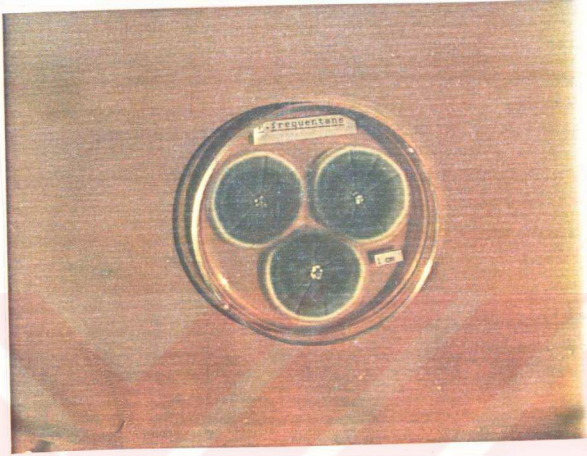


Şekil 4.5. P. brevicompactum'un Makroskobik Görünümü



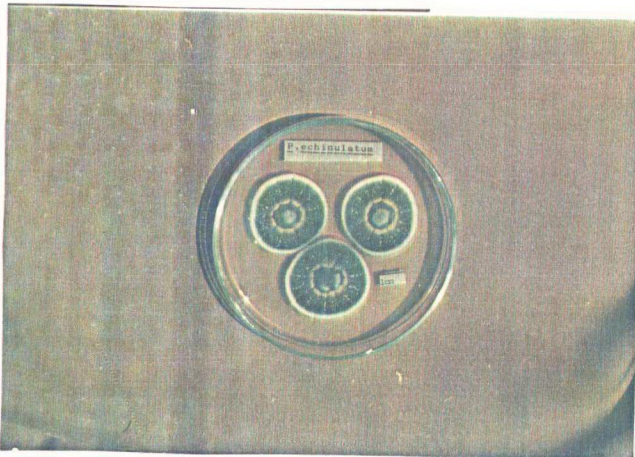
P. frequentans % 4.05 lik oran ile beşinci tür olarak tesbit edilmiştir (Şekil 4.6.).

Şekil 4.6. P. frequentans'ın Makroskobik Görünümü



Altıncı tür olarak da % 3.38' lik oranı ile P. echinulatum tesbit edilmiştir (Şekil 4.7.).

Şekil 4.7. P. echinulatum'un Makroskobik Görünümü



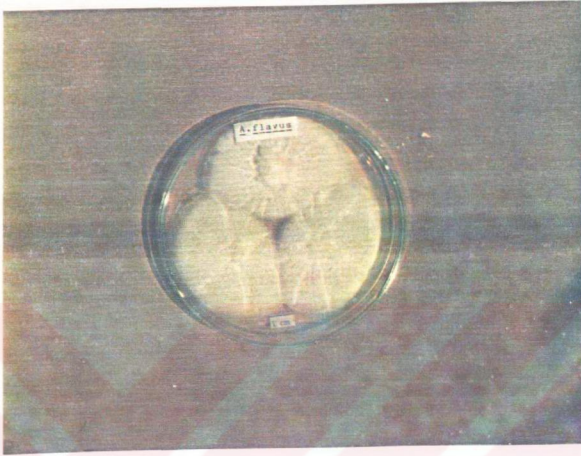
Küflü peynirlerden izole edilen tüm küflerin yarıya yakın kısmını oluşturan P. roqueforti dominant tür olarak tesbit edilmiştir. Aran ve ark. (1986), yarı sert karakterdeki Türk peynirlerindeki küf flora çalışmalarında P. roqueforti'yi dominant tür olarak saptamışlardır. Demirer (1974) de, değişik türden peynirler üzerinde yaptığı çalışmalarda P. roqueforti'yi dominant tür olarak tesbit etmiştir. Gündüz (1982) de, Tomas peynirlerinde P. roqueforti'yi dominant tür olarak bulmuştur.

Küflü peynirler üzerinde yapılan bu çalışmada ikinci derecede dominant tür olarak % 22.30 luk oranı ile P. verrucosum var. cyclopium tesbit edilmiştir.

