

SÜTLE AFLATOKSİNLERİN EKSKRETE EDİLMELERİ VE SÜT VE SÜT MAMÜLLERİNDE AFLATOKSİN TAYİN METODLARINDA SON GELİŞMELER

Mehmet Aziz Demirer*

Aflatoksinlerin keşfi ve sütle ekskrete edilmelerinin anlaşılması gıda hijyeni ilminin en önemli aşamalarından biridir.

1960 yılında İngilterede, Brezilya orijinli yer fıstığı unlarıyla hazırlanmış yemleri yiyen hindi yavrularından 100.000 kadarının nekrotik hepatit ile kısa bir zamanda ölmeleri, dikkatleri bu konu üzerine çekmiş ve bir yıllık kesif araştırmalardan sonra konu aydınlığa kavuşmuştur.

Brezilya yer fıstıkları unlarından bir toksin ekstre edilmiş, bu toksinin ördek palazlarında şiddetli öldürücü olduğu görülmüş ve bunun bir çok tahılları bulaştıran *Aspergillus flavus* tarafından hasıl edildiği deneysel olarak ortaya konulmuştur³³.

Bu toksinler daha çok *A. flavus* grubu tarafından meydana getirilirse de, yapılan araştırmalar *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium* cinslerinden bazı türlerin ve diğer bazı *Aspergillus* türlerinin de aflatoksinleri metabolit bir ürün olarak hasıl ettiklerini ortaya koymuştur.

*Aspergillus flavus*un baş harfleri alınarak Aflatoxin adı verilen etken maddenin, üzerinde yapılan kromatografik tetkiklerde, bu toksinin mavi flöresan veren (Bleu'den) B₁ ve B₂, yeşil flöresan veren (Green'den) G₁ ve G₂ gibi 4 komponentten ibaret olduğu görülmüştür.

Daha sonraları Allcroft ve Carnaghan (1²), toksinli küspe yiyen ineklerin, sütleriyle aflatoksin çıkardıklarını tespit etmişler ve bu ineklerin sütlerinden 2 komponentli bir aflatoksin ekstre etmişlerdir.

* A. Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Hijyen Kürsüsü Doçenti.

Bu aflatoksinlere de süt kelimesinin (Milk) ilk harfi alınarak aflatoksin M_1 ve M_2 adları verilmiştir.

Süt aflatoksini denilmesine rağmen sonradan yapılan tetkikler, bunların küflü yer fıstıklarında, aflatoksinli yem yiyen hayvanların idrar ve gaitalarında da bulunduğunu göstermiştir⁽⁵⁾.

Allcroft, et al. ⁵, laktasyon periyodundaki 600 kilogramlık bir ineğe 300 mg aflatoksinin (% 44 B_1 , % 44 G_1 ve % 2 B_2) tek bir doz halinde ağızdan verilmesinden sonra, sütünde, idrarında ve gaitasında aflatoksin flöresan kompozanlarının ekskresyonunu 9 günlük bir periyot esnasında tetkik ediyorlