

BAZI KARMA YEM VE KARMA YEM HAM MADDELERİNİN AFLATOKSİN YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI

Selahattin Sert (1)

ÖZET

Bu araştırmada, Erzurum Yem Fabrikasından 4 aylık aralarla 3 defa örnekler alınmıştır. Bu örnekler, Türkiye'de üretimi en fazla olan sığır-koyun besi, süt ve yumurta karma yemleri ile, karma yem hazırlanmasında kullanılan buğday, arpa, mısır, darı kaba unları; pamuk tohumu, soya fasulyesi, şeker pancarı küspeleri ve et-kemik unu hammaddeleridir.

Aflatoksin analizinde ince tabaka kromatografisi yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemin aflatoksin B₁ için duyarlılık sınırı 1-2 ppb dir. Yapılan analizler sonucunda karma yem ve ham maddesi örneklerinin hiç birisinde izlenebilir miktarda aflatoksine rastlanamamıştır.

Karma yem ve ham maddesi örneklerinde aflatoksin bulunmaması sevindirici bir durum olarak değerlendirilmiştir.

1. GİRİŞ

Hayvanların sağlıklı yaşayabilmeleri için, yeterli ve dengeli beslenmesi şarttır. Karma yemler hayvanların ihtiyaç duyduğu çeşitli vitamin, mineral, protein, karbonhidrat gibi maddeleri içerirler. Bu nedenle hayvanların, yeterli ve dengeli beslenmesinde, ürünlerinin miktar ve kalitesinin artırılmasında karma yemlerin önemli bir yeri vardır. Bu durumun anlaşılmasından sonra karma yeme olan talep çoğalmış, buna paralel olarak karma yem üretimi de gün geçtikçe artmıştır. Nitekim ülkemizde karma yem üretimi 1960 da 5791 ton iken, 1970 de 218 075 ton olmuş, 1980 de 1 448 991 tona ulaşmış; 1985 yılında ise 3 490 000 ton olması planlanmıştır (Koca, 1980; Üstünsoy, 1981).

Hayvan beslenmesinde bu kadar kıymetli olan karma yemler, mikroorganizmaların gelişip çoğalabilmeleri için de çok iyi bir ortam teşkil ederler. Bu yemler, uygun olmayan depolama şartlarında küflerin hücumuna uğrarlar. Kısa zamanda bo-

(1) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım ürünleri teknolojisi bölümü doçenti.

zularak üstün besin değerini kaybederler. Küfler, sadece yemlerin besin değerini kaybetmekle kalmazlar. Onları, hayvanlar için zararlı ve zehirli bir duruma da getirirler. Çünkü, bazı küfler üredikleri ortamda, metabolizma ürünü olarak, "mikotoksin" denilen zehirli maddeler bırakırlar. Bugün 250 den fazla küf türünün mikotoksin ürettiği ve bunlardan 20 kadarının önemli zehirlenmelere sebep olduğu bilinmektedir.

Mikotoksinler içinde insan ve hayvan sağlığı açısından en tehlikelisi, *A. flavus* ve *A. parasiticus* isimli küf türleri tarafından meydana getirilen, "aflatoksin" lerdir. Aynı zamanda aflatoksinler bilinen kanserojenik maddelerin de en etkilisidir.

Ülkemizde hayvan yetiştiricilerinin mikotoksinler konusunda yeterince bilgi sahibi olmamaları ve genel olarak yem darlığı nedeniyle, küflü yemlerin hayvanlara yedirilmesinde bir sakınca görülmemektedir. Halbuki, küflü yemlerde bulunması muhtemel olan aflatoksinler, hayvanlarda yüksek dozlarda akut zehirlenme, düşük dozlarda ise, büyümenin yavaşlaması, yemden istifadenin azalması ve verimin düşmesi, kan tablosunda, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında bozukluklar, yaralanma ve bulaşıcı hastalıklara aşırı duyarlılık gibi olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Bunun sonucu olarak, boyutları kesin olarak saptanamasa da, büyük ekonomik zararlar meydana gelmektedir. Öte yandan, hayvanlar tarafından alınan aflatoksinlerin karaciğer ve kas dokularında birikmesi, süte ve yumurtaya geçmesi, insan ve hayvan sağlığı açısından, konunun önemini bir kat daha artırmaktadır.