Aran ve ark. (1986), yarı sert karakterdeki Türk peynirlerindeki küf florası çalışmalarında P. verrucosum var. cyclopium'u P. roqueforti'den sonra dominant tür olarak tesbit etmişlerdir. Kaşar peynirlerinde küf flora çalışmaları yapan Topal (1987 b) % 22.1'lik oranı ile P. ver. var. cyclopium'u dominant tür olarak belirlemiştir. Benzer bir çalışma yapan Aran ve Eke (1986), kaşar peynirlerindeki küf florasında P. ver. var. cyclopium'u dominant tür olarak tesbit etmişlerdir.

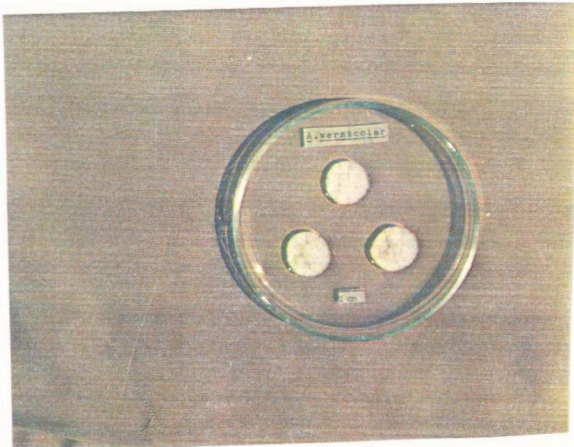
Konya ve çevresinde üretilen küflü peynirler üzerinde yapılan bu çalışmada Aspergillus cinsine dahil türlerden A. flavus % 8.45 ve A. versicolor % 4.39 oranında belirlenmişlerdir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9.).

Sekil 4.8. A. flavus'un Makroskobik Görünümü



Aran ve ark.(1986) ve Topal (1987 b) yapmış oldukları benzer çalışmalarda A. flavus ve A. versicolor'u peynir örneklerinden izole etmişlerdir.

Sekil 4.9. A. versicolor'un Makroskobik Görünümü



Konya ve çevresinde üretilen küflü peynirler üzerinde yaptığımız araştırma sonucunda izole ve identifiye edilen küflerin cins ve tür sayıları ile yüzde oranları, bu konuda benzer çalışmalar yapan Aran ve ark. (1986), Gündüz (1982) ve Demirer (1974) gibi araştırmacıların tesbit ettiği sonuçlara yakınlık gösterdiği görülmektedir.

Peynirler küf gelişimi için uygun ortam sağlamalarına rağmen mikotoksin gelişimi için fakir ortamlardır (Topal 1986 a). Çalışmada küflü peynirlerden % 87.16 oranında izole edilen Penicillium'lar ile % 12.84 oranında izole edilen Aspergillus'lar uygun ortamlarda mikotoksin üretme özelliğine sahip oldukları bildirilmektedir. Bu çalışmada, küflü peynirlerden izole edilen küflerin uygun ortamlarda üretebilecekleri mikotoksin çeşitleri Tablo 4.4. te verilmiştir (Aran ve ark. 1986).

Tablo 4.4. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Küflerin Uygun Ortamlarda Üretebildikleri Mikotoksinler

Küf Türü	Mikotoksin Türü
<u>P. roqueforti</u>	Citrinin, Mycophenolic acid, Patulin, Penicillic acid, PR Toksin, Roquefortine, Isofumigaclavine, Siderophore, Ferrichrome
<u>P. ver.</u> var. <u>cyclopium</u>	Patulin, Ochratoxin, Penicillic acid, Cyclopiazonic acid, Penitrem B, Tremorgens
<u>P. camemberti</u>	Cyclopiazonic acid
<u>P. brevicompactum</u>	Mycophenolic acid
<u>A. flavus</u>	Aflatoxin, Versicolorin, Tremorgens, Sterigmatocystin
<u>A. versicolor</u>	Cyclopiazonic acid, Sterigmatocystin

4.4. Küflü Peynirlerde Mikotoksin Analiz Sonuçları

Yapılan bu çalışmada 140 küflü peynir örneği mikotoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) yönünden araştırılmıştır. 140 küflü peynir örneğinin hiç birinde bu toksinler tesbit edilememiştir. Demirer (1974), peynirlerde yaptığı aflatoksin araştırmasında, Çoksöyler ve Köşker (1980) de süt ve süt mamüllerinde yaptıkları aflatoksin araştırmalarında, bu toksinleri tesbit edememişlerdir.

