

Farklı Depolama Şartlarının *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 Küf Suşu ile Aşıl原因an Tulum Peynirinde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi

Mustafa GÜRSES

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum - TÜRKİYE

Ahmet ERDOĞAN

Atatürk Üniversitesi, Hınıs Meslek Yüksek Okulu, Erzurum - TÜRKİYE

Selahattin SERT

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.08.2002

Özet: Bu çalışmada, taze üretilmiş tulum peyniri iki eşit parçaya bölünmüş ve parçalardan birisi aflatoksin ürettiği bilinen bir *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 küf suşuyla 10^4 spor/g düzeyinde aşıl原因arak, diğeri ise kontrol örneği olarak 10 ± 1 ve 20 ± 1 °C'de % 85 ± 2 ve 95 ± 2 oransal nemde (ON) 90 gün süreyle olgunlaştırılmıştır. Tulum peynirlerinin ambalaj materyali olarak cam kavanozlar kullanılmıştır. Peynir örneklerinde olgunlaştırma süresince 1. günden başlamak üzere 15., 30., 45., 60. ve 90. günlerde ince tabaka kromatografisi (ITK) yöntemi kullanılarak aflatoksin analizi yapılmıştır.

Olgunlaştırma süresince 10 ± 1 °C'de depolanan aşılı ve kontrol grubu örneklerin hiç birisinde tespit edilebilir seviyede aflatoksin rastlanmamıştır. Kontrol grubu örneklerde 20 ± 1 °C'de aflatoksine rastlanmazken, aşılı örneklerde 15. günden itibaren aflatoksin oluşumu gözlenmiş ve miktarı zamanla azalmıştır. Doksanıncı gün sonunda % 85 ± 2 oransal nemde 0,98 µg/kg aflatoksin B₁, 47,90 µg/kg G₁ ve 4,20 µg/kg G₂; % 95 ± 2 oransal nemde de 32,76 µg/kg aflatoksin B₁, 118,80 µg/kg G₁ ve 51,98 µg/kg G₂ belirlenmiştir. Aflatoksin B₂ ise en son 30. günde % 85 ± 2 oransal nemde 47,25 µg/kg ve % 95 ± 2 oransal nemde 60,50 µg/kg seviyesinde belirlenmiş ve daha sonraki günlerde saptanamamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, küf bulaşması yanında depolama sıcaklığı ve oransal nem değerlerindeki değişimin Tulum peynirinde aflatoksin oluşumunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Tulum peynirini 10 °C ve altında depolamanın aflatoksin oluşumu açısından risk oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Tulum peyniri, aflatoksin, *Aspergillus parasiticus*, oransal nem, depolama sıcaklığı

Effect on Aflatoxin Formation of Different Storage Conditions in Tulum Cheese inoculated with *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999

Abstract: Tulum cheese was divided into 2 equal parts. One part was inoculated with 10^4 spores/g of aflatoxin-producing *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 strain. The other part, the control group, was not inoculated. All the samples were ripened in glass jars at 2 different temperatures (10 ± 1 and 20 ± 1 °C) and relative humidities ($85 \pm 2\%$ and $95 \pm 2\%$) and analyzed for aflatoxin formation on days 1, 15, 30, 45, 60 and 90 of storage using thin layer chromatography.

Aflatoxins were determined in the inoculated samples after 15 days with incubation at 20 ± 1 °C, while they were not found in inoculated samples stored at 10 ± 1 °C or in any of the control group samples during a ripening period of 90 days. The levels of aflatoxins decreased after 15 days of storage. In $85 \pm 2\%$ and $95 \pm 2\%$ relative humidities, the levels of aflatoxins were 0.98 µg/kg B₁, 47.90 µg/kg G₁ and 4.20 µg/kg G₂; and 32.76 µg/kg B₁, 118.80 µg/kg G₁ and 51.98 µg/kg G₂ at the end of 90 days, respectively. The level of aflatoxin B₂ was 47.25 µg/kg and 60.50 µg/kg in $85 \pm 2\%$ and $95 \pm 2\%$ relative humidities at the end of 30 days, respectively. However, it was not determined on days 45, 60 or 90.