2. KAYNAKLARIN ÖZETİ

Aspergillus flavus ve *A. parasiticus* küf türleri, karma yemler ve karma yem ham maddesi olarak kullanılabilen yer fıstığı, fındık, pamuk tohumu, ayçiçeği tohumu küspeleri, mısır, soya fasulyesi, buğday, arpa, yulaf, çavdar, darı gibi tarımsal ürünler üzerinde kolaylıkla gelişerek aflatoksin üretebilirler.

Karma yemler üzerinde aflatoksin ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. St-zelecki ve Gasiorowska (1974), 306 yem örneğini aflatoksin yönünden incelemişler ve sığır ile koyun yemlerinin yalnız 1 inde 30 ppb, kümes hayvanları yemlerinin 1 inde 30 ppb oranında aflatoksin bulunduğunu bildirmişlerdir. Shreeve ve ark. (1975), yaptıkları araştırmada, karma süt yemlerinde 0,04 ppm aflatoksin B₁ ve G₁, arpa örneklerinde 0.05 ppm B₁, 0.20 ppm G₁ tesbit etmişlerdir. Seibold ve Ruch (1977), 60 karma yem örneğinin sadece birinde 20 ppb aflatoksin bulmuşlardır. Demirer ve ark. (1979) tarafından, piyasada satılmakta olan karma yem ve ham maddelerinden 92 örnek üzerinde aflatoksin analizleri yapılmıştır. İnce tabaka kromatografisi yöntemiyle yapılan incelemelerde, örneklerin sadece birisinde 30 ppb miktarda aflatoksin B₁ bulunmuş ayrıca, bu örnekten aflatoksin üretme yeteneğine sahip olan *Aspergillus flavus* Link suşu izole edildiği bildirilmiştir. Ne-

alakantan ve ark. (1981)'nın Hindistan'daki çalışmalarında, 60 karma yem örneğinin 19 unda ortalama 11 ppb. aflatoksin B₁ saptanmıştır.

Karma yem hammaddesi olarak kullanılabilen çeşitli ürünler üzerinde de, çok sayıda araştırmacı aflatoksin analizleri yapmıştır. Bunlardan Shotwell ve ark. (1969 a), 1368 buğday, sorgum ve yulaf örneğinin 11 inde, 2-19 ppb aflatoksin tesbit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 1311 mısır örneğinin 35 inde 3-19 ppb aflatoksin B₁, 5 inde 2-8 ppb G₁, 866 soya fasulyesi örneğinin 2 sinde 7-10 ppb B₁, 0.4 ppb G₁ saptamışlardır (Shotwell ve ark., 1969 b).

Girgis ve ark. (1977), Mısır'ın farklı bölgelerinden topladıkları buğday, mısır, fasulye, mercimek, hayvan yemi olarak kullanılan pamuk tohumu örneklerinde, 3-12 ppb arasında aflatoksin tesbit etmişlerdir.

Shotwel ve ark. (1977) A.B.D. nin 5 eyaletinden 102 buğday örneği 8 eyaletinden 108 soya fasulyesi örneği üzerinde yaptıkları taramada, hiçbir örnekte aflatoksine rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde yetişen buğday, arpa, mısır, yulaf, çavdar gibi tahıllarda aflatoksin arama çalışmaları yapan Güray ve ark. (1978), 41 buğday örneğinin 10 unda, 43 arpa örneğinin 6 sında, 10 çavdar ve 33 mısır örneğinin 1 inde aflatoksin saptamışlardır.

Denizel (1979), Ordu ve Sakarya illerinden sağlanan 41 mısır örneğinin 5 inde 20 ppb nin altında, 13 ünde 30 ile 1000 ppb. arasında aflatoksin (B₁+G₁) bulunduğunu bildirmiştir.

Buğday, un ve ekmekte aflatoksin oluşumu ve stabilitesi üzerinde çalışan Atlı ve Köşker (1980), 72 buğday örneğinin sadece birinde 1.5 µg/kg oranında aflatoksin B₁ tesbit etmişlerdir. Güray ve Vural (1968), 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen ve sağlığa zararlı miktarlarda aflatoksin ihtiva ettiği gerekçesiyle geri gönderilen fındıklardan alınan örneklerin % 20 sinde aflatoksin saptamışlardır.

Çolakoğlu ve Ünal (1974), 13 fındık, 20 yer fıstığı, 4 pamuk tohumu ve 1 zeytin örneği üzerinde yaptıkları analizlerde, hiçbir örnekte aflatoksine rastlayamamışlardır.

Elli ayçiçeği tohumu örneğinin 14 ünden aflatoksin izole eden Dalcero ve ark. (1981), bu örneklerin 3 ünde yüksek oranda (357, 286, 71ppb), 11 inde ise 20-30 ppb aflatoksin bulunduğunu kaydetmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. MATERYAL

3.1.1. Yem Örnekleri

Materyal olarak, Erzurum Yem Fabrikasından 4 aylık aralıklarla 3 defa örnekler alınmıştır. Bu örnekler Türkiye'de üretimi en fazla olan sığır-koyun

besi, süt ve yumurta karma yemleri ile, karma yem hazırlanmasında kullanılan buğday, arpa, mısır, darı kaba unları; pamuk tohumu, fındık, ayçiçeği tohumu, soya fasulyesi, şeker pancarı kspleri; ve et-kemik unu ham maddeleridir.

3.1.2. Aflatoksin Standartları

Aflatoksin B₁ ve G₁ standartları "Food and Drug Administration, Washington, D.C. 20204, USA" adresinden temin edilmiştir.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Aflatoksin Analizi

Aflatoksin analizinde Pons ve ark. (1966, 1972) tarafından, tarımsal ürünler ve karma yemler için önerilen aflatoksin analiz yöntemleri uygulanmıştır. Bu yöntemlerin aflatoksin B₁ için duyarlılık sınırı 1-2 ppb. (milyarda kısım) dır.

3.2.2. Ekstraksiyon

Karma yem yapımında kullanılan un halindeki ham maddeler doğrudan doğruya, karma yemler ise Waring Blenderde 20 sn parçalandıktan sonra, çapı 2 mm olan bir elekten geçirilmiştir. 50 şer g tartılarak 500 ml lik erlenlere konulan örneklerin üzerine 250 ml % 70 lik aseton ilave edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılarak mekanik çalkalayıcıda 30 dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Karışım süzgeç kağıdından süzülerek 150 ml ekstrakt alınmış üzerine 60 ml destile su 20 ml kurşun asetat çözeltisi ilave edildikten sonra su banyosunda hacim 150 ml ye düşünceye kadar kaynatılmıştır. Ekstrakt 4 g Celite 545 (Firma, Serva) ile iyice karıştırıldıktan sonra szlmş ve filtre kağıdı üzerinde kalan Celite, 60 ml % 20 lik aseton ile yıkanmıştır. Szlen ekstrakt 250 ml lik ayırma hunisinde 50 ml kloroform ile 2 defa 1 er dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Alttaki kloroform fazı alınarak rotasyon evaporatöründe hacim 2-3 ml kalıncaya kadar buharlaştırılmıştır.

3.2.3. Kolon Kromatografisi

Ekstraktin saflaştırılması için uygulanan bu safhada, 35x300 mm boyutlarında kolon kullanılmıştır. Dip kısmına bir miktar cam yn sıkıştırılmış kolon sırasıyla, 2 cm susuz Na₂SO₄, 10 g silika jel 60 (Merck No. 7734), 2 cm susuz Na₂SO₄ ile doldurulmuştur. Rotasyon evaporatörde 2-3 ml ye kadar buharlaştırılan ekstrakt üzerine 10 ml kloroform konularak cam balon iyice yıkanmış ve hazırlanan kolona aktarılmıştır. 100 ml eter ile yıkanan kolona, aflatoksinlerin alınması için, 150 ml % 3 k metanol-kloroform ilave edilmiştir. Ayrı bir kapta toplanan % 3 lk metanol-kloroform rotasyon evaporatörde yaklaşık 2 ml ye kadar buharlaştırılmıştır. Evaporatör balonu bir miktar kloroform ile yıkanarak küçük bir tüpe alınmıştır. Azot gazı atında içindeki kloroformu tamamen uçurulan tüpler, ağızları iyice kapatılarak, -18°C de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile Kalitatif ve Kantitatif Aflatoksin Tayini

İTK için laboratuvarında hazırlanan plakalar kullanılmıştır. 250 ml lik ağzı kapalı erlenmayere 30 g silikajel-G (Merck No. 7731) ve 60 ml destile su konulmuştur. Bir dakika kuvvetlice çalkalandıktan sonra ince tabaka yayıcısına (Desega, Heidelberg) dökülmüş ve 0.25 mm kalınlığında ince tabaka plakaları elde edilmiştir. Plakalar 105°C de 2 saat aktive edilerek desikatörde saklanmıştır.

Azot gazı altında kurutulmuş -18°C de saklanan örnek ekstraktları, üzerine 500 µl benzen-asetonitril (98+2) konularak bir dakika karıştırılmış ve çözündürülmüştür. Mikroşırınga ile (Hamilton, 710) ile örnek ekstraktından 2,5,5 ve 10 µl, hazırlanışı 3.2.5'de verilen aflatoksin standardından 3,5,7 ve 10 µl alınarak plakalar üzerine alttan itibaren, 4 cm mesafeye 1.5 cm aralıklarla damlatılmıştır. Ayrıca iç standart olarak 5 µl örnek ekstraktlarından birinin üzerine 5 µl standart konulmuştur. Damlaların 0.5 cm den büyük olmaması için saç kurutma makinası kullanılmıştır. Plakalar, üstten 2 cm kenarlardan 0.5 cm çizilmiş, içerisinde yürütücü olarak kloroform-aseton (9+1) bulunan ve kurutma kâğıdı ile kaplanan geliştirme tankına konulmuş, ıslanma yüksekliği üstteki çizgiye erişinceye kadar bekletilmiştir. Geliştirme tankından çıkarılan plakalar 15 dakika karanlıkta laboratuvar sıcaklığında kurutulmuştur. Plakalar daha sonra karanlık odada uzun dalga (365 nm) ultraviyole lambası altında incelenmiştir. Standartla aynı Rf değerinde, mavi-yeşil floresan lekeler aranmıştır. Bu lekelerin aflatoksin olup olmadığını kesin olarak anlamak için, üzerlerine % 25 lik H₂SO₄ püskürtülmüştür.

3.2.5. Aflatoksin Standartlarının Hazırlanması

Aflatoksin standartları Anonymous (1975)e göre hazırlanmıştır. Spektrofotometrenin (Beckman DU 2 Model) kalibrasyonu, yaklaşık olarak 0.018 N H₂SO₄ ile 0.25, 0.125 ve 0.0625 mM olarak hazırlanan K₂Cr₂O₇ çözeltilerinin optik yoğunluklarının 350 nm de 0.018 N H₂SO₄ çözeltisine karşı ölçülerek yapılmıştır.