Alperden (1977), yapmış olduğu bir çalışmada kaşar peynirinde Sterigmatocystin, Ochratoxin, Tremortin; dil peynirinde ise Tremortin gibi bazı toksinleri tesbit etmiştir.

4.5. Küflü Peynirlerde Kimyasal Analiz Sonuçları

Araştırmamızda 140 küflü peynir örneğinin rutubet, tuz, asitlik ve yağ miktarları kuru madde üzerinden hesap edilerek % ortalamaları Tablo 4.5. te verilmiştir.

Tablo 4.5. Küflü Peynirlerde Kimyasal Analiz Sonuçları

Özellik	Ortalama (%)
Rutubet	43.58
Tuz	7.76
Asitlik	0.96
Yağ	5.72

Tablo 4.5. te verilmiş olan ortalama değerleri Gıda Maddeleri Tüzüğü (G.M.T.) ile karşılaştırılacak olursa; asitliğin % 3 değerini geğmediği için tüzüğe uygun olduğu söylenebilir. Bulunan ortalama tuz miktarı (% 7.76) tüzüğün belirttiği en çok % 8.5 değerine yakındır. Rutubet oranı da tüzüğün belirlediği % 45 sınırına yakındır. Araştırılan 140 küflü peynir örneğinin kuru maddedeki yağ miktarı ortalaması % 5.72 olarak saptanmıştır. Bu yağ miktarına göre araştırılan küflü peynirler tüzüğün belirttiği yağsız peynirler sınıfında yer aldığı görülmüştür (Ercoskun 1984).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırma sonuçlarına göre; Penicillium cinsine ait türler (% 87.16) oranında, Aspergillus cinsine ait türler (% 12.84) oranında saptanmıştır. Küflü peynir örneklerinde mikotoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) saptanamamıştır.

Peynirler küf gelişimi için uygun koşulları taşımaktadırlar. Araştırma sonuçlarına göre mikotoksin saptanmamasına rağmen peynir örneklerinde uygun koşullarda mikotoksin üretebilecek küf türleri izole edilmiştir.

Peynirlerin küflendirilmesi işlemi, sağlığa aykırı yerlerde ve koşullarda yapılmaktadır. Bu şekilde hazırlanan küflü peynirler insan sağlığı açısından potansiyel bir tehlike kaynağını teşkil ederler. Yapılan araştırma sonucunda, peynir örneklerinde belirlenen ortalama yağ miktarı çok düşük çıkmıştır. Küflü peynir üretiminde yağlı tulum peyniri kullanıldığında, mikotoksinlerin oluşma riskinin artacağı düşünülmektedir.

Halk arasında ilkel yöntemlerle küflendirilen peynirlerin penisilik asit içerdiği, ve bu nedenle antibiyotik özelliği gösterdiği inancı yaygındır. Araştırmada penisilik aside rastlanılmadığı için, bu inancın da yanlış olduğu belirlenmiştir.

Küflü peynirler bakkal, market, mandıra ve semt pazarlarında küflendirilmeden tüketilen peynirlerle ve diğer gıda maddeleri ile birlikte yanyana çuval ve benzeri

ambalajlar içinde satışı sunulmaktadır. Satıcıların da dikkatsizliği yüzünden küflü peynirlerdeki küfler, diğer gıda maddelerine de bulaşarak kontaminasyon kaynağı olmaktadır.

Küflü peynirler genellikle sonbaharın sonundan ilkbaharın başına kadar üretilip tüketilmektedir. Küflendirildikten sonra kısa zamanda tüketilmeyen peynir bozulmaktadır. Bundan dolayı ekonomik bir kayıp söz konusudur. Tüketicilere küflü peynir konusunda pratik bilgiler verilerek sağlığa aykırı yerlerde ve koşullarda yapılan bu peynirin yenmesinin sakıncalı olabileceği fikri verilmelidir. Ancak bilimsel yöntemlerle laboratuvar koşullarında mikotoksin üretmeyen küf suşları saptanarak bu suşlarla küflendirilen peynirlerin yenmesi önerilebilir.

Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün 61. maddesinde belirtilen "Yöreğe göre peynirlere zararsız küf katılabilir." ifadesi değiştirilmeli ve mikotoksin üretmeyen belli küf suşlarının kullanılmasına izin verilmelidir.

