

**TOPRAK AMBALAJDA
OLGUNLAŖTIRILAN GELENEKSEL
KÜP PEYNİRLERİNDE AFLATOKSİN M₁
DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

Hüseyin Akın KOLUAÇIK

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN

2014

**T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TOPRAK AMBALAJDA OLGUNLAŞTIRILAN GELENEKSEL KÜP
PEYNİRLERİNDE AFLATOKSİN M₁ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

Hüseyin Akın KOLUAÇIK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN

**TEKİRDAĞ-2014
Her hakkı saklıdır**

Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN danışmanlığında, Hüseyin Akın KOLUAÇIK tarafından hazırlanan “Toprak Ambalajda Olgunlaştırılan Geleneksel Küp Peynirlerinde Aflatoksin M₁ Düzeyinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Doç. Dr. Bilal BİLGİN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Levent COŞKUNTUNA

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TOPRAK AMBALAJDA OLGUNLAŞTIRILAN GELENEKSEL KÜP
PEYNİRLERİNDE AFLATOKSİN M₁ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Hüseyin Akın KOLUAÇIK

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN

Bu çalışmada İç Anadolu bölgesini temsilen Ankara, Yozgat ve Nevşehir illerinden alınan yöresel toprak ambalajlarda (küp) olgunlaştırılan peynir örneklerindeki Aflatoksin M₁ içeriği, kuru madde, yağ ve kül oranları tespit edilmiştir. Bu kapsamda yöresel ürün satan şarkütericiler ve köylerden temin edilen; her bir ilden 20'ser olmak üzere toplam 60 numune analiz edilmiştir. Aflatoksin M₁ analizinde immuno affinite kolon ile saflaştırma ve HPLC yöntemi kullanılmıştır. Örneklerin %41'inde 0.016 µg/kg ile 0.136 µg/kg arasında değişen oranda Aflatoksin M₁ bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda Aflatoksin M₁ bulunan 25 örnekten 5 tanesinin uluslararası peynir standart değerini (0.05 µg/kg) geçtiği görülmüştür. Örneklerin kuru madde miktarı % 50.45-66.61, yağ miktarı % 28.87-39.46 ve kül miktarı % 4.19-6.32 arasında değişen sonuçlar bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin M₁, Küp peyniri, HPLC

2014 , 30 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE DETERMINATION OF AFLATOXIN M₁ LEVELS IN TRADITIONAL POT CHEESES MATURED AT SOIL PACK

Hüseyin Akın KOLUÇIK

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Binnur KAPTAN

In this study, traditional pot cheese samples were collected from Yozgat, Nevşehir, Ankara cities at the Central Anatolia Region and analyzed to determine the level of Aflatoxin M₁, dry matter, fat and ash content. In this context; each city 20, total 60 samples provided from villages and traditional product seller were analyzed. Hplc method with immunoaffinity column (IAK) is used at the Aflatoxin M₁ analyze. Aflatoxin M₁ was determined in 25 (%41) samples at the level of varied from 0,016 to 0,136 µg/kg. AFM₁ levels of 5 samples were higher than the maximum tolerance limit (0.05 µg/kg) accepted by the international cheese standard. Dry matter results varies in the range of % 50.45-66.61, fat content % 28.87-39.46 and ash content % 4.19-6.32.

Keywords : Aflatoxin M₁, pot cheese, HPLC

2014 , 30 pages

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFM ₁	Aflatoksin M ₁
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAK	İmino Affinite Colon
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
TLC	Thin Layer Chromatography
µg	Mikrogram
dk	Dakika
mg	Miligram
ng	Nanogram
lt	Litre
n	Paralel sayısı
conc.	Konsantrasyon
°C	Santigrad derece
FAO	Food and Agriculture Organization
WHO	World Health Organization

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi ve y¼r¼t¼lmesi aŐamasında yardımlarından dolayı danışmanım sayın Yrd. Doç Dr. Binnur KAPTAN'a, Aflatoksin M₁ analiz çalıŐmalarında verdiği destekten dolayı baŐta Hasan MUTLU olmak üzere tüm Nanolab Gıda Analiz Laboratuvarı çalıŐanlarına, kimyasal analizler konusunda yardımcı olan AraŐ. Gör. G¼ksel TIRPANCI'ya, örneklerin toplanmasında verdiği her t¼rl¼ destekten dolayı annem Mercan KOLUAÇIK'a, ablam Emine KOLUAÇIK'a ve teyzem Arzu KOLUAÇIK'a ayrıca Aflatoksin M₁ analizlerinin yapılması için NKUBAP.00.24.YL.13.11 no'lu proje ile verdiği destekten dolayı Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2. 1. Küp Peyniri Üretimi	3
2. 2. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
2. 3. Peynirlerde AFM ₁ İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar	8
2. 4. Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunabilecek Maksimum AFM ₁ Limitleri	10
2. 5. AFM ₁ Analizinde Kullanılan Yöntemler	12
3. MATERYAL ve METOT	13
3. 1. Materyal	13
3. 2. Metot	13
3. 2. 1. Aflatoksin M ₁ analizi	13
3. 2. 1. 1. Örneklerin hazırlanması	13
3. 2. 1. 2. HPLC analizi ve kalibrasyon eğrisinin çizilmesi	14
3. 2. 2. Kimyasal analizler	16
3. 2. 2. 1. Kuru madde analizi	16
3. 2. 2. 2. Yağ analizi	16
3. 2. 2. 3. Kül analizi	16
3. 2. 3. İstatistiksel analiz	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	17
4. 1. Aflatoksin M ₁ Sonuçları	17
4. 2. Kimyasal Analiz Sonuçları	21
4. 2. 1. Kuru madde miktarı	21
4. 2. 2. Yağ miktarı	22
4. 2. 3. Kül miktarı	23
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	25
6. KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kúp peyniri üretim şeması	3
Şekil 2.2. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı	6
Şekil 3.1. Kalibrasyon grafiği	15
Şekil 4.1. AFM ₁ tespit edilemeyen peynir örneğini kromatogramı	18
Şekil 4.2. AFM ₁ içeriği en yüksek örneğe ait kromatogram	18

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
Çizelge 2. 2. Ülkelere göre süt ve süt ürünleri için AFM ₁ limit değerleri	11
Çizelge 2. 3. Türkiye’de gıdalarda bulunabilecek maksimum AFM ₁ limitleri	12
Çizelge 3.1. HPLC cihazı teknik özellikleri	14
Çizelge 4. 1. AFM ₁ sonuçları	17
Çizelge 4. 2. Örneklerin birbiriyle ve bölgelerle ilişkisini gösteren korelasyon tablosu	19
Çizelge 4. 3. Kuru madde miktarı sonuçları	21
Çizelge 4. 4. Yağ miktarı sonuçları	22
Çizelge 4. 5. Kül miktarı sonuçları	24

1. GİRİŞ

Süt ürünleri, ürün üzerinde küflerin gelişmesi ile direkt ya da küf içeren yemin süt hayvanları tarafından tüketilmesi sonucunda ürüne işlenecek sütte mikotoksin oluşmasıyla dolaylı olarak mikotoksinlerle kontamine olabilirler. Süt ürünleri arasında özellikle peynirler küf gelişmesi için uygun substrattırlar (Van Egmond ve Paulsch 1986).

Mikotoksinler arasında en önemlisi ve bilimsel çalışmalara en çok konu olanı aflatoksinlerdir. Aflatoksinler *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve çeşitli toksijenik *Aspergillus* suşu ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* suşuna bağlı küfler tarafından sentezlenen mikotoksinlerdir (Özbek 2006). Sütte görülen başlıca aflatoksin türü, Aflatoksin B₁(AFB₁)'in hidroksi metaboliti olarak bilinen Aflatoksin M₁(AFM₁)'dir (Applebaum ve ark. 1982, Van Egmond ve ark. 1997). AFM₁; AFB₁ içeren yemleri tüketen süt hayvanlarının sütlerine salgıladıkları toksik ve kanserojenik bir mikotoksindir (Brackett ve Marth 1982). AFM₁ "Süt Toksini" olarak da bilinmektedir (Galvano ve ark. 1996).

Aflatoksinlerin toksisitesi hem akut hem de kroniktir. AFB₁ en önemli kanserojen etki gösteren toksinlerden birisidir ve çok düşük seviyelerde uzun süre vücuda alınarak kronik zehirlenmelere yol açabilir. AFM₁ sitotoksiktir (hücreleri tahrip edici) ve akut etki olarak da yine AFB₁ gibi diyetle uzun süre düşük seviyelerde alınması ile benzer etkiler göstermektedir (Prandini ve ark. 2009).

Küflerin, gıda maddelerinde meydana getirdiği tehlikeye bütün dünya gittikçe artan bir dikkatle eğilmektedir. Memleketimizde aflatoksinle ilgili çalışmalar, 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındıkların aflatoksin içermeleri nedeniyle iade edilmesinden sonra başlamıştır. Aynı problemle ABD'ye ihraç edilen fıstıkların iade edilmesiyle, 1994 yılında Almanya'ya ihraç edilen kırmızı biberlerin aflatoksin içermeleri nedeniyle karşılaşılmıştır. Yine son günlerin aktüel konularından biri olmaya devam etmektedir. Aflatoksinler peynir yapım aşamalarında kaybolmadığından, aflatoksinli sütlerden yapılan peynirlerde de aflatoksin bulunabilmektedir.