Benzen-asetonitril karışımının (98+2) ml sinde 8-10 µg aflatoksin B₁ veya G₁ bulunacak şekilde hazırlanan aflatoksin çözeltilerinin gerçek konsantrasyonları bunların optik yoğunluklarının 350 nm de benzen-asetonitril karışımına karşı ölçülmesiyle elde edilen absorpsiyon değerlerinin µg aflatoksin/ml = $(A \times MW \times 1000 \times CF) / \epsilon$ formülünde yerine konulmasıyla hesaplanmıştır. Formüldeki, A spektrofotometrede okunan absorpsiyon değerini, MW aflatoksinin molekül ağırlığını, CF spektrofotometrenin kalibrasyonu sırasında elde edilen düzeltme faktörünü, ϵ ise molar absorpsiviteyi göstermektedir. MW ve ϵ değerleri her aflatoksin tipi için Anonymous (1975)'de tablolar halinde verilmiştir. Spektrofotometre ile, benzen-asetonitril içerisindeki oranları kesin olarak saptanan aflatoksin stan-

dartları, ml sinde 0.5 µg B₁, 0.5 µg G₁ olacak şekilde benzel-asetonitril ile seyreltilmişlerdir.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Dörder ay ara ile üç kez, 3 çeşit karma yem ve 10 çeşit karma yem ham maddesinden alınan örneklerin yapılan analizlerinde, izlenebilir miktarda aflatoksine rastlanmamıştır.

Aynı örnekler üzerinde, küf izolasyonu ve identifikasyonu ile ilgili diğer bir çalışmada, karma yem örneklerinin hiç birisinden, aflatoksin üretebilen *A. flavus* veya *A. parasiticus* türü küfleri izole edilememiştir.

Hammadde örneklerinden ise, buğday ve arpa unları ile soya fasulyesi ve pamuk tohumu küspelerinden *A. flavus* izole edilmiştir (Sert, 1984).

Karma yem örneklerinde *A. flavus* ve *A. parasiticus* gibi aflatoksin üretebilen küf türleri izole edilemediği için bu yerlerde aflatoksin saptanamaması bir dereceye kadar normal karşılanabilir. *A. flavus* izole edilen ham maddelerde aflatoksin tesbit edilememesine bir neden olarak bu örneklerin rutubet içeriklerinin ve çevre nisbi neminin düşük olması gösterilebilir. Nitekim, Christensen (1978), *A. flavus*'un gelişmesi için minimum rutubet içeriğinin tahıllarda % 18.0-18.5, soya fasulyesi gibi yağlı tanelerde % 17.0-17.5 olması gerektiğini bildirmiştir. Diener (1976), Diener ve Davis (1969), aflatoksin üretimi için nisbi nem limitinin 30°C de % 83+1 olduğunu kaydetmişlerdir. Halbuki, incelediğimiz örneklerin rutubet içerikleri, yukarıda bildirilen sınırların altında saptanmıştır. Erzurum'da 1929-1970 yılları arasındaki 41 aylık nisbi nem ortalamasının % 63, bu devreye ait yıllık nisbi nem ortalamalarının ise, 1. aydan itibaren % 76,75,74,65,60.,56,50,46,49,60,71,75 olduğu kaydedilmiştir (Anonymous, 1974). Görüldüğü gibi en yüksek nisbi nem ortalaması Ocak ayında ancak % 76 ya kadar çıkabilmiştir. Örnek alımları esnasında yapılan nisbi nem ölçümlerinde ham maddelerin bulunduğu yer ile dışarı arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür. *A. flavus* izole edilen örneklerde toksin tesbit edilememesi, bunların rutubet içeriklerinin azlığı ve çevre nisbi neminin düşüklüğü ile açıklanabilir. İlgili olarak, Shotwell ve ark. (1969 a), 7 buğday örneğinde *A. flavus* izole edildiği halde aflatoksine rastlanmadığını bildirmişlerdir. Benzer durum, Aşkın ve Köşker (1980) tarafından, kuru incirlerde de müşahade edilmiştir.