Data obtained in this study indicated that storage time and temperature, humidity and aflatoxigenic mould contamination significantly affected aflatoxin formation in Tulum cheese. It was concluded that aflatoxin did not form in Tulum cheese stored at ≤ 10 °C.

Key Words: Tulum cheese, aflatoxin, *Aspergillus parasiticus*, relative humidity, storage temperature

Giriş

Aflatoksinler (AF), *Aspergillus* (A.) cinsi içerisinde yer alan *A. flavus* ve *A. parasiticus* türü küfler tarafından üretilmektedir. Esas olarak küflü gıdalarda görülmesine karşın doğrudan insan tüketimine sunulan gıdalarda da aflatoksin oluşabileceği, çeşitli işleme yöntemlerinin bunu tamamen ortadan kaldıramadığı ve hayvan yeminde bulunabilecek aflatoksinlerin çok az bir oranda da olsa et, süt ve yumurta gibi gıdalara geçerek insan sağlığı açısından risk oluşturabileceği ifade edilmektedir (1,2). Aflatoksinler yüksek toksisiteye sahip olmaları nedeniyle vücuda alındıklarında akut veya kronik olarak seyreden aflatoksikozis denilen mikotoksikozis vakalarına yol açarlar. Çeşitli deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar aflatoksinlerin kanserojen olduğunu ortaya çıkarmıştır (3).

Aflatoksijenik küfler, bulaştıkları ürünlerde daha ziyade uygun nem ve sıcaklık bulunduğunda gelişmekte ve aflatoksin oluşturmaktadır. Üründe toksik küf bulunmasına rağmen her zaman aflatoksine rastlanmazken, sağlıklı görünen ürünlerde de rastlanabilmektedir. Aflatoksin oluşumunda fiziksel ve biyolojik bir çok faktör etkili olmaktadır. Bunlar arasında çevre şartları, özellikle sıcaklık ve nem en önemli etkenlerdir (4).

Aspergillus cinsi küfler, genel olarak mezofilik karakterde olup 6-8 °C'den başlayıp 50-60 °C'ye kadar değişen sıcaklıklarda gelişebilmektedirler. Optimum gelişme sıcaklıkları ise 35-38 °C civarındadır. 10 °C'nin altında ve 41-42 °C'nin üzerinde aflatoksin oluşmadığı ifade edilmektedir. Ancak, bazı peynir çeşitlerinde 7 °C'nin üzerinde aflatoksin oluştuğu belirtilmektedir (5). En yüksek toksin oluşumu ise 25-30 °C arasında gerçekleşmektedir (6). *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un gelişebilmesi için oransal nemin % 80'den yukarı olması gerekmektedir. Yüksek oransal neme sahip depolar, fungal çürümeyi ve aflatoksin oluşumunu teşvik etmektedir (7).

Ülkemizde tulum peyniri, genellikle mandıralarda veya küçük aile işletmelerinde hijyenik olmayan şartlarda ilkel teknolojilerle üretilmekte ve sağlıksız bir şekilde depolanmaktadır (8,9). Bu durum, küfleri de içine alan bir çok mikroorganizma gurubunun peynirde gelişerek ürünü bozmasına ve hatta bazı toksijenik küf metabolitlerinin oluşmasına uygun bir ortam hazırlamaktadır. Bu da üründe kalite düşüklüğüne sebebiyet vererek ekonomik

kayıplara yol açtığı gibi, insan sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır.