Türkiye’de ticari ölçekte üretilen peynirlerin yanı sıra geleneksel yöntemlerle üretilen çok sayıda yöresel peynir çeşidi de vardır. Bu peynirler içerisinde, özellikle İç Anadolu bölgesinde üretilen ve çoğu kez topraktan imal edilen kerpiç kaplarda olgunlaştırılan, yaygın olarak küp peyniri olarak anılan, bazı bölgelerde de çanak, çömlek, testi peyniri diye de adlandırılan peynirler önemli bir yere sahiptir. Yaygın olarak İç Anadolu bölgesinde üretilen küp peyniri, evsel koşullarda ve belirli bir teknoloji uygulanmada, inek veya koyun sütlerinden üretilir. Adını ambalajından alan küp peyniri, kerpiç küpler içerisine yağlı peynirin bol tuzlanarak bastırılarak doldurulması ile elde edilir. Tercihen ilave edilen çörek otu, hoş bir aroma oluşturur. Küpün ağız kısmına bir bez ya da üzüm yaprakları örtülerek hamur veya çamurla sıvazlanarak kuma/toprağa gömülerek olgunlaştırılır. Küp peyniri üretiminde bölgede farklılıklar bulunmaktadır. Bazı üreticiler ticari enzim kullanırken bazıları ev mayası adı verilen enzimi kullanmaktadır. Kimi üreticiler de pıhtıya haşlama işlemi de uygulamaktadır (Akyüz ve Gülümser 1984).

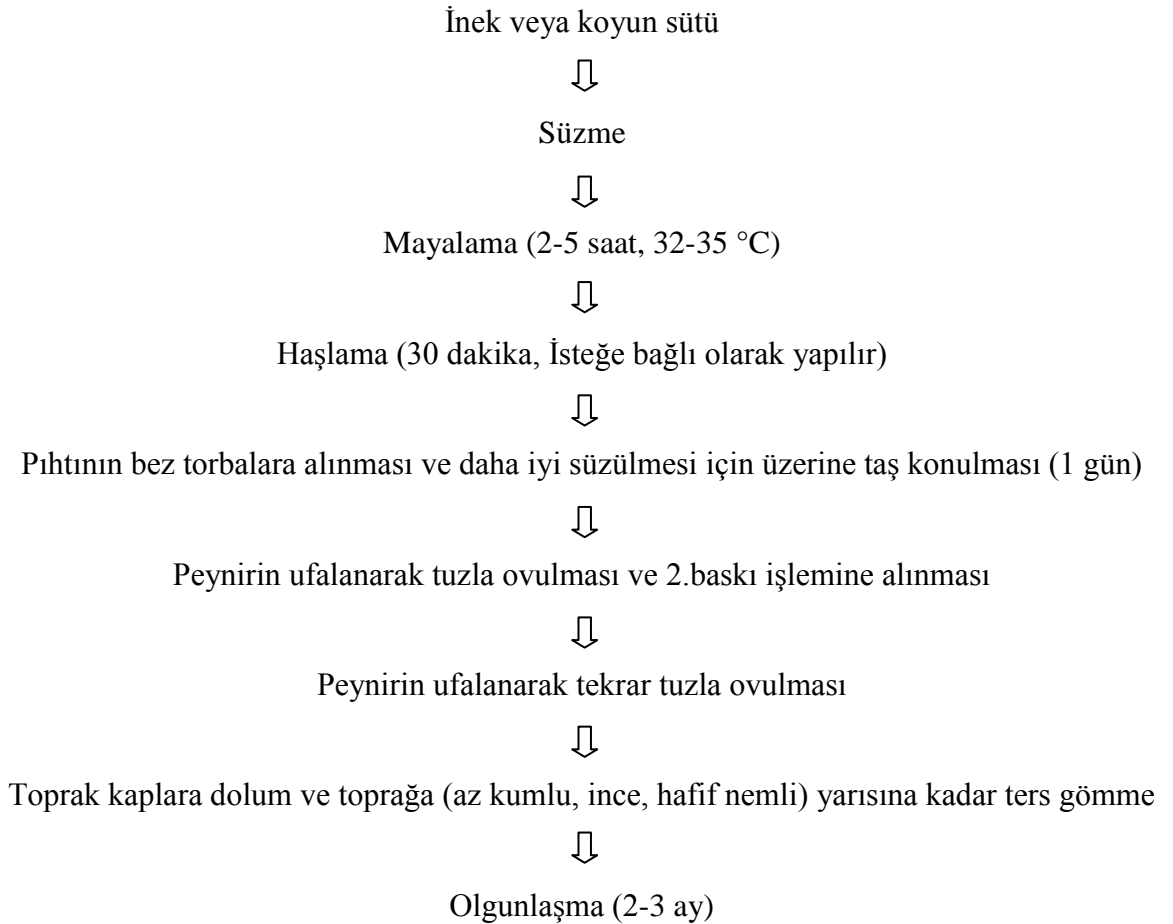
Bu peynirlerin tüketici sağlığı açısından incelenmesi ve güvenilirliğinin araştırılması önem arz etmektedir. Geleneksel ürünlerin genel itibariyle küçük ev işletmelerinde kontrolsüz şartlar altında üretiliyor olması gıda güvenliği açısından riskin tam olarak bilinmemesine yol açmaktadır. Geleneksel peynirlerin AFM₁ içeriği yönüyle güvenilirliğinin tespit edilmesi ile halk sağlığı açısından herhangi bir risk söz konusu olup olmadığı belirlenecek olup aynı zamanda bu konu ile ilgili önemli bir literatür eksikliğinin giderilmesine de katkı sağlanmış olacaktır.

Bu çalışmada, İç Anadolu bölgesinde (Ankara, Yozgat ve Nevşehir) yaygın olarak üretilip tüketilen geleneksel küp (toprak ambalajlarda olgunlaştırılmış) peynirlerinde aflatoxin M₁ varlığı ve seviyesinin belirlenmesi ile elde edilen sonuçların ilgili mevzuatlar çerçevesinde maksimum tolerans limitleri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışmayla yöresel küp peynir çeşidinin aflatoxin M₁ yönünden mevcut durumun ortaya konması ve buna bağlı olarak tüketici sağlığının korunması açısından da önem taşımaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2. 1. Küp Peyniri Üretimi

Küp peyniri İç Anadolu Bölgesi'nde yaygın olarak ev koşullarında ve belirli bir teknoloji uygulanmadan inek veya koyun sütünden üretilmektedir. Adını ambalajından almaktadır ve topraktan yapılmış küpler içerisine basıldıktan sonra kuma gömülerek olgunlaştırılmaktadır. Her aile ya kendi ürettiği sütü peynire işlemekte ya da birkaç aile bir araya gelerek “süt evi” yöntemi ile sırayla sütlerini peynire işlemektedirler. Genel olarak üretici, içme sütü ve yoğurt tüketiminden arta kalan koyun ve inek sütlerini peynire işlemektedir. Şekil 2.1’de küp peynirinin üretimi şeması verilmiştir.



Şekil 2.1. Küp peyniri üretim şeması

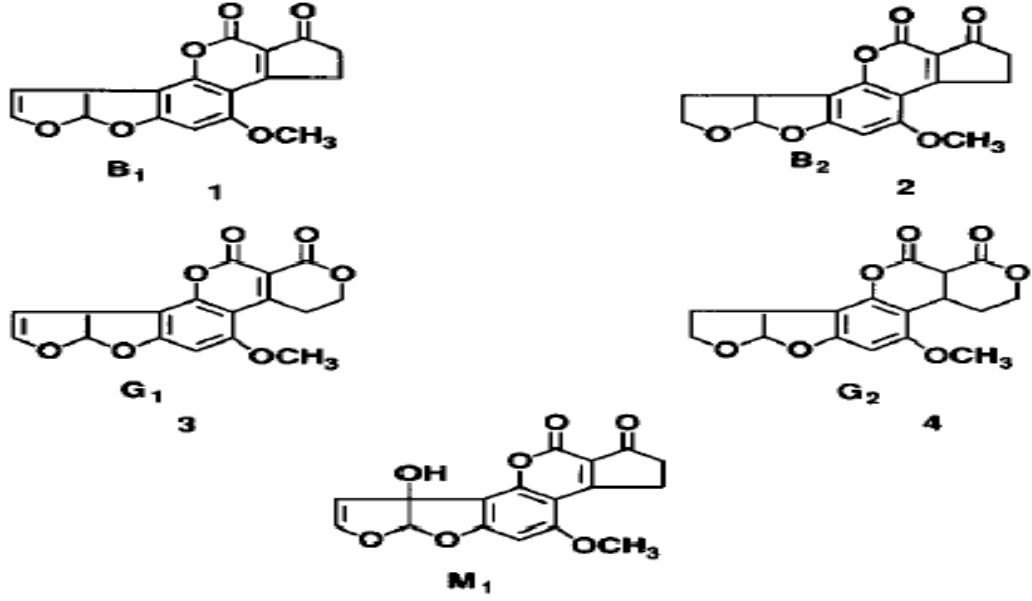
Peynire işlenecek süt; bakır, alüminyum ya da plastik kaplara bir bez paçasından süzülerek mayalanacağı kaba alınmaktadır. Mayalama bakır veya alüminyum kazanlarda ve sağım sıcaklığında yapılmakta ve sıcaklık parmakla kontrol edilmektedir. Sütün mayalama sıcaklığı 32-35 °C arasında değişmektedir. Süt ya tam yağlı olarak ya da değişik şekillerde ve farklı oranlarda yağı alındıktan sonra mayalanmaktadır. Maya olarak ticari peynir mayası veya özel olarak hazırlanan ev mayası kullanılmaktadır. Ev mayası yapımında, üreticiler arasında farklılık olmakla birlikte, hepsinde taze veya kurutulup tuzlanmış inek, koyun ve bulunduğu taktirde manda şirdeni kullanılmaktadır. Maya yapımında şirdenle birlikte kuru incir, bal, şeker, yarma, kuru siyah üzüm, kaya tuzu, keçi boynuzu meyvesi, kabuklu çiğ yumurta, nohut çörek otu gibi maddelerin tamamı veya birkaçı kullanılmaktadır. Ticari peynir mayası kullanılacaksa, yaklaşık olarak, 20 litre süte maya şişesinin kapağıyla bir ölçek (3.3 ml) koyulmaktadır, ev yapıma maya kullanılacak ise bu miktar bir su bardağı (yaklaşık 200 ml) olmaktadır. Mayalanan süt iyice karıştırıldıktan sonra, sütün bulunduğu kazan bir minder üzerine konulmakta ve kalın bezlerle sarılarak 2-5 saat pıhtı oluşumu için bekletilmektedir. Oluşan pıhtı kepçe, kaşık veya bir tabağın kenarı ile dört parçaya kesilerek 15-20 dakika dinlendirilmekte ve daha sonra bazı üreticiler pıhtıya haşlama işlemi uygulamaktadır. Haşlama işlemi, pıhtı süzülmeden, pıhtının oluştuğu kazanda ateş üzerinde karıştırılarak yapılmaktadır. Haşlama 25-30 dakika sürmekte, peynir suyunun sıcaklığı eli yaktığı anda veya pıhtı sertleştiğinde işleme son verilmektedir. Yapılan incelemede haşlanmış pıhtının sıcaklıkları 52-80 °C arasında olduğu belirlenmiştir. Haşlanan veya haşlanmayan pıhtılar dört köşe dikilmiş, 1-3 kg pıhtı alabilen ve ince geçirgen kumaştan yapılan torbalara alınıp 30-120 dakika süzölmeye bırakılmakta, daha sonra 1 kg peynire 3-5 kg olacak şekilde düzgün şekilli taşlarla 10-20 saat süreyle baskı uygulanmaktadır. Baskıdan çıkarılan peynirler geniş bir leğende bıçakla gelişigüzel doğranıp elle iyice ufalanmakta ve kaya tuzu ile tuzlanıp elle iyice karıştırılmaktadır. Tuz miktarı, peynir tuzlu bir tat verecek kadar katılmaktadır ve 1 kg peynir için yaklaşık 75 g olmaktadır. Parçalanmış ve tuzlanan peynir ince bir torbaya koyularak elle sıkıştırılıp ağzı sıkıca bağlanmaktadır. Torbada bulunan peynirler serin bir ortamda (12-16 °C) ikinci kez baskı uygulanmaktadır. Ağırlık olarak yine düzgün taşlar kullanılmakta, 1 kg peynir için yaklaşık 10 kg ağırlık uygulanmaktadır. Uygulanan bu 2. baskı işlemine “Tercan”, “Tecin”, “Tecen” veya “Bastırık” denilmektedir ve baskı süresi 2-7 gün arasında değişmektedir. Baskı sonunda peynir bir leğene boşaltılmakta ve elle ufalanarak yeniden parçalanmakta ve bir miktar daha tuz ilave edilmektedir (1 kg peynir için yaklaşık 25 g tuz) ve eğer istenirse aroma vermesi amacıyla çörek otu da karıştırılmaktadır. Basıma hazır hale gelen peynir, tabanına tuz serpilmiş toprak küp (çanak) içerisine azar azar

koyularak sıkıca elle veya tahta sopalarla basılmaktadır. Tamamı peynir ile basılan küpün üzerine biraz tuz serpildikten sonra ağzı bir bezle bağlanarak 2-3 gün bu şekilde bekletildikten sonra ters çevrilerek 3-5 gün daha bekletilmektedir. Daha sonra küpün ağzı açılarak, yıkanıp kurutulmuş asma yaprağı veya temiz bir bez peynirle temas edecek şekilde koyulmakta ve üzeri katı şekilde yapılmış hamur veya çamur ile şapka şeklinde kapatılmaktadır. Hamur veya çamurun üzerine bir bez bağlandıktan sonra küpler ters çevrilerek yarıdan fazlası ya da tamamı kuma gömülerek olgunlaştırılmaktadır. Küplerin gömüldüğü kum ince, az çakıllı ve hafif nemli olmaktadır. Kum ya zemine dökülmekte, ya da küp sayısı az ise kum bir kutuya koyularak küpler içine gömülmektedir. Olgunlaşma serin ve hafif rutubetli ortamlarda (genellikle kiler olarak kullanılan zemin veya bodrum katlarda) 2-3 ay ya da daha fazla süre ile yapılmaktadır (Akyüz ve Gülümser 1984).

2. 2. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Aflatoksinler, genellikle *Aspergillus* cinsinin üç türü; *A. flavus*, *A. parasiticus* ve nadiren *A. nomius* ve bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından üretilmektedir. *A. flavus* sadece aflatoksin B üretirken diğer iki tür B ve G aflatoksin üretebilmektedir (Peraica ve ark. 1999). Bu küfler, uygun sıcaklık ve nem koşullarında bazı yiyecek ve yem maddelerinde ürer ve aflatoksin oluşmasına neden olurlar (Jay 1992, Creppy 2002).

Aflatoksin terimi *Aspergillus flavus*'un "A" ve "fla" harflerine zehir anlamına gelen "toksin" eki getirilmesi ile oluşturulmuştur (Shreeve ve Patterson 1975). Aflatoksinler, kimyasal yapı olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin türevi doymamış bileşiklerdir. Çekirdeğin bir yanında bifuran halkası ve diğer yanında da ya pentanon (aflatoksin B de) ya da lakton (aflatoksin G de) halkası bulunur. Birçok aflatoksin tipi tanımlanmış olup B₁, B₂, G₁, G₂ ve M₁ en yaygın olanlarıdır.



Şekil 2.2. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı (Holcomb ve ark. 1992)

Aflatoksinler, ultraviyole ışık altında gösterdikleri floresans özelliklerine göre mavi (Blue) floresans verenler ve yeşil (Green) floresans verenler olarak ikiye ayrılırlar. Mavi floresans verenler aflatoksin B, yeşil floresans verenler ise aflatoksin G olarak isimlendirilmiştir. Toksinlere verilen rakamlar ise toksisite derecesini göstermekte, küçük rakam daha yüksek toksin özelliği ifade etmektedir (Bullerman 1979).

Aflatoksin M₁ ve M₂; B₁ ve B₂ aflatoksinlerinin hidroksillenmesi sonucu oluşan metabolit ürünleridir. AFM₁ ve AFM₂ küfle kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde oluşur ve süt salgısıyla birlikte salgılanır. AFM₁ süttten izole edildiği için “milk toksin” süt toksini olarak isimlendirilmiştir. Vücutta süttten başka idrar, dışkı ve safra salgısında da bulunmaktadır (Bullerman 1979, Bailey ve ark. 1984, Holcomb ve ark. 1992).

Aflatoksinler, methanol, kloroform ve asetonda çözünürken su ve petrol eter de çözünmezler. Sodyumhipoklorit, amonyak ve potasyumpermanganatta parçalanırlar. Işıktan etkilenirler. Aflatoksinler, sıcaklığa karşı dayanıklıdırlar, tamamen parçalanmaları için 300 °C'nin üzerinde sıcaklığa ihtiyaç vardır. Bu nedenle süttün pastörizasyonu, yoğurt veya peynir yapımı sırasındaki sıcaklık AFM₁'i parçalamak için yeterli değildir (Bullerman 1979, Doyle ve ark. 1982, Scott 1984, Barbieri ve ark. 1994).

Çizelge 2.1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Bullerman 1979)

Aflatoksin Türü	Molekül Formülü	Kaynama Noktası	Maksimum Floresans (nm)	Floresans Renk (UV 365 nm)
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	268-269	425	Mavi
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	286-289	425	Mavi
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	244-246	450	Yeşil
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	237-240	450	Yeşil
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	299	425	Mavi
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	292	425	Mavi

Aflatoksinler, insanlarda karaciğer kanserine yol açarlar. Aflatoksinler akut toksik, immun supresif, mutajen, teratojen ve kanserojen bileşiklerdir. Kanserojen ve toksik etkisini öncelikli olarak karaciğerde göstermektedir (Ayçiçek ve ark. 2005). Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü'ne (IARC) göre AFB₁ en etkili karaciğer kanserojenleri arasında gösterilmektedir. AFM₁ ise AFB₁'in yaklaşık onda biri kadar etkili bir bileşiktir. Tüketilen gıdalarla sıkça alınması durumunda karaciğerde birikerek benzer etkiler oluşturmaktadır (Bakırcı 2001, Lopez ve ark. 2001).

Süt ve süt ürünlerinde sıkça görülen AFM₁; besi hayvanının çürümü, küflü ot, genellikle mısır ve pamuk tohumlu kontamine yemleri yemesi sonucu aldığı AFB₁'in hayvanın karaciğerinde değişikliğe uğrayarak sütüne geçmesi ile oluşur. Aflatoksinler aynı zamanda kötü şartlarda depolanmış süt ve süt ürünlerinde, özellikle peynirlerde de oluşabilir (Brackett ve ark. 1982, Gürses ve ark. 2004). Birçok araştırma sütteki AFM₁ miktarının yemlerdeki AFB₁ miktarı ile orantılı olduğunu göstermiştir (Bakırcı 2001). Aflatoksinler peynir yapım aşamalarında kaybolmadığından, aflatoksinli sütlerden yapılan peynirlerde de aflatoksin görülebilir (Creppy 2002).