Karma yem ve hammaddelerinin direkt aflatoksin analizlerinde tesbit edilebilir miktarda aflatoksin bulunamaması sevindirici bir durumdur. Ancak, bazı ham madde örneklerinden *A. flavus* izole edilmesi, bu küflerin uygun koşullarda aflatoksin üretebileceği ihtimalini akla getirmektedir. Bu durum, depolama koşullarının *A. flavus*'un gelişmesini önleyecek özellikte olması gereğini ortaya koymaktadır.

SUMMARY

A STUDY ON AFLATOKSIN CONTENT OF SOME MIXED FEEDS AND FEED RAW MATERIALS

In this research aflatoxin analysis were made on 3 types of mixed feed and 10 types of mixed feed raw material which were sampled 3 times in every for mounts from Erzurum Feed Plant. The mixed feed samples were sheep-cattle feed, dairy cattle feed and layer feed. The samples of mixed feed raw material were milled wheat, barley, corn, millet; the meals were-also come from cottonseed, sun flower, hazel nut, soybean, sugar been and meat-bone meal.

Any noticeable amount of aflatoxin was not detected in the analysis of aflatoxin which was completed with thin layer chromatography for the mixed feeds and mixed feed raw materials.

It was considered as a lucky situation that the aflatoxin was not detected in mixed feeds and feed raw materials.

KAYNAKLAR

1. Anonymous, 1974. Ortalama ve Ekstrem Kıymetler Meteoroloji bülteni, T.C. Gıda ve Tarım Hayvancılık Bakanlığı Devlet Meteoroloji İşleri Gn. Md. Başbakanlık Basım evi, Ankara.
2. Anonymous, 1975. Natural Poisons. *In* Official Methods of Analysis. Assoc. Off. Anal. Chem. Washington D.C. p. 462-482.
3. Aşkın, O. ve Ö. Köşker, 1980. İncirlerde Aflatoksin Teşekkülü Üzerinde Araştırmalar. Ank. Üniv. Zir. Fak. Diploma Sonrası Yük. Ok. İhtisas Tez Özetleri, s. 226-245.
4. Atlı, A. ve Ö. Köşker. 1980. Buğday, Un ve Ekmekte Aflatoksin Oluşumu ve Stabilitesi Üzerinde Araştırmalar. Ank. Üniv. Zir. Fak. Diploma Sonrası Yük. Ok. İhtisas Tez Özetleri. 294-311.
5. Christensen, C. M. 1978. Storage Fungi. *In* Food and Beverage Mycology. (Ed.) L.R., Beuchat, AVI Publishing Comp., Inc. p. 173-190.
6. Çolakoğlu, M. and K. Ünal. 1974. A Preliminary Work on the Aflatoksin Situation on Some Oil Bearing Crop Samples (Hazelnut, Peanut, Cottonseed and Olive) in Turkey. Proc. IV Int. Congress Food Sci. Technol. III: 309-313.
7. Dalcero, A.M., S. Chulze, and E. Varsavsky. 1981. Aflatoxins and Fungal Flora on Sunflower Seeds. Int. Symp. Workshop on Mycotoxins (Abst. book). 6-16 Sept., Cairo, Egypt., p. 22-23.