Peynirde aflatoksin oluşumu ile ilgili çalışmalar diğer ülkelerde çok daha fazla ve genellikle kontrollü şartlarda gerçekleştirilen denemeler şeklindedir. Ülkemizde ise genellikle küf izolasyonu ile ilgili çalışmalar yapılmış (10), bazı çalışmalarda izole edilen küflerin mikotoksijenik olup olmadığı araştırılmıştır (11). Tulum peynirinde ise çoğunlukla üretim teknolojisi, olgunlaştırma şekli, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi gibi çalışmalara rastlanılmaktadır (12,13).

Yukarıda belirtilen bir çok neden göz önüne alındığında, tulum peynirinin de aflatoksijenik küflerin gelişimine ve aflatoksin oluşturmaya uygunluğunun belirlenmesi zorunlu hale gelmektedir. Bu çalışma, hem peynir kalitesi ve hem de sağlık açısından risk oluşturmayacak depolama şartlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Tulum peyniri yapımında yağlı inek sütü kullanılmıştır. Deneme için gerekli olan süt, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Süt Fabrikası'ndan sağlanmıştır. Peynir üretimi de yine aynı fabrikada gerçekleştirilmiş ve ambalaj materyali olarak tulum yerine cam kavanoz kullanılmıştır. Peynirlerinin aşılmasında, TÜBİTAK-MAM Gıda Araştırma Bölümü'nden temin edilen *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu kullanılmış ve standart aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ "Food and Drug Administration", Washington D.C., USA" adresinden sağlanmıştır. Peynirlerinin üretiminde laktik starter olarak, Sacco-Lyoto-CMS-4.00 (*Streptococcus lactis* subsp. *lactis* / *S. lactis* subsp. *cremoris* (1/1)) aktif kültürü kullanılmıştır.

Deneme tulum peynirlerinin üretiminde Akyüz (14) ve Çakmakçı (15)'nin çalışma ve önerileri dikkate alınmıştır. Bu amaçla, seperatörden geçirilmiş 150 kg yağlı inek sütü çift cidarlı süt pastörize kazanına alınmış ve 65 °C'de 30 dk süreyle pastörize edilmiştir. 30 °C'ye kadar hızla soğutulan süte, aktifleştirilmiş starter kültürden % 1 oranında katılmış ve 30 dk dinlendirilmiştir. Daha önce kuvveti belirlenen ticari peynir mayasından 90 dakikada pıhtılaşmayı sağlayacak şekilde 13 ml alınarak 1/10 oranında sulandırılarak ilave edilmiştir. Elde edilen tulum peyniri iki eşit parçaya bölünmüş ve bu parçalardan birisi *A. parasiticus* NRRL

2999 küf suşu sporları ile aşılanmıştır. Bu küfün sporlarının elde edilmesinde Çoksöyler (2)'den yararlanılmıştır. Sporlar, 200 ml'lik % 0,005'lik Tween 80 çözeltisinde seyreltikten sonra Thoma lamı ile miktarı hesaplanmıştır (16). Daha sonra, 1 g peynirde yaklaşık olarak 10^4 spor (10^4 spor/g) olacak şekilde, aseptik şartlar altında sterilize edilmiş bir spreyle peynir üzerine püskürtülmüş ve sporların peynir içerisinde homojen bir şekilde dağılımını sağlamak için steril eldivenlerle iyice karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan aşılı ve aşılanmamış örnekler, yaklaşık 200 gramlık kısımlar halinde 250 ml'lik cam kavanozlara hava boşluğu kalmayacak şekilde sıkıca doldurulmuş ve önceden hazırlanan 1,5 l'lik oransal nem ortamlarına yerleştirilmiştir. Oransal nem ortamı için cam kavanozlar kullanılmıştır.