2. 3. Peynirlerde AFM₁ İÇeriğinin Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

AFB₁'in süt veren hayvanlarda metabolizma faaliyeti sonucu AFM₁'e dönüşme oranı ile ilgili olarak literatürlerde farklı bilgiler bulunmaktadır. Bu oran, hayvandan hayvana ve laktasyon periyoduna bağlı olarak değişmekle birlikte, tüketilen AFB₁'li yemin 12-24 saat içerisinde % 1-3 oranında AFM₁'e dönüştüğü belirtilmektedir (Sarımehmetoğlu ve ark. 2003, Rastogi ve ark. 2003).

Saf olarak AFB₁'in oral yolla alımından sonra 5 saat içerisinde ya da aflatoksin içeren yemin tüketilmesinden sonra iki gün içerisinde hayvanların sütlerinde AFM₁ görüldüğü bildirilmiştir. Buna karşın, kontamine yemin kesilmesinden sonra iki ile dört gün içerisinde sütte toksin belirlenemediği gözlenmiştir (Applebaum ve ark. 1982, Van Egmond 1997).

Choudhary ve ark. (1998), AFB₁'in süt veren hayvanlarda metabolizma faaliyeti sonucu AFM₁'e dönüşme oranını tespit etmek amacıyla inek sütleri ile yaptıkları çalışmada, 12.50 ve 108.45 mg/kg arasında değişen miktarda AFB₁ içeren yemle beslenen hayvanların sütünde 0.15-1.31 mg/kg oranında AFM₁ belirlenmiştir. Benzer şekilde, Frobish ve ark. (1986), 42 süt sığırı ile yaptıkları çalışmada, AFB₁'in 24 saat süre sonunda % 1.74 oranında AFM₁'e dönüşmüş olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte AFM₁'in süte geçme oranını % 6'ya kadar ulaştığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Lopez ve ark. 2003). Konsantre yemde AFB₁ içeriği 46 mg/kg'ı aştığında sütte AFM₁ gözlendiğini belirlemişlerdir (Applebaum ve ark. 1982).

Sütlerde bulunan AFM₁ varlığının ve miktarının sezona, coğrafi koşullara ve ülke koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebildiği belirtilmektedir (Galvano ve ark. 1998, Sarımehmetoğlu ve ark. 2003). Genellikle yaz aylarında, hayvanların merada otlamadığı kış aylarına göre, sütlerde AFM₁ seviyesinin daha düşük olduğu bildirilmektedir (Galvano ve ark. 1996).

Tekinşen ve Tekinşen (2005), Van otlı peynir ve salamura peynirlerde florimetrik yöntem kullanarak yaptıkları çalışmada, 60 adet Van otlı peynirinde %86.7, salamura peynirde % 62 oranında AFM₁ tespit edilmiştir. Van otlı peynirinde AFM₁ 0.16 -7.26 µg/kg, Salamura beyaz peynirlerde 0.10 – 5.20 µg/kg olarak bulunmuştur. Pozitif sonuçlar içinde

Van otlu peynirlerin %80'i, Salamura beyaz peynirlerin %40'ı Türk Gıda Kodeksi'nde belirlenen limit değerler üzerinde bulunmuştur.

Dinçoğlu ve ark. (2007), İzmit'te tüketilen 185 adet peynir örneğinde (102 beyaz peynir, 83 kaşar) Eliza tekniğini kullanarak yapılan çalışmada; 185 adet örneğin 123 tanesinde AFM₁ tespit etmiştir. AFM₁ miktarı 12.31-760.45 ng/kg aralığında değişmektedir. Analiz edilen örneklerin 32 tanesinin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit değerleri aştığı belirlenmiştir.

Tekinşen ve Eken (2008), yapmış oldukları çalışmada Eliza metodunu kullanarak 132 adet kaşar peynirinde yaptıkları çalışmada, peynirlerin %82.6'sı AFM₁ kontaminasyonuna maruz kaldığını belirlemişlerdir. Kaşar peynirlerinde bulunan AFM₁ miktarı 50-690 ng/kg aralığında saptanmıştır. Peynir örneklerinin 36 tanesi Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limitleri aşmış olduğu tespit edilmiştir.

Ardıç ve ark. (2009), Erzurum'da marketlerde satışa sunulan beyaz peynirlerdeki AFM₁ varlığının araştırılmasında Eliza metodu kullanılmıştır. Çalışmada 193 peynir örneği rastgele değişik satış noktalarından temin edilmiş ve AFM₁ varlığı incelenmiştir. Peynirlerin %82.4'ünde AFM₁ bulunduğu görülmüş ve AFM₁ değerlerinin 52-860 ng/kg değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Filazi ve ark. (2010) Şanlıurfa'da koyun sütü kullanılarak üretilen peynirlerdeki AFM₁ varlığını TLC kullanılarak yapılan çalışmada 50 adet peynir örneğinden 14 tanesinde 20-2000 ng/kg arasında AFM₁ belirlenmiştir. 5 adet peynir örneğinin Türk Gıda Kodeksince belirtilen limit değerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Eroğlu (2011), Ege bölgesinde üretilen 10 farklı çeşit peynirden 200 adet peynir örneğini AFM₁ içeriği yönünden ELISA yöntemiyle incelemiştir. Peynir örneklerinde AFM₁ miktarı 0.24 ile 837.5 ng/kg arasında değişmekte olduğunu ve analiz edilen 200 örnekten 8 tanesinin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit değerleri aştığını belirlemiştir.

Konya'da tüketilen geleneksel peynir çeşitlerinden Divle tulum peynirinde aflatoksin M1 (AFM₁) varlığını ve seviyesini ortaya koymak amacıyla halk pazarlarından ve peynir satılan marketlerden alınan 55 peynir örneğinin ELISA tekniği ile AFM₁ analizleri

yapılmıştır. Örneklerin 10 tanesinde (%18.18) 5.15 ng/kg ile 26.44 ng/kg arasında değişen miktarlarda ortalama 10.835 ± 6.70 ng/kg AFM₁ belirlenmiştir. AFM₁ örneklerin 23 tanesinde (%41.82) 5 ng/kg'ın altında bulunurken, 22 tanesinde (%40.0) hiç tespit edilememiştir. Analize alınan örneklerin tamamının Türk Gıda Kodeksi'nde peynirler için verilen maksimum değerin (500 ng/kg) altında AFM₁ içerdiği saptanmıştır (İşleyici ve ark. 2011).

Özgören (2012), 5 çeşit toplam 100 adet yöresel küflü peynirlerden (Erzurum göğermiş peyniri, Konya küflü peyniri, Mersin küflü tulum peyniri, Kayseri küflü çömlek peyniri, Isparta küflü çömlek peyniri) ELİSA yöntemiyle AFM₁ içeriklerini incelemiştir. 100 örnekte yapılan analizler sonucunda örneklerin 52'sinde aflatoksin M₁ tespit etmiştir. Aflatoksin içeren 52 örneğin 19'unun (17 tanesi Mersin küflü tulum peyniri, 2 tanesi Isparta çömlek peyniri) Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit değeri aştığı belirlenmiştir.

2. 4. Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunabilecek Maksimum AFM₁ Limitleri

Süt ve süt ürünleri, insanlar için özellikle de çocuklar için önemli bir besin kaynağıdır. Bu besin kaynağının AFM₁ ile kontamine olması insan sağlığı için büyük risktir. Bu riski azaltmak için birçok ülkede yemlerdeki AFB₁ ve dolayısıyla AFM₁ miktarı belli limitler içinde kontrol altına alınmıştır (Çelik ve ark. 2005).

Ülkeden ülkeye değişmekle birlikte çoğu ülkede AFM₁'in bulunabileceği maksimum limitler düzenlenmiştir . Çizelge 2. 2'de süt ve süt ürünlerinde AFM₁'in dünya çapındaki limit değerleri gösterilmektedir.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) eksper komitesi, gıdalarda bulunması muhtemel aflatoksin düzeyinin minimum değere düşürülmesini önermektedir. Minimum değer, gıdadaki bir madde konsantrasyonunun daha fazla azaltılamayacağı değer olarak tanımlanmaktadır. FAO/WHO eksper komitesi süt ve süt ürünlerinde en fazla bulunabilecek aflatoksin M₁ değerini 0.05 µg/kg olarak belirlemiştir (Rustom 1997).

Çizelge 2. 2. Ülkelere göre süt ve süt ürünleri için AFM₁ limit değerleri (Dasthi ve ark. 2009)

Ülke	Ürünler	AFM ₁ Limitleri (µg/kg)
ABD	Tüm süt ve süt ürünleri	0.50
İsviçre	Çiğ süt	0.05
	Peynir	0.25
	Tereyağı	0.02
Çek Cumhuriyeti	Çiğ süt	0.50
AB	Çiğ süt	0.05
Avusturya	Bebek sütü	0.05-0.01
	Tereyağı	0.02
	Peynir	0.4
	Süt tozu	0.25
Bulgaristan	Çiğ Süt	0.1
	Süt tozu	0.5
Fransa	Bebek sütü	0.03-0.05
Hollanda	Süt ve süt tozu	0.05
	Peynir	0.02
	Tereyağı	0.2
Arjantin	Süt ve süt tozu	0.5
	Süt ürünleri	0.05

Türkiye’de gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum AFM₁ limit değerleri Çizelge 2. 3’te gösterilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde 2011 yılında yapılan değişiklikle süt ürünlerinde bakılacak AFM₁ limiti mevzuattan çıkarılmıştır (Anonim 2011).