8. Demirer, M.A., M. Akkılıç, E. Özalp, Ş. Kaymaz, B. Dinçer ve T. İnan. 1979. Piyasada Satılmakta Olan Bazı Karma Yemlerde ve Ham maddelerinde Aflatoxin B₁ Aratırmaları. Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg. XXVI, (1-2), 169-184.
9. Denizel, T. 1979. Mısırların Depolanmaları sırasında oluşan bazı mikotoksinler ve bunların sinerjistik etkileri üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi (Basılmamış).
10. Diener, U.L., and N.D. Davis. 1969. Production of Aflatoxin on Peanuts under Controlled Environments. J. Stored Prod. Res. 5: 251-258.
11. Girgis, A.N., S. El-Sherif, N. Rafael, and S. Nesheim, 1977. Aflatoxins in Egyptian Foodstuffs, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 60: 746-747.
12. Güray, Ö. ve N. Vural. 1968. Mycotoksinlerle Meydana Gelen Besin Zehirlenmeleri Münasebetiyle Aflatoxinler Üzerinde Bir Araştırma. Ank. Üniv. Tıp Fak. Mec. XXI: 1030-1044.
13. Güray, Ö., M. Arat ve G. Yılmaz. 1978. Aflatoxinlerle Meydana Gelen Besin Zehirlenmeleri Üzerine Aflatoxinlerle Bir Çalışma-II. Türk Mikrobiyoloji Cem. Der. 8: 129-143.
14. Koca, S. 1980. Tarımsal Bölgelere Göre Türkiye'deki Karma Yem Üretimi ve Kapasitesi. Yem Bülteni. 2: (6-7), 5-25.
15. Neelekantan, S., T. Balasubramanian, I. Jasmine, and R. Balasaraswathi, 1981. Aflatoxin in the Foods and Feeds Available in Tamil Nadu. India. (Abst.) Int. Symp. Workshop on Mycotoxins. Cairo, Egypt. Sept. 6-16, p. 20.
16. Pons, W. A. Jr., A.F. Cucullu, L.S. Lee, J.A. Robertson, A.O. Franz, and L. A. Goldblatt. 1966. Determination of Aflatoxins in Agricultural Products. Use of Aqueous Acentone for Extraction. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 49: 554-562.
17. Pons, W. A., Jr., A.F. Cucullu, and A.O. Franz, Jr. 1972. Rapid Quantitative TLC Methods for Determining Aflatoxins in Cottonseed Products J. Assoc. Off. Anal. Chem. 55: 768-774.
18. Seibold, R., and W. Ruch, 1977. Aflatoxin Content of Mixed Feeds of Dairy Cows. Kraftfutter, 60: 182-185. (Alınmıştır, Enviromental Health Criteria 11, Mycotoxins, 1979, Genova).
19. Sert, S. 1984. Karma Yem ve Karma Yem Ham maddelerinde Bulunan Küf-lerin Ayırım ve Tanımlanması Üzerinde Bir Araştırma (Dicle Üniv. Urfa Zir. Fak. Yılığ 1984. Baskıda).

20. Shotwell O.L., C.W. Hesseltine, H.R. Murmeister, W.F. Kwolek, G.M. Shannon, and H.H. Hall. 1969 a. Survey of Cereal Grains and Soybeans for the Presence of Aflatoxin: I. Wheat, Grain Sorghum, and Oats. *Cereal Chem.* 46: 446-454.
21. Shotwell, O.L., C.W. Hesseltine, H.R. Burmeister, W.F. Kwolek, G.M. Shannon, and H.H. Hall. 1969 b. Survey of Cereal Grains and Soybeans for the Presence of Aflatoxin: II. Corn and Soybeans. *Cereal Chem.* 46: 454-463.
22. Shotwell, O.L., M.L. Goulden, G.A. Bennett, R.D. Planttner, and C.W. Hesseltine, 1977. Survey of 1975 Wheat and Soybean for Aflatoxin, Zearalenone, and Ochratoxin, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 60: 778-783.
23. Shreeve, B. J. and, D.S.P. Patterson. 1975. Mycotoxicosis. *Vet. Rec.* 97: 279-280.
24. Strzelecki, E.L., and U.W. Gasiorowska. 1974. Aflatoxin B₁ in Feedstuffs. *Zentralbl. Vet.-Med. B*, 21: 395-400 (Almıştır. *Environmental Health Criteria* 11, Mycotoxins, 1979. Geneva).
25. Üstünsoy, O. 1981. Türkiye'de Yem Sanayiinin Gelişimi. II. *Yem Sanayii Derg.*, Sayı, 33, 5-11.