6. ÖZET

Bu çalışmada, Konya ve çevresinde üretilen küflü peynirlerde küf florası ve mikotoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂ ve penisilik asit) araştırılmıştır.

Denemede kullanılan küflü peynir örnekleri Konya'daki çeşitli satış yerlerinden temin edilmiştir. Toplam mikroorganizma, koliform, küf ve maya sayımları "Dilüsyon Plak" metoduna göre yapılmıştır. Küflerin identifikasyonu için Raper ve Fennel (1965), Pitt (1979, 1985), Gams ve ark. (1980), Samson ve ark. (1981), Ramirez (1982) gibi araştırmacıların teşhis anahtarları kullanılmıştır. Küflü peynir örneklerinde mikotoksin ekstraksiyonu ve analizi için AOAC (1980)'deki metodlar kullanılmıştır. Küflü peynirlerdeki kimyasal analizler Kurt (1972) ve Keskin (1982)'in belirttiği klasik metodlara göre yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre; küflü peynir örneklerinin % 41.4 ünde 10⁶ dan fazla toplam mikroorganizma sayılmıştır. Toplam koliform bakteri sayısı ise örneklerin % 21.43 ünde 10⁶ dan fazla bulunmuştur. Küflü peynirlerin 1 gramında ortalama 10² - 10⁵ küf ve maya kolonisi sayılmıştır. Küflü peynir örneklerinden izole edilen küf cins, tür ve oranları da; P. roqueforti (% 42.91), P. ver. var. cyclopium (% 22.30), P. camemberti (% 5.08), P. brevicompactum (% 4.73), P. chrysogenum (% 4.73), P. frequentans (% 4.05), P. echinulatum (% 3.38), A.

flavus (% 8.45), A. versicolor (% 4.39) olarak tesbit edilmiştir. Küflü peynirlerin hiçbirinde mikotoksine rastlanmamıştır. Küflü peynir örneklerinin yapılan kimyasal analizlerinde ortalama olarak; Rutubet miktarı (% 43.58), Tuz miktarı (% 7.76), Yağ miktarı (% 5.72), Asitlik (% 0.96 olarak tesbit edilmiştir.



7. LİTERATÜR

- ALKIŞ, N., 1982. Gıda Mikrobiyolojisi, s: 12, Yeni İnci Matbaacılık Sanayi, Ankara.
- ALPERDEN, İ., 1977. Hayvansal Gıda Maddeleri İle Mamullerinde Mikotoksin Araştırmaları ve Kalite Kontrol Esaslarının Tesbiti, T.B.T.A.K. Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü II. Geliştirme Raporu, Proje No: 2817, Yayın No: 22.
- ALTAN, N.H., 1963. Besinlerle İntikal Eden Hastalıklar, Ege Üniv. Tıp Fak. Mecmuası, 2: 128 - 138.
- ANONİM, WHO, 1962. Milk Hygiene, Hygiene in Milk Production, No: 48.
- ANONİM, WHO, 1969. Technical Report Series, No: 453, FAO Agriculturel Studies, No: 83, Expert Committee on Milk Hygiene, 3 th Genova, 22 - 48.
- ANONİM, 1981 a. Atatürk'ün Doğumunun 100. Yıl Dönümünde Rakkam ve Fotoğraflarla Türkiye, D.P.T. Yayınları, No: 1788.
- ANONİM, 1981 b. T.C. Milli Güvenlik Konseyi Sekreterliği, İhtisas Dairesi Başkanlığı Tarım Komisyonu Raporu, Ankara.
- ANONİM, 1983. Beyaz Peynir Standardı, Türk Standartlar Enstitüsü, T.S. 591.
- ANONİM, 1985. Gıdalarda Küfler ve Mikotoksinler Araştırma Projesi Çalışmaları III, Tübitak Mar. Bil. ve End. Araş. Enst. Bes. ve Gıda Tek. Böl. Gebze.