Çizelge 2. 3. Türkiye’de gıdalarda bulunabilecek maksimum AFM₁ limitleri (Anonim 2011)

Ürünler	AFM ₁ Limitleri (µg/kg)
Çiğ Süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	0.05
Bebek formülleri ve devam formülleri	0.025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.025

2. 5. AFM₁ Analizinde Kullanılan Yöntemler

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ analizi için ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), HPLC (High Performance Liquid Chromatography), TLC (Thin Layer Chromatography) ve yöntemleri kullanılmaktadır (Applebaum ve ark. 1982). Bu üç yöntem karşılaştırıldığında, ELISA tekniği; ancak 0.25ppb üzerinde AFM₁’i tespit edebilmekte, TLC ve HPLC tekniği; piko gram seviyesi kadar düşük miktarları da tespit edebilmektedir (Diaz ve ark. 1993).

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁’in belirlenmesi için HPLC ile birlikte immuno affinite kolon kullanımının (IAK) başarılı sonuçlar verdiği ifade edilmektedir. Bu yeni, hızlı ve kolay metodun, peynirlerde bulunabilecek küçük miktardaki AFM₁’in belirlenmesini sağladığı bildirilmektedir (Dragacci ve ark. 1995).

3. MATERYAL ve METOT

3. 1. Materyal

Bu çalışmamızda, İç Anadolu Bölgesinde yaygın olarak tüketilen küp peyniri bölgeyi temsilen Ankara, Nevşehir ve Yozgat illerinden yöresel ürün satan şarkütericiler, semt pazarları ve köylerden temin edilen 20'şer adet 1'er kg'lık toplam 60 örnek materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler steril ağzı kapaklı plastik kaplara aseptik şartlar altında alınarak +4°C'lik soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş analiz aşamasına kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Numuneler 2013 yılının Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında toplanmış ve bu süreç içerisinde analizi yapılmıştır

3. 2. Metot

3. 2. 1. Aflatoksin M₁ analizi

3. 2. 1. 1. Örneklerin hazırlanması

Örnekler R-Biopharm App. Note A30-RP71/70N.V1 metoduna göre hazırlanmıştır. Örnekler homojenize edildikten sonra 10 g cam behere tartılmıştır. Bunun üzerine 40 ml hacmen (60/10/30) esetonitril/metanol/su içeren karışım eklenerek Ultra Turrax karıştırıcıda 5 dakika homojenize edilmiştir. Bu karışım 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan kısımdan 10 ml alınmış ve 50 ml tamponlanmış tuz fosfat (PBS) çözeltisiyle seyreltilmiştir. Bu karışım mikrofiber süzgeç kağıdından geçirildikten sonra 2.5 g örnek içerecek şekilde ayarlanan filtrat kolondan 2 ml/dakika akış hızında geçirilmiştir. Burada kolondaki antikorların toksinleri yakalayabilmesi için devamlı ve yavaş akış önemlidir. Daha sonra kolon akış hızı 5 ml/dakika olan 10 ml su ve 10 ml PBS çözeltisi ile yıkanıp, sıvı kalıntısı kalmaması için kolon kurutulmuştur. Kolondan toksinleri tamamen uzaklaştırmak için %100'lük esetonitril ile 1 damlama/saniye olacak şekilde yıkanmıştır. Eluatın kuruluğunu sağlamak için 60 °C'de evaporasyon yapıldıktan sonra 1 ml %20 esetonitril ile sulandırılmış ve bu karışımdan HPLC cihazına 100 µl enjeksiyon yapılmıştır.

3. 2. 1. 2. HPLC analizi ve kalibrasyon eğrisinin çizilmesi

Örneklerin AFM₁ analizi aşağıdaki Çizelge 3. 1’de teknik özellikleri belirtilen HPLC cihazında yapılmıştır.

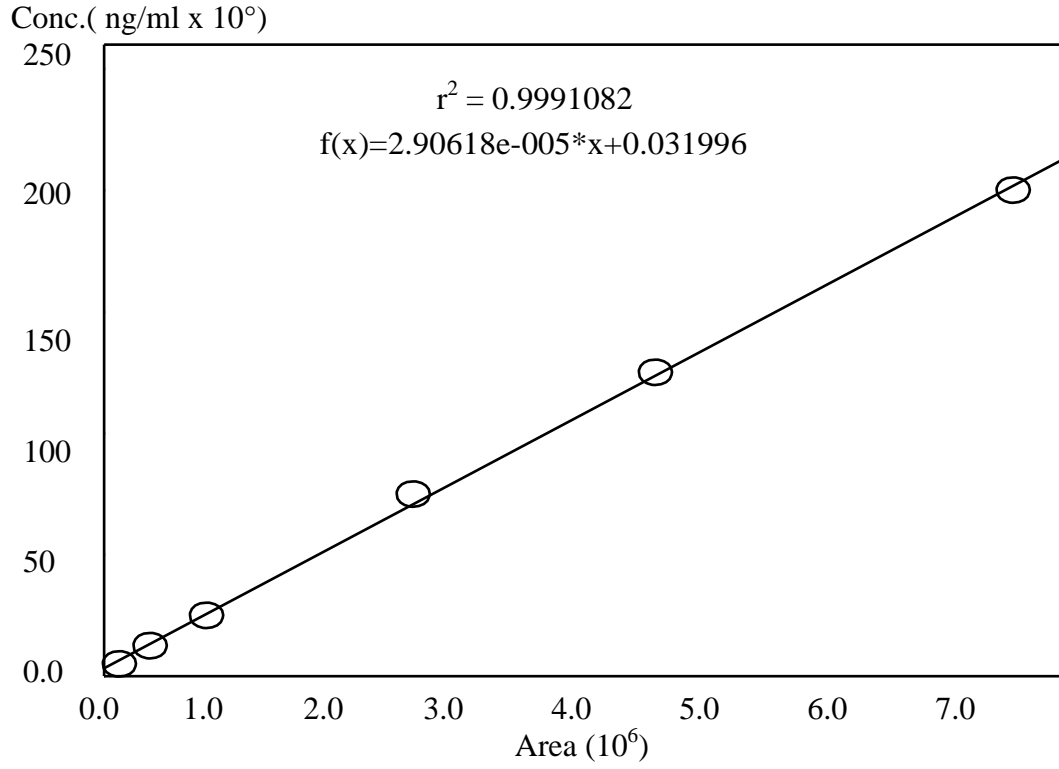
Çizelge 3.1. HPLC cihazı teknik özellikleri

Cihaz adı	Schimadzu LC 20 AT
Kolon	İnertsil ODS-3V 4.6x150 mm
Kolon sıcaklığı	25 °C
Mobil faz	Su:Asetonitril:metanol (68:24:8)
Akış hızı	1.0 ml/dk
Pompa	Mobil faz taşıyıcı
Dedektör	Florasen dedektör Uyarma:36 nm Yayma:430 nm
Enjektör	Otomatik örnekleyici: (0-2000 mikrolitre çekiş kapasitesine sahip)
Enjeksiyon hacmi	100 µl

Aflatoksinin HPLC ile analizi yönteminde doğrusal aralığın ve kalibrasyon eğrisinin saptanması için 50, 100, 150, 200, 250 ng/ml derişim değerlerindeki aflatoksin çözeltileri asetonitril içerisinde hazırlandıktan sonra numunelerin hazırlanması bölümünde anlatıldığı gibi peynir numunelerine eklenerek ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen numune ekstraktı HPLC sistemine enjekte edilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi, her bir derişim değeri için elde edilen AFM₁ pik alanının (A), AFM₁ derişimi değerine karşı işaretlenmesiyle oluşturulmuştur. Uygulanan HPLC yöntemi 50-250 ng/ml AFM₁ derişimi aralığında doğrusaldır. AFM₁ analizi için uygulanan HPLC-fluoresans dedektör yönteminde doğrusal aralık eğri denklemi:

$$f(x)=2.90618e-005*x+0.031996 \text{ ve } r^2 = 0.9991082 \text{ (n=5) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1).}$$



Şekil 3. 1. Kalibrasyon grafiği

Aflatoksinin HPLC ile analizi yönteminin mutlak geri kazanımı, aflatoksin içermeyen peynire eklenmiş ve ekstraksiyon işlemi uygulanan 100 ng/ml derişimlerdeki aflatoksinin ait alan değeri ile asetonitrilde aynı derişimlerde hazırlanan çözeltilerdeki aflatoksin alan değerinin oranının karşılaştırılmasıyla hesaplanmıştır. Geri kazanım %88 (n=5) olarak belirlenmiştir.

3. 2. 2. Kimyasal analizler

3. 2. 2. 1. Kuru madde analizi

Sabit tartıma gelmiş ve darası alınmış kurutma kaplarına paralel olarak yaklaşık 5g peynir tartılıp 100 ± 2 °C'de 4 saat kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartımı alınmıştır. Bulunan değerlerle % kuru madde oranı hesaplanmıştır (Anonim 1987).