Depolama denemesinde kullanılmak üzere, 85 ± 2 ve 95 ± 2 oransal nem ortamı için 48 adet kontrol gurubu ve 48 adet aşılı örneklerin konulacağı toplam 96 adet oransal nem ortamı hazırlanmıştır. Böylece, her bir sıcaklık derecesinde 24'ü kontrol gurubu ve 24'ü de aşılı örnekler için olmak üzere 48 adet oransal nem ortamı tutulmuştur. Bu nem ortamlarını sabit tutmak için, kapalı ortamda doymuş tuz çözeltilerinin oransal nemi sabit tutma özelliğinden yararlanılmıştır (2). Yüzde 85 ± 2 denge oransal nem ortamı doymuş KCl çözeltisi, 95 ± 2 oransal nem ortamı da NaCl çözeltisi ile ayarlanmıştır (17). Çözeltiler kavanozlara yaklaşık 2-2,5 cm yükseklikte doldurulmuş ve içerisine 4 cm yükseklikte tel ızgaralar yerleştirilerek peynir örneklerinin çözeltilere değmeden ızgaralar üzerinde durması sağlanmıştır. Kavanoz kapaklarının orta kısmına oksijen geçişini sağlamak için 1,5-2 cm çapında delikler açılmış ve pamukla sıkıca kapatılmıştır. Bu ortamlar, 10 ± 1 ve 20 ± 1 °C sıcaklıkta 90 gün süreyle depolanmıştır.

Araştırma tam şansa bağlı denem planına göre iki tekerrürlü olarak kurulmuş ve olgunlaştırma süresince 1. günden başlamak üzere 15., 30., 45., 60. ve 90. günlerde aflatoksin analizi yapılmıştır. Aflatoksin analizinde Majerus ve Zakaria (18) tarafından önerilen aflatoksin analiz yöntemi kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi için hazır plakalar (Aldrich, Cat No. Z 12, 277-7, general purpose, silica gel on polyester, 20 x 20 cm) kullanılmıştır. Aflatoksin standartları Horwitz (19)'e göre Shimadzu UV-160 marka spektrofotometre kullanılarak hazırlanmıştır. Örnek ekstraktı ve standart aflatoksinler dijital mikropipet (Elkay Exelpette, 10-100

ml) ile İTK plakasına tatbik edilmiştir. 40 ml numune ekstraktı 10, 20 ve 40 ml aflatoksin standardı ile aynı hat üzerinde plakanın alt ucundan 130 mm mesafede, 1,5 cm aralıkla spotlanmıştır. Hazırlanan plakalar, ilk önce, içerisinde dietil eter bulunan bir geliştirme tankında (Aldrich, Cat No. Z 12, 619-5, TLC developing tank, glass, 27,5 x 27,5 x 7,5 cm) birinci yönde geliştirilmiş ve daha sonra kloroform/aseton (90/10) karışımı içerisinde ikinci yönde bir geliştirme işlemine bırakılmıştır. Plakalar, yaklaşık olarak 1 saatlik bir geliştirme işleminden sonra geliştirme tankından çıkarılıp karanlıkta kurutulmuş ve UV lambası altında incelenmiştir. İnceleme sonucunda, dietil eterle yapılan birinci yönde geliştirmede aflatoksin tabiatında olmayan yabancı maddeler ayrılmış; ikinci yönde geliştirme işleminde ise azalan Rf değerlerine göre sırasıyla aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ görülmüştür (18). Örneğe ait şüpheli lekelerin bulunması durumunda doğrulama testi uygulanmıştır (20). Aflatoksin miktarı Horwitz (19) tarafından belirtilen formüle (Aflatoksin konsantrasyonu (mg/kg): $S \times Y \times V / W \times Z$) göre hesaplanmıştır.