- AOAC, 1980. Natural Poisons, Chapter 26, 4145 - 432.
- ARAN, N., D. EKE, 1986. Türk Peynirlerinde Mikoflora, 3. Diyabet Yıllığı, s: 268 - 273, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Prof. Dr. Nazım Terzioğlu Basım Atölyesi.
- ARAN, N., D. EKE, İ. ALPERDEN, 1986. Yarı Sert Karakterdeki Türk Peynirlerinde Küf Florası, Ege Üniv. Müh. Fak. Dergisi Seri B Gıda Müh. 4(2).
- BANOĞLU, N., 1985. Karma Yemlerde Mikotoksin Varlığı ve Bulaşma Kaynaklarının Tesbiti, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- BULLERMAN, L.B., F.J. OLIVIGNI, 1974. Mycotoxin Producing of Molds Isolated from Cheddar Cheese, J. of Food Science, 39(174), 1166 - 1168.
- BULLERMAN, L.B., L.L. SCHROEDER., K.Y. PARK, 1984. Formation and Control of Mycotoxins in Food, Journal of Food Production, 47(8), 637 - 646.
- CIEGLER, A., 1975. Mycotoxins Occurrence, Chemistry, Biological Activity, Lloydia 38, 21 - 35.
- COLLINS, C.H., L. BUTTERWARTH, 1976. Microbiological Methods, 4. Ed. London,
- ÇOKSÖYLER, N., Ö. KÖŞKER, 1980. Süt ve Mamullerinde Aflatoksin Oluşumu Üzerinde Araştırmalar, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Diploma Sonrası Yük. Okul Tez Özetleri, 436 - 456.
- DEMİRER, M.A., 1974. Bazı Peynirlerimizden İzole Ettiğimiz

Üniv. Ziraat Fak. Diploma Sonrası Yük. Okul Tez
Özetleri, 436 - 456.

DEMİRER, M.A., 1974. Bazı Peynirlerimizden İzole Ettiğimiz
Küfler ve Bunların Aflatoksin Yeteneklerinin
Araştırılması, Ank. Üniv. Vet. Fak. Dergisi XXI,
(1 - 2), 180 - 189.

DIFCO, 1985. Dehydrated Culture Media And Reagents for
Microbiology, s: 1052, Difco Lab. Incorporated
Ditroit Michigan, 48232 U.S.A.

ERALP, M., 1974. Peynir Teknolojisi, Ank. Üniv. Ziraat Fak.
Yay. No: 533, Ank. Üniv. Basımevi.

ERCOSKUN, A., 1984. Gıda Maddeleri Tüzüğü, 18 - 22, Gaye
Matbaacılık Sanayi ve Ticaret A.Ş.

ERGANİŞ, O., 1992. Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Konya
Sağlık Eğitim Enstitüsü Yayınları, No: 2, s: 40,
Konya.

FABIAN, F.W., 1946. Cheese as the Cause of Epidemics, J. of
Milk Technology, Vol: 9, No: P 129 - 143.

FRAIZER, W.C., D.C. WESTHOFF, 1978. Food Microbiology, Mc
Graw - Hill Book Company.

GAMS, W., A. VANDER PLAATS, A.J. NITERINK, R.A. SAMSON,
J.A. ASTALPERS, 1980. CBS Course of Micology, 2
nd Centrool Bureau Voor Schimmekultures Baarn,
The Netherland, 2 - 18.

GILMAN, H.L., L.C. MARQUART, 1951. The Occurence and
Survival of Brucella Abortus in Italian Cheese

- Curd Made from Raw Pasteurized Milk, J. Milk and Food Tech. Tol. 14, No: 1.
- GÜNDÜZ, H., 1982. Tomas Peyniri Doğal Mikroflorası, Gıda Dergisi, 7(5), 225 - 230.
- GÜRGÜN, V., A.K. HALKMAN, 1988. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Tek. Derneği Yay. No: 7, s: 17 - 40, San Matbaası.
- HARRIGAN, W.F., M.C. CANRE, E. MARGARET, 1966. Laboratory Methods in Microbiology, Academic Press, London And New York.
- HOBBS, B.C., J.R. GILBERT, 1978. Food Poisoning 8. Food Hygien 4. Edition, Great Britain.
- HARTOG, B.J., 1981. The Detection and Quantifications Fungi in Food, s: 206 - 211, In R.A. SAMSON, E.S. HOEKSTRA and C.A.N. VAN OORSCHOT (ed.ler) Centraalbreav Voor Schimmelcultures Baarn.
- INGOLD, C.I., 1984. The Biology of Fungi Hutchinson, Biologycal Monographs.
- JARVIS, B., D.A.L. SCILER, A.J.L. OULD and A.P. WILLIAMS, 1983. Observations on the Enumeration of Molds in Food and Feeding Stuffs, Appl, Environ. Microbiol. 55: 325 - 336.
- KAPTAN, N., 1986. Süt Teknolojisi, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 969, s: 86.
- KARASOY, M., 1955. Yurdumuz Peynirlerini Olgunlaştıran Mikroplar ve Enzimleri, Ank. Üniv. Ziraat Fak.