3. 2. 2. 2. Yağ analizi

Gerber yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde Gerber peynir bütirometresinin kadehçik kısmının içine tartılmış olan 3 g peynir örneğinin üzerine 10 ml %1.5'luk H_2SO_4 konulmuş ve 70 °C'lik su banyosunda örnek eritilmiştir. Eritilmiş olan örnek üzerine önce 1 ml amil alkol, sonra bütirometrenin 35 ml taksimatına kadar %1.5'luk H_2SO_4 ilave edilecek ve bütirometrenin ağzı lastik tıpayla kapatılıp 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, bütirometre sıkalasından % g olarak yağ miktarı okunmuştur. (Anonim 1983).

3. 2. 2. 3. Kül analizi

Yaklaşık 1 g peynir paralel olarak daha önceden sabit tartıma getirilip darası alınmış porselen krozelere konulmuştur. Daha sonra kül fırınında 550 °C' de kül rengi beyazlaşınca kadar yakılmıştır. Son olarak desikatörde soğutulup, tartımı alınarak % kül oranı hesaplanmıştır (Anonim 1983).

3 .2. 3. İstatiksel analiz

Bu çalışmada, peynir örneklerinden elde edilen değerler arasında fark olup olmadığı SPSS paket programıyla varyans analizi yapılarak kontrol edilmiştir. Önemli bulunan varyasyon kaynaklarının etkilerini belirlemek amacıyla Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmiş ve uygulama grupları arasında farklılık olup olmadığı ortaya konmuştur (SPSS 1999).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4. 1. Aflatoksin M₁ Sonuçları

Yozgat, Nevşehir ve Ankara illerinden alınan örneklerdeki AFM₁ miktarı Çizelge 4. 1'de verilmiştir.

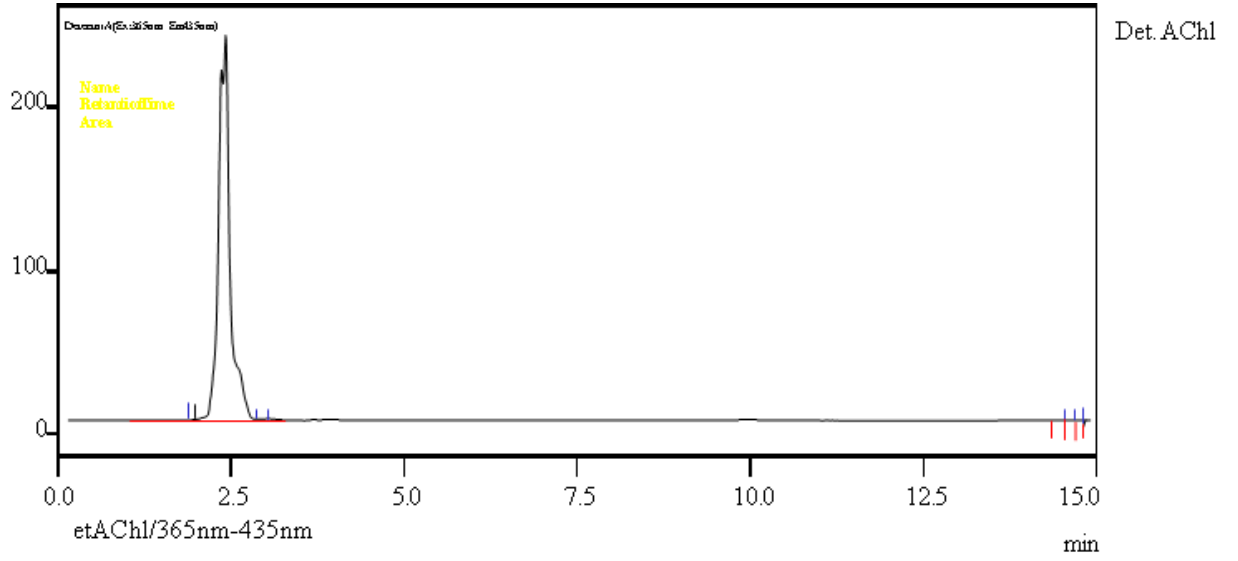
Çizelge 4. 1. AFM₁ Sonuçları (n=2)

Örnek No	Yozgat (µg/kg)	Nevşehir (µg/kg)	Ankara (µg/kg)
1	0.024	0.037	TEDB
2	0.032	TEDB	0.081
3	TEDB	0.023	0.026
4	0.020	TEDB	TEDB
5	TEDB	0.039	TEDB
6	TEDB	TEDB	0.136
7	TEDB	0.026	0.048
8	TEDB	TEDB	0.060
9	TEDB	0.023	0.019
10	TEDB	TEDB	0.068
11	TEDB	0.026	0.024
12	0.020	0.029	TEDB
13	TEDB	0.025	0.066
14	0.027	0.024	TEDB
15	TEDB	TEDB	0.016
16	0.026	TEDB	TEDB
17	TEDB	TEDB	TEDB
18	TEDB	TEDB	TEDB
19	TEDB	TEDB	TEDB
20	TEDB	TEDB	TEDB
En Düşük	0.020	0.023	0.016
En Yüksek	0.032	0.039	0.136
Ortalama	0.024	0.028	0.054
Standart Sapma	0.0045	0.0059	0.036

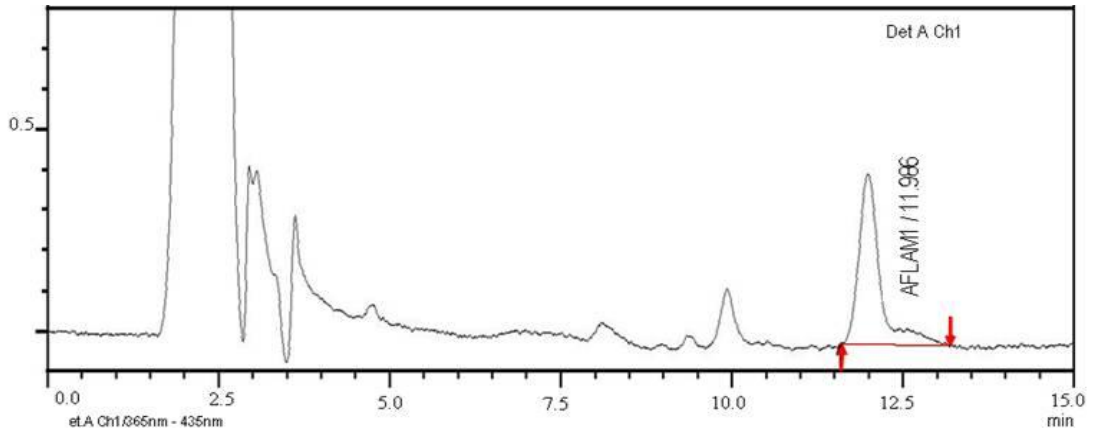
TEDB : Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı

Bu sonuçlara göre Yozgat küp peynirinde 6 örmekte %30 oranında AFM₁ bulunmuştur. Bu örneklerin AFM₁ içeriği 0.020 ile 0.032 (µg/kg) arasında değişim göstermiş ve ortalama 0.024 (µg/kg) olmuştur. Nevşehir küp peynirinde 9 örmekte %45 oranında AFM₁ bulunmuştur. Bu örneklerin AFM₁ içeriği 0.023 ile 0.039 (µg/kg) arasında değişim göstermiş

ve ortalama 0.028 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) olmuştur. Ankara küp peynirinde 10 örnekte %50 oranında AFM_1 bulunmuştur ve bu örneklerin AFM_1 içeriği 0.016 ile 0.136 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) arasında değişim göstermiş ve ortalama 0.054 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) olmuştur. Yine Ankara örneklerinin 5 tanesinin Dünya Sağlık Örgütü'nün peynirlerde bulunmasına izin verilen limiti geçtiği görülmüştür. Bu örneklerin AFM_1 belirlenemeyen örneğe ait kromatogram Şekil 4. 1'de, AFM_1 içeriği en yüksek örneğe ait kromatogram ise Şekil 4. 2'de verilmiştir.



Şekil 4. 1. AFM_1 tespit edilemeyen peynir örneğini kromatogramı



Şekil 4. 2. AFM_1 içeriği en yüksek örneğe ait kromatogram (0.136 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

AFM₁ ile kuru madde, yağ ve kül değerleri arasındaki etkileşimini tespit etmek ayrıca bölgelere göre örneklerin değişim ilişkisini anlamak amacıyla korelasyon analizi yapılmış ve Çizelge 4. 2’de gösterilmiştir.

Korelasyon analizinde elde edilen verilerin istatistiksel analizinde peynir örneklerinin; AFM₁ düzeyi ile yağ oranı arasında $r=-(0,233)$ düzeyinde ters yönlü bir ilişki bulunmuştur. AFM₁ ile diğer kimyasal değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir bağlantı görülmemiştir. AFM₁’in bölgelere göre pozitif değişim gösterirken ($r=0,321$), yine örneklerle de pozitif bir değişim göstermiştir ($r=0,330$).

Çizelge 4. 2. Örneklerin birbiriyle ve bölgelerle ilişkisini gösteren korelasyon tablosu

		Bölge	Örnek	Kuru Madde	Yağ	Kül	AFM₁
Bölge	r						
	a						
	b						
Örnek	r	,000					
	a	1,000					
	b	120					
Kuru Madde	r	,000	,122				
	a	,999	,185				
	b	120	120				
Yağ	r	-,582**	,001	,524			
	a	,000	,994	,000			
	b	120	120	120			
Kül	r	-,081	-,205*	-,031	,007		
	a	,000	,025	,737	,943		
	b	120	120	120	120		
AFM₁	r	,321**	,330**	-,078	-,233*	,112	
	a	,000	,000	,397	,010	,223	
	b	120	120	120	120	120	

*Korelasyon katsayısı 0,05 düzeyinde önemli

r: korelasyon katsayısı

**Korelasyon katsayısı 0,01 düzeyinde önemli

a: önem

b: örnek

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz değerler; Tekinsen ve Tekinsen (2005)'in Van otlı peyniri ve salamura peynirlerde AFM₁ içeriğine yönelik yaptıkları çalışmaya göre daha düşük bulunmuştur.