Araştırma sonunda elde edilen verilere, SPSS, SPSS for Windows Release 10.0.1 paket programı kullanılarak Varyans analizi yapılmış, önemli çıkan varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Kontrol grubu ve 10 ± 1 °C'de depolanan tulum peyniri örneklerinin tümünde olgunlaştırma süresince aflatoksin belirlenememiş, 20 ± 1 °C'de ise sadece aşılı örneklerde saptanmıştır. Aflatoksin B₁ miktarı en yüksek (84,50 µg/kg) 15. günde ve 95 ± 2 oransal nemde, en düşük (0,98 µg/kg) 90. günde ve 85 ± 2 oransal nemde; aflatoksin B₂ miktarı en yüksek (70,88 µg/kg) 15. günde ve 95 ± 2 oransal nemde, en düşük (47,25 µg/kg) 30. gün ve 85 ± 2 oransal nemde; aflatoksin G₁ miktarı en yüksek (440,25 µg/kg) 15. günde ve 95 ± 2 oransal nemde, en düşük (47,90 µg/kg) ise 90. günde ve 85 ± 2 oransal nemde; aflatoksin G₂ miktarı ise en yüksek (131,25 µg/kg) 15. gün ve 95 ± 2 oransal nemde ve en düşük (4,20 µg/kg) 90. gün ve 85 ± 2 oransal nemde olgunlaştırmaya bırakılan peynir örneklerinde belirlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre sıcaklık, oransal nem, olgunlaştırma süresi, muamele ve bunlar arasındaki etkileşimlerin aflatoksin oluşumu

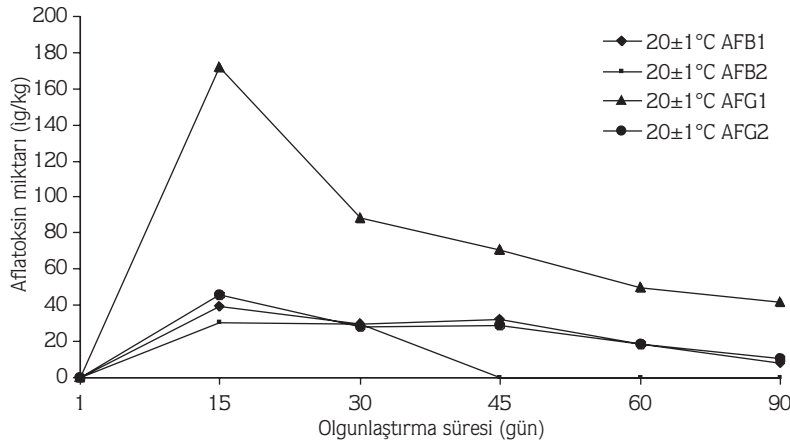
üzerinde istatistiki olarak çok önemli ($P < 0,01$) derecede etkili olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık x olgunlaştırma süresi ve oransal nem x olgunlaştırma süresi interaksiyonu Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

Olgunlaştırma süresince değişen aflatoksin miktarlarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları da Tablo'da verilmiştir.

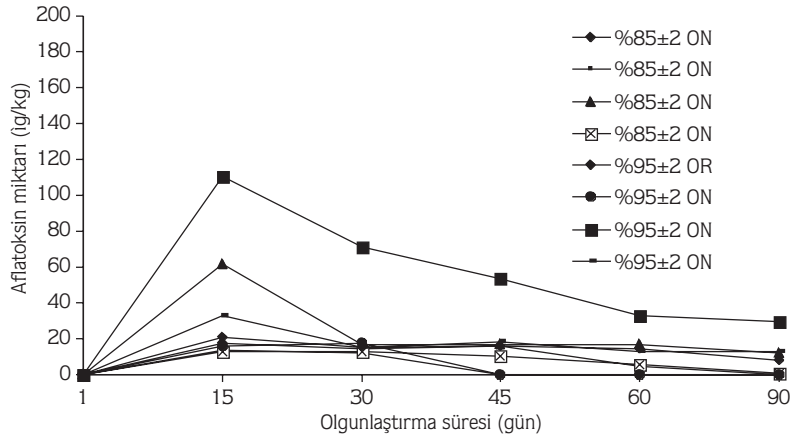
Tartışma

Olgunlaştırma süresince belirlenen aflatoksin miktarlarına ait ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden önemli ($P < 0,05$) ölçüde farklı bulunmuştur. Olgunlaştırmanın 1. gününde örneklerin