Yay. No: 67, Yeni Desen Matbaası.

KESKİN, H., 1982. Besin Kimyası II, s: 88, Fatih Yayınevi ve Matbaası.

KÖŞKER, Ö., N. TUNAİL, 1985. Süt ve Mamulleri Mikrobiyolojisi ve Hijyeni, Uygulama Kılavuzu, s: 112 - 115, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 958, Uygulama Kılavuzu, No: 217.

KURT, A., 1972. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi, s: 113, Atatürk Üniv. Yay. No: 252/d, Ziraat Fak. No: 18.

LAURA, L.Z., L.B. ROBERT, 1987. Review of Compounds Affecting the Biosynthesis or Bioregulation of Aflatoxins, Journal of Food Protection, Vol 50, No: 8, s: 691 - 708.

LINDSOY, D.G., 1981. Residues in Animal Products, s: 153 - 165, HARESIGN, N. (ed.), Recent Advances in Animal Nutrition, The Camelot Press, Southampton.

NIZAMOĞLU, M., S. YALÇIN, D.C. TEKİNŞEN, 1989. Konya ve Yöresindeki Salamura Beyaz Peynirin Kalitesi, Doğa T.U. Vet. ve Hay., D. 13(2), s: 137 - 142.

OMURTAG, C.A., 1966. Süt ve Mamulleri İle İnsanlara Geçen Hastalıklar, Sağlık Dergisi 40, s: 25 - 45.

OMURTAG, C.A., 1973. Süt ve Mamulleri İle Margarın ve Sıvı Yağların Analiz Metodları, s: 136, Ank. Üniv. Ecz. Fak. Matbaası.

- OMURTAG, C.A., 1976. Besin Analizleri Cilt III, Ank. Üniv. Ecz. Fak. Ders Kitabı Yay. No: 42.
- OXOID, 1979. Gıda - Su, Süt ve Mamulleri Alkollü ve Alkolsüz İçkilerin Mikrobiyolojik Muayeneleri için "Oxoid Kültür Vasatları El Kitabı", s: 54, Ayyıldız Matbaası A.Ş.
- OXOID, 1982. The Oxoid Manuel of Culture Media, Ingrediens and Other Laboratory Services, 9017 Red Branch Road Colombia, Maryland 21045, U.S.A.
- ÖZALP, E., Ş. KAYMAZ, E. AKŞEHİRLİ, 1978. Erzincan Tulum Peynirlerinde Enterotoksijenik Stafilokoklar ve Salmonellalar Yönünden Araştırma, Vet. Fak. Dergisi, V V X (I).
- ÖZÇELİK, S., 1985. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu, s: 47 - 50, Sel. Üniv. Ziraat fak. Ders Teksiri.
- ÖZÇELİK, S., 1988. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuar Kılavuzu, s: 20 - 26, F. Üniv. Müh. Fak. Kim. Müh. Böl.
- ÖZGÜMÜŞ, N., 1962. İnsan Sağlığına Zararlı mikropların Süt ve Ürünlerine Giriş Yolları, Ege Üniv. Tıp Fak. Mecmuası 1, s: 304 - 308.
- ÖZKALP, B., 1987. Türkiye'de Üretilen Bazı Deterjanların Biyolojik Yolla Parçalanabilme Durumlarının Araştırılması, S. Üniv. Fen. Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi.
- PITT, J.I., 1979. The Genus Penicillium and Its