Filazi ve ark. (2010)'nın Şanlıurfa'da koyun sütü kullanılarak üretilen peynirlerdeki AFM₁ varlığını üzerine yaptıkları çalışmaya göre bizim yaptığımız çalışmaya daha düşük bulunmuştur.

Eroğlu (2011)'nin Ege bölgesinde üretilen 10 farklı çeşit peynirden 200 adet peynir örneğini AFM₁ içeriği yönünden inceledikleri çalışmaya göre çalışmamızda bulduğumuz değerler daha düşüktür.

Özgören (2012)'nin 5 çeşit toplam 100 adet yöresel küflü peynirin (Erzurum göğermiş peyniri, Konya küflü peyniri, Mersin küflü tulum peyniri, Kayseri küflü çömlek peyniri, Isparta küflü çömlek peyniri) AFM₁ içeriklerini belirledikleri çalışmaya göre çalışmamızda elde ettiğimiz değerler daha düşük bulunmuştur.

4. 2. Kimyasal Analiz Sonuçları

4. 2. 1. Kuru madde miktarı (%)

Yozgat, Nevşehir ve Ankara illerinden alınan örneklerdeki kuru madde miktarı sonuçları Çizelge 4. 3'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre Yozgat küp peynirinde kuru madde miktarı % 50.45 ile %66.61 arasında değişim göstermiş ve ortalama %59.40, Nevşehir küp peynirinde kuru madde miktarı % 57.09 ile %61.41 arasında değişim göstermiş ve ortalama %59.10, Ankara küp peynirinde ise kuru madde miktarı % 55.65 ile %62.00 arasında değişim göstermiş ve ortalama %59.40 bulunmuştur.

Çizelge 4. 3. Kuru madde miktarı sonuçları (%) (n=2)

Örnek No	Yozgat (%)	Nevşehir (%)	Ankara (%)
1	58.71	61.06	55.65
2	58.99	61.41	57.47
3	60.40	60.58	56.90
4	61.01	58.67	58.40
5	51.09	59.49	57.88
6	50.45	58.53	58.56
7	65.04	58.40	58.29
8	65.18	57.09	57.71
9	66.40	57.41	60.29
10	66.61	58.66	59.40
11	57.80	59.25	61.23
12	58.61	57.66	62.00
13	59.05	57.66	61.47
14	59.79	59.26	59.60
15	58.19	59.68	60.16
16	58.27	58.34	60.80
17	58.40	58.62	59.80
18	57.14	60.12	61.05
19	57.95	59.86	59.85
20	58.86	60.28	61.47
En Düşük	50.45	57.09	55.65
En Yüksek	66.61	61.41	62.00
Ortalama	59.40	59.10	59.40
Standart Sapma	4.14	1.19	1.71

Çalışmamızda elde ettiğimiz kuru madde değerleri bu konuda geleneksel peynirlerin kuru madde miktarının belirlenmesi üzerine daha önce yapılmış olan; Çakmakçı (1998)'nin Erzincan Şavak tulum peyniri, Atasoy ve Akın (2005)'nin taze Urfa peyniri ve Özgören (2012)'nin Mersin küflü tulum peyniri üzerine yaptıkları çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur.

4. 2. 2. Yağ miktarı (%)

Yozgat, Nevşehir ve Ankara illerinden alınan örneklerdeki kuru madde miktarı sonuçları Çizelge 4. 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. 4. Yağ miktarı sonuçları (%) (n=2)

Örnek No	Yozgat (%)	Nevşehir (%)	Ankara (%)
1	33.00	31.00	30.09
2	31.00	30.32	30.73
3	36.00	31.37	30.81
4	35.00	30.10	30.73
5	29.41	29.47	29.75
6	29.50	29.15	29.58
7	37.00	29.63	30.25
8	38.00	28.87	28.92
9	39.46	29.53	30.10
10	39.34	29.42	30.95
11	38.65	29.36	30.80
12	39.00	29.84	30.65
13	34.00	28.96	29.64
14	32.25	30.36	31.20
15	33.00	31.28	31.87
16	33.45	29.70	29.44
17	33.00	30.01	30.70
18	32.00	30.98	31.52
19	32.25	30.12	30.00
20	32.00	30.94	31.21
En Düşük	29.41	28.87	28.92
En Yüksek	39.46	31.37	31.87
Ortalama	34.37	30.02	30.45
Standart Sapma	3.20	0.75	0.74

Bu sonuçlara göre Yozgat küp peynirinde yağ miktarı % 29.41 ile %39.46 arasında değişim göstermiş ve ortalama %34.37 olarak, Nevşehir küp peynirinde yağ miktarı % 28.87 ile %31.37 arasında değişim göstermiş ve ortalama %30.02 olarak, Ankara küp peynirinde yağ miktarı % 28.92 ile %31.87 arasında değişim göstermiş ve ortalama %30.45 olarak bulunmuştur. İller arasındaki yağ oranı farklılığının nedenin peynire işlenecek bazı süt örneklerinin işleme öncesi yağının alınması olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz yağ değerleri bu konuda geleneksel peynirlerin yağ miktarının belirlenmesi üzerine daha önce yapılmış olan; Çakmakçı ve ark.(1998)'nin Şavak tulum peynirinde, Atasoy ve Akın (2005)'nin taze Urfa peynirinde ve Özgören (2012)'nin Mersin küflü tulum peynirinde yaptıkları çalışmaya göre yüksek bulunurken, Altun ve Akyüz (1998)'ün Kahramanmaraş yöresindeki Kelle peynirinde yaptıkları çalışmayla paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

4. 2. 3. Kül Miktarı (%)

Yozgat, Nevşehir ve Ankara illerinden alınan örneklerdeki kül miktarı sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre Yozgat küp peynirinde kül miktarı % 4.62 ile %6.32 arasında değişim göstermiş ve ortalama %5.51 olarak, Nevşehir küp peynirinde kül miktarı % 4.52 ile %5.82 arasında değişim göstermiş ve ortalama %5.20 olarak ve Ankara küp peynirinde kül miktarı % 4.19 ile %6.30 arasında değişim göstermiş ve ortalama %5.40 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda elde ettiğimiz kül değerleri bu konuda geleneksel peynirlerin kül miktarının belirlenmesi üzerine daha önce yapılmış olan; Akın ve Şahan (1998)'nin salamurada olgunlaştırılan taze Urfa peynirlerinde yaptıkları çalışmadan yüksek bulunurken; Tekinşen ve ark. (1996)'nin Erzurum ili ve çevresinden toplanan Civil peyniri ile Tarakçı ve ark. (2005)'nin inek sütünden üretilerek cam kavanozlarda olgunlaştırılan tulum peynirinde yaptıkları çalışma sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Çizelge 4. 5. Kül miktarı sonuçları (%) (n=2)

Örnek No	Yozgat (%)	Nevşehir (%)	Ankara (%)
1	5.46	4.90	4.19
2	5.14	5.10	4.42
3	6.23	5.46	4.38
4	5.98	5.82	5.59
5	6.12	5.81	6.07
6	6.20	5.75	6.20
7	6.12	5.79	6.17
8	6.10	5.82	6.26
9	5.40	5.34	6.30
10	4.88	4.94	5.50
11	4.81	4.85	5.66
12	4.70	4.70	5.05
13	4.70	4.52	5.07
14	4.81	4.87	5.24
15	6.25	5.41	5.44
16	6.32	5.57	5.72
17	5.79	4.77	5.20
18	5.05	5.08	5.44
19	4.62	4.60	4.99
20	5.55	4.89	5.04
En Düşük	4.62	4.52	4.19
En Yüksek	6.32	5.82	6.30
Ortalama	5.51	5.20	5.40
Standart Sapma	0.61	0.44	0.62

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Geleneksel yöntemlerle elde edilen peynirler ülkemizde yaygın olarak tüketilmektedir. Ancak bu peynirlerin sanayide işlenen peynirlere kıyasla kontrolsüz şartlarda ve içeriği tam olarak bilinmeyen sütlerle yapılması nedeniyle potansiyel olarak daha büyük risk taşımaktadır. Yöresel İç Anadolu küp peynirinin AFM₁ içeriği incelenerek bu konudaki literatür eksikliği ve herhangi bir risk olup olmadığı değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamıza göre Yozgat'tan alınan örneklerde %30 oranında 0.020-0.032 µg/kg aralığında, Nevşehir örneklerinde %45 oranında 0.023-0.039 µg/kg aralığında, Ankara örneklerinde %50 oranında 0.016-0.136 µg/kg aralığında değişen miktarda AFM₁ bulunmuştur. Ülkemizdeki bulaşanlar tebliğinden peynirde AFM₁ limiti çıkarıldığı için herhangi bir kıyaslama yapılamamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün süt ve süt ürünlerinde bulunmasına izin verilen maksimum limit olan 0.05 µg/kg değerini geçen 5 adet örnek olmuştur. Peynirlerde AFM₁ ile ilgili daha önce yapılan çalışmalara kıyasla çalışmamızdan elde ettiğimiz değerler daha düşük bulunmuştur. Bunda peynirlerin yaz mevsiminde üretilmiş olması ve coğrafi olarak İç Anadolu Bölgesi'nden alınmış olmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız sadece bir bölgedeki illeri kapsadığından, peynirlerde bulunan değerler aynı zamanda örnek alınan bölgedeki illerin sütlerinin AFM₁ içeriğini de yansıtmaktadır.