hiçbirisinde aflatoksin belirlenememiş, 15. günde bütün aflatoksin tipleri miktar olarak en yüksek seviyeye çıkmış ve daha sonraki günlerde giderek azalmıştır (Tablo 1). Bununla birlikte, AFB₂ sadece 15. ve 30. günlerde belirlenmiş ve daha sonra saptanamamıştır. Aflatoksin miktarlarındaki azalmanın, peyirde zamanla kimyasal yapının değişmesi, serbest yağ asidi miktarının artması ve doğal florada bulunan diğer mikroorganizmalardan kaynaklanabileceği belirtilmektedir (21-23). Nitekim, bazı mikroorganizmalar aflatoksijenik küflerin gelişimini ve toksin üretimini engelleyebilmektedir. Shih ve Marth (24) Brick peynirinin olgunlaştırılmasında önemli bir bakteri olan *Brevibacterium linens*'in, Kiermeier ve Groll (25) Camembert peynirinin olgunlaştırılmasında kullanılan



Şekil 1. Aflatoksin Miktarları Üzerinde Etkili Olan Sıcaklık x Olgunlaştırma Süresi İnteraksiyonu.



Şekil 2. Aflatoksin Miktarları Üzerinde Etkili Olan Oransal Nem x Olgunlaştırma Süresi İnteraksiyonu.

Tablo. Olgunlaştırma Süresince Değişen Aflatoksin Miktarlarına Ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.

Olgunlaştırma süresi (gün)	n	Aflatoksin miktarı (µg/kg)			
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
1	16	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
15	16	19,50f	15,13c	85,97f	22,96e
30	16	15,03d	14,77b	44,10e	14,18d
45	16	16,17e	0,00a	35,41d	14,27d
60	16	9,43c	0,00a	24,75c	9,39c
90	16	4,21b	0,00a	20,84b	7,02b

Aynı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P < 0,05)

Penicillium candidum ve bazı maya ve küf türlerinin aflatoksinleri detoksifiye edebildiğini bildirmektedirler. Bunun yanısıra, tulum peynirine starter olarak katılan *S. lactis* aflatoksinleri detoksifiye edebilmektedir (26). Birçok araştırmacı da, *Lactobacillus* cinsi bakterilerin aflatoksinleri detoksifiye edebildiğini belirtmektedir (27,28). Ayrıca, olgunlaşma sırasında proteoliz sonucu oluşan amino asitlerin özellikle küfler ve diğer mikroorganizmalar tarafından karbon kaynağı olarak kullanılması yüksek miktarda amonyak oluşumuna neden olmakta ve toksin üretiminin gerçekleştiği sekonder metabolizma bundan olumsuz yönde etkilenebilmektedir (29). Proteolitik parçalanma ürünlerinden hidrojen sülfürün de aflatoksin molekülünün dihidrofuran çift bağıyla reaksiyona girdiği ve bunun sonucunda aflatoksin B₁'in suda eriyebilen başka bir forma (aflatoksin B₁S) dönüşerek detoksifiye olduğu belirtilmektedir (5,23,30). Diğer taraftan, aflatoksin oluşumunun gerçekleşebilmesi için optimum şartlarda en az 4 ile 7 günlük bir sürenin geçmesi gerektiği ifade edilmektedir (30).

Depolama süresince, 20 ± 1 °C'de olgunlaştırılan peynirlerde aflatoksin oluşumu gözlenmiş, 10 ± 1 °C'de olgunlaştırılan peynirlerde ise belirlenmemiştir (Şekil 1). Nitekim sıcaklık küf gelişimini ve toksin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden biri olup, aflatoksin üreten küflerin gelişebilmesi için sıcaklık sınırlarının 12-43 °C arasında olması gerektiği bildirilmektedir (31). Park ve Bullerman (32) *A. parasiticus* suşuyla aşıladıkları Cheddar ve Cottage peynirlerinin 5 °C'de; Karaioannoglou (33) da *A. flavus* ile aşıladığı Feta peynirlerinin 5 ve 10 °C'de depolanması sonucunda sporlaşma olmadığı gibi

aflatoksin oluşumunun da gerçekleşmediğini rapor etmişlerdir.