- Teleomorphic States, Academic Press, London, s: 634.
- PITT, J.I., 1985. A Laboratory Guide to Common Penicillium Species, Common Research Organization, Div. of Food Res. Sydney, s: 182.
- RAMIREZ, C., 1982. Manual and Atlas of Penicillia, s: 847-874, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- RAPEL, K.B., D.I. FENNEL, 1965. The Genus Aspergillus, Williams Wilkins Company, s: 686, New York.
- RHONAS, A., R. BRACKETT, D. WISEMAN and E. MARTH, 1982. Aflatoxin: Toxicity to Daing Cattle and Occurence in Milk and Milk Products a Review, J. of Food Protection, Vol. 45, No: 8, s: 752 - 777.
- SAMSON, R.A., E.S. HOEKSTRA and C.A.N. VAN OORSCHT, 1981. Introduction to Food Borne Fungi, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 1 - 248.
- SERT, S., 1983. Gıda ve Yem maddelerinde Aflatoxinler, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der. 14 (3 - 4), s: 181 - 187.
- SERT, S., 1984. Bazı Karma Yem ve Karma Yem Hammaddelerinin aflatoksin Yönünden Araştırılması, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der. 15 (3 - 4), s: 55 - 63.
- SERT, S., 1985. Mikotoksin Üretimine Tesir Eden faktörler, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der. 16 (1 - 4), s: 147 - 159.

- SERT, S., 1987. Bazı Karma Yem ve Karma Yem Hammaddelerinde Bulunan Küflerin Ayırımı ve Tanımlanması Üzerine Bir Araştırma, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der. 18 (1 - 4), s: 57 - 67.
- TOPAL, S., 1984. Gıda Maddelerinden Ayrılan ve Tanınan Küfler Üzerinde Araştırmalar, Gıda Der. 9 (5), s: 253 - 261.
- TOPAL, S., 1986 a. Penicillium, Aspergillus, Fusarium Toksinleri, Diyabet Yıllığı 3, s: 301 - 311, İst. Üniv. Fen. Fak. Döner Ser. İst. Prof. Dr. Nazım Terzioğlu Basım Atölyesi.
- TOPAL, S., 1986 b. Gıdalarda Bulunan önemli Toksik Küfler ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi, Gıda Der. 11 (6), s: 354 - 349.
- TOPAL, S., 1987 a. Kontrollü Nem Koşullarında Depolamanın Kaşar Peynirinde Yüzey Küflenmeye ve Kalite Özelliklerine Etkisi, Gıda Sanayi Der. 4, s: 11 - 20.
- TOPAL, S., 1987 b. Kaşar Peyniri Olgunlaşma Evresinde Gelişen Yüzey Küfleri ve Mikotoksin Riskleri, Gıda Der. 12 (3), s: 1,- 9.
- TOPAL, S., 1987 c. Bazı Önemli Mikotoksinler ve Özellikleri, Gıda Der. 12 (5), s: 283 - 291.
- TOPAL, S., 1988. Kaşar Peynirinde Yüzey Küflenmenin Getirdiği Sorunlar ve Önlenmesi, Animalia 11, s: 36 - 40.

- TOPAL, S., 1989. Kaşar Peynirlerinde Küflenmenin Önlenmesi İçin Pratik Bilgiler, TÜBİTAK, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü Bilgi Profili: 1.
- TOPAL, S., N. ARAN, 1987. Bazı Yağlı Tohumlarda Küf Florası ve Taşıdığı Riskler, Ege Üniv. Müh. Fak. Seri B Gıda Müh. 5 (2), s: 47 - 61.
- TOWERS, R.N., 1979. Mycotoxins in Nutrition Proc. Nutr. Soc. Aust. 4, s: 72 - 79.
- ÜLGÜRAY, D., 1986. Türkiye'de Süt Sanayinin Geliştirilmesi İle İlgili Politikalar, Başbakanlık D.P.T. İktisadi Plan. Bşk. Yay. ve Temsil Dairesi Matbaası, 1 - 4.
- VURAL, N., 1984. Toksikoloji, Ank. Üniv. Ecz. Fak. Yay. No: 56.
- WILLIAM, J., J.R. HAUSLER, 1972. Standart Methods for the Examination of Dairy Products, Thirteenth Edition.
- YALÇIN, S., 1987. Ankara ve Yöresinde Tüketime Sunulan Salamura Beyaz Peynirlerin Mikrobiyal ve Kimyasal İçerikleri İle Duyusal Nitelikleri Arasındaki İlişki, Doğa. Tu. Vet. ve Hay. Der. 11 (2), s: 189 - 198.