Ancak yaptığımız çalışmanın belli bir bölgeyi ve zaman dilimini kapsamı ayrıca ülkemizde yem ve süt kalitesi hakkında sağlıklı bilgiler olmaması nedeniyle, Türk Gıda Kodeksi'ndeki peynirlerde bulunabilecek maksimum AFM₁ limit değerinin yeniden konulması ile bu ürünlerdeki AFM₁ içeriğinin belirlenmesinin tüketici sağlığı açısından önem taşıdığını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- Applebaum RS, Brackett RE, Wiseman, DW, Marth EH (1982). Aflatoxin: Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. *Journal of Food Protection*, 45(8): 752-777.
- Akın SM, Şahan N (1998). Şanlıurfa’da üretilen taze Urfa peynirlerinin kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma.
- Akyüz N ve Gülümser S (1984). Yozgat Çanak Peynirinin Yapılışı, Bileşimi ve Olgunlaştırılması. *Gıda*, 9 (4);231-236.
- Altun Ş, Akyüz N. (1998). Kahramanmaraş-Elbistan bölgesinde üretilen kelle peynirinin bileşimi, teknik ve hijyenik özellikleri üzerine bir araştırma, süt ve süt ürünleri sempozyumu.
- Anonim (1983). Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metodları. T.C. Tarım, Orman ve Köyşleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Ankara.
- Anonim (1987). Peynir ve İşlenmiş Peynir- Toplam Katı Madde Tayini (ReferansMetod). Türk Standartları Enstitüsü, 5311, Ankara.
- Anonim (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğı. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm> (01.01.2014).
- Ardic M, Karakaya Y, Atasever M, Adiguzel G. (2009). Aflatoxin M1 Levels of Turkish White Brined Cheese, *Food Control*, 20: 196–199.
- Atasoy FA, Akın SM (2005). Şanlıurfa İlinde Satışa Sunulan Urfa Peynirlerinin Bazı Kimyasal Özellikleri ve Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *HR. Ü.Z.F.Dergisi*, 8(3/4):9-15.
- Ayçiçek H, Aksoy A, Saygı İ (2005). Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products Which Consumed in Ankara Turkey, *Food Control*, 16 (2005): 263–266.
- Bailey GS, Price RL, Park DL, Hendricks JD (1984). Effect of Ammoniation of Aflatoxin B1 Contaminated Cottonseed Feedstock On The Aflatoxin M1 Content of Cows’ Milk And Hepatocarcinogenicity In The Trout Bioassay, *Food Chemistry Toxicology*, 32(8) 2:707-715.
- Bakırcı I (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12: 47-51.
- Barbieri G, Bergamini C, Ori E, Resca P (1994). Aflatoxin M1 in Parmesan Cheese: HPLC determination, *Journal Food Science*, 59(6): 1313-1331.
- Brackett RE and Marth EH (1982). Fate of aflatoxin M1 in Cheddar cheese and in process cheese spread. *Journal of Food Protection*: 45(6); 549-552.

- Bullerman LB (1979). Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health, *Journal of Food Science*, 42(1): 65-86.
- Choudhary PL, Sharma RS, Borkhartria VN (1998). Effect of chilling and heating on aflatoxin M1 content of contaminated Indian cow's milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26(1): 223-229.
- Creppy EE. (2002). *Toxicology Lett.* 127: p.19.
- Çakmakçı S. (1998). Erzincan tulum (şavak) peynirinin geleneksel metotla üretimi ve üretim teknolojisinin geliştirilmesi, *Süt ve süt ürünleri sempozyumu*.
- Çelik TH, Sarımehtemoğlu B, Küplülü Ö (2005). Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurised Milk, *Veterinarski arhiv*, 75(1): 57-65.
- Dashti B, Al-Hamli S, Alomirah H, Al-Zenki S, Abbas A, Sawaya W. (2009). Levels of aflatoxin M1 in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed, *Food Control* 20: 686–690.
- Diaz S, Moreno MA, Dominguez L, Suarez G. and Blanco JL, (1993). Application of a Diphasic Dialysis Technique to the Extraction of Aflatoxins in Dairy Products, *J. Dairy Sci*, 76: 1845-1849.
- Dincoğlu AH, Gonulalan Z, Kok F (2007). Determination of Aflatoxin M1 Levels in Cheese Sold in Gzmit Province, *Lucrări Ştiinţifice Medicină Veterinară Vol. 9, Timişoara*.
- Doyle MP, Applebaum RS, Brackett RE, Marth EH (1982). Physical, Chemical and Biological Degradation of Mycotoxins in Foods and Agricultural Commodities. *J Food Protect*, 45(10):964-971
- Eroğlu A (2011). Ege Bölgesinde Tüketilen Bazı Geleneksel Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Düzeyinin Belirlenmesi. *Y.Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa*.
- Filazi A, Ince S, Temamoğulları F. (2010). Survey Of The Occurrence Of Aflatoxin M1 in Cheeses Produced by Dairy Ewes Milk in Urfa City, Turkey, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 57: 197-199.
- Frobish RA, Bradley BD, Wagner DD, Hairson H (1986). Aflatoxin residues in milk of dairy cows after ingestion of naturally contaminated grain. *J. Food Prot*, 49(10): 781-785.
- Galvano F, Galofaro V, Galvano G (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59 (10): 1079-1090.
- Gürses M, Erdoğan A, Çetin B. (2004). Occurrence Of Aflatoxin M₁ in Some Cheese Types Sold in Erzurum, *Turk J Vet Anim Sci*, Turkey, 28: 527-530.
- Holcomb M, Wilson DM, Trucksess MW, Thompson HC (1992). Determination of aflatoxins in food products by chromatography, *Journal of Chromatography*, 624: 341-352.

- İşleyici Ö, Sancak Y C, Morul F (2011) Divle Tulum Peynirinde Aflatoksin M₁ Düzeyi Üzerine Bir Araştırma YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 2011, 22 (2), 105 - 110
- Jay JM (1992). Other Proved and Suspected Food Borne Agents. *Mycotoxins, Modern Food Microbiology*, 4: 641-651.
- Lopez, C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L, Perez J. (2001). Distribution of aflatoxin M₁ in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Int. Journal Food Microbiology*, 64: 211-215.
- Lopez CE, Ramos LL, Ramadan S, Bulacio LC (2003). Presence of Aflatoxin M₁ in milk for human consumption in Argentina. *Food Cont.*, 14: 31-34.
- Özbek E (2006). Marmara Bölgesi Askeri Birliklerinde Tüketime Sunulan Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özgören E (2012). Türkiye'de Ticari Ölçekte Üretilen Bazı Küflü Peynirlerin Toplam Aflatoksin, Aflatoksin M₁ ve Okratoksin a Düzeylerinin Belirlenmesi. Y.Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Peraica M, Radiç B, Luciç A, Pavloviç M (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(9): 754-766.
- Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G (2009). On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 984-991.
- Rastrogi S, Dwivedi PD, Khananna SK ve Das M (2003). Detection of aflatoxin M₁ contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 15(4): 287-290.
- Rustom IYS (1997). Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1); 57-67.
- Sarımehmetoğlu B, Küplülü Ö ve Çelik TH (2003). Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 1: 45-49.
- Scott PM (1984). Effects of Food Processing in Mycotoxins, *Journal food protection*, 47(6): 489-499.
- Shreeve BJ and Patterson DSP (1975). Mycotoxicosis, *Veterinary Rec.*, 97: 279-280.
- SPSS (1999). SPSS 10.0 for Windows, Statistical Software, SPSS Inc., Chicago.
- Tarakçı Z, Erdoğan Küçüköner E, Sancak H, Ekici K, (2005). İnek Sütünden Üretilerek Cam Kavanozlarda Olgunlaştırılan Tulum Peynirinin Bazı Özellikleri, *YYÜ Vet Fak Dergisi*, 16(1): 9-14.

- Tekinsen K, Tekinsen C. (2005). Aflatoxin M₁ in white pickle and Van otlu (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey, *Food Control* 16: 565–568.
- Tekinsen K.K ve Eken HS (2008). Aflatoxin M₁ Levels in UHT Milk and Kashar Cheese Consumed in Turkey, *Food And Chemical Toxicology*, 46: 3287–3289.
- Tekinşen O, Atasever M, Keleş A (1996). Civil Peynirinin Kimyasal ve Organoleptik Özellikleri. *Vetetiner Bilimler Dergisi*, 12: 65-71.
- Van Egmond HP, Svensson UK, Fremy, JM (1997). Residues and contaminants in milk and milk products.- Mycotoxins. *International Dairy Federation Special Issue 9701*, 112 p., Germany.
- Van Egmond H.P and Paulsch W E (1986). Mycotoxins in milk and milk products. *Netherland Milk Dairy J.*, 40: 175-188.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Gaziantep’te doğdu. İlköğretim ve liseyi Ankara’da tamamladı. 2009 yılında Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden mezun oldu. 2011 yılından beri İstanbul Büyükşehir Belediyesi’nde Gıda Mühendisi olarak çalışmaktadır.