Olgunlaştırma süresince, % 95 ± 2 oransal nemde oluşan aflatoksin miktarları ile % 85 ± 2 oransal nemde oluşan aflatoksin miktarlarının birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. Oransal nem de sıcaklık gibi aflatoksin oluşumunu önemli ölçüde etkilemiş ve % 95 ± 2 oransal nemde daha fazla aflatoksin oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2). Oransal nemin yüksek olması su aktivitesinin de yüksek kalmasına neden olmuş ve bu durum aflatoksin oluşumunu teşvik etmiştir (34). Bununla birlikte, doğal florada yer alan mikroorganizmaların peynirin yapısında meydana getirdiği kimyasal değişimler sonucu oluşan parçalanma ürünleriyle aflatoksinlerin interaksiyonu ve floradaki bazı mikroorganizmaların aflatoksinleri detoksifiye etmeleri nedeniyle her iki oransal nemde de aflatoksin miktarları zamanla azalmıştır.

Araştırma bulguları, küf kontaminasyonu yanında depolama sıcaklığı ve oransal nem değerlerindeki değişimin tulum peynirinde aflatoksin oluşumunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Ayrıca, 20 ± 1 °C'nin aflatoksijenik küf kontaminasyonuna bağlı olarak aflatoksin oluşumunu teşvik ettiği, 10 ± 1 °C'nin ise küf kontaminasyonu olsa da aflatoksin oluşumu açısından risk oluşturmayacağı ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan, % 95 ± 2 oransal nemde % 85 ± 2 oransal neme göre daha fazla aflatoksin oluştuğu gözlenmiş ve buna bağlı olarak yüksek oransal neme sahip depoların küf gelişimini ve aflatoksin oluşumunu teşvik edeceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Bullerman, L.B.: Significance of mycotoxins to food safety and human health. *J. Food Protect.* 1979; 42: 65-86.
2. Çoksöyler, N.: İçel Yöresinde Yetiştirilen Yerfıstıklarında Aflatoksin Oluşumu Nedenleri Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi). Ankara Üniv. Fen Bil. Enst., Ankara. 1984; 1-30.
3. Quezada, T., Cuellar, H., Jaramillo-Juarez, F., Valdivia, A.G., Reyes, J.L.: Effects of aflatoxin B₁ on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comp. Biochem. Physiol.* 2000; 125: 265-272.
4. Hill, R.A., Blankenship, P.D., Cole, R.J., Sanders, T.H.: Effects of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by the *Aspergillus flavus* group and subsequent aflatoxin development. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983; 45: 628-633.
5. Van-Egmond, H.P.: Aflatoxins M1: Occurrence, Toxicity, Regulation. *Mycotoxins in Dairy Products*. Elsevier, London and New York. 1989; 11-54.
6. Tunail, N.: Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları (Genişletilmiş 2. Baskı). Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Böl., Ankara. 2000; 81-185.
7. Northolt, M.D., Bullerman, L.B.: Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. *J. Food Protect.* 1982; 45: 519-526.
8. Arıcı, M., Şimşek, O.: Kültür kullanımının tulum peynirlerinin duysal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. *Gıda*. 1991; 16: 53-62.
9. Diğrak, M., Yılmaz, Ö., Özçelik, S.: Elazığ kapalı çarşısında satışı sunulan Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel-kimyasal özellikleri. *Gıda*. 1994; 16: 381-387.
10. Sert, S.: Bazı taze peynir çeşitlerinde küf florası ve aflatoksin içerikleri ile aflatoksin potansiyellerinin araştırılması (1. Küf florası). *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.* 1992; 23: 89-100.
11. Erdogan, A., Gurses, M., Sert, S.: Isolation of moulds capable of producing mycotoxins from blue moldy Tulum cheese in Turkey. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 83-85.
12. Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., Akyüz, N.: Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*. 1991; 16: 295-300.
13. Güven, M., Konar, A.: İnek sütünden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan tulum peynirlerinin fiziksel, kimyasal ve duysal özellikleri. *Gıda*. 1994; 19: 287-293.
14. Akyüz, N.: Erzincan (Şavak) Tulum peynirlerinin yapılışı ve bileşimi. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 1981; 12: 85-112.
15. Çakmakçı, S.: Erzincan Tulum (Şavak) Peynirinin Geleneksel Metotla Üretimi ve Üretim Teknolojisinin Geliştirilmesi. *Geleneksel Süt Ürünleri. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, Ankara. Milli Produktivite Merkezi Yayın No: 161. 1998; 117-125.
16. Köşker, Ö.: Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayın., Ankara. 1976; 586.
17. Bauchet, L.R.: Calculation of Water Activity Value Food and Beverage Microbiology, The AVI Publishing Company, INC., Westport, Connecticut. 1978; 48-53.
18. Majerus, P., Zakaria, Z.: A rapid, sensitive and economic method for the detection, quantification and confirmation of aflatoxins. *Lebensm. Unters. Forsch.* 1992; 195: 316-319.
19. Horwitz, W.: Natural Poisons. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists*, Washington DC: 1975; 462-482.
20. Sert, S.: Bazı karma yem ve karma yem hammaddelerinin aflatoksin yönünden araştırılması. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.* 1984; 15: 55-63.
21. Eke, D., Gökten, D.: Fındıklarda aflatoksin gelişmesi. *Ege Üniv. Zir. Fak. Derg.* 1987; 24: 289-295.
22. Shantha, T.: Fungal degradation of aflatoxin B₁. *Nat. Toxins*. 1999; 7: 175-178.
23. Gürses, M.: Tulum Peynirinde Farklı Depolama Şartlarında Aflatoksin Oluşum Potansiyelinin Belirlenmesi (Doktora Tezi). *Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum. 2002; 35-97.
24. Shih, C.N., Marth, E.H.: Experimental production of aflatoxin on Brick cheese. *J. Milk Food Technol.* 1972; 35: 585-587.
25. Kiermeier, F., Groll, D.: Zur aflatoksin B₁ bildung in käse. *Lebensm. Unters. Forsch.* 1970; 143: 81.
26. Collier-Ascah, J., Idziak, E.S.: Interaction between *Streptococcus lactis* and *Aspergillus flavus* on production of aflatoxin. *Appl. Environ. Microbiol.* 1985; 49: 163-167.
27. El-Gendy, S.M., Marth, E.H.: Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in the presence of *Lactobacillus casei*. *J. Food Protect.* 1981; 44: 211-212.
28. Peltonen, K.D., El-Nezami, H.S., Salminen, S.J., Ahokas, J.T.: Binding of aflatoxin B₁ by probiotic bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 2000; 80: 1942-1945.
29. Park, K.Y., Bullerman, L.B.: Effects of substrate and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. *J. Food Protect.* 1983; 46: 178-184.
30. Bullerman, L.B., Schroeder, L.L., Park, K.Y.: Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Protect.* 1984; 47: 637-646.
31. Applebaum, R.S., Brackett, R.E., Wiseman, D.W., Marth, E.H.: Aflatoxins: toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. *J. Food Protect.* 1982; 45: 752-777.
32. Park, K.Y., Bullerman, L.B.: Effect of cycling temperatures on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in rice and Cheddar cheese. *J. Food Sci.* 1983; 48: 889-896.
33. Karaioannoglou, P.: Aflatoxin production on white brined Feta cheese. *Milchwissenschaft*. 1984; 39: 671-674.
34. Northolt, M.D., Van-Egmond, H.P., Paulsch, W.E.: Differences between *Aspergillus flavus* strains in growth and aflatoxin B₁ production in relation to water activity and temperature. *J. Food Protect.* 1977; 40: 778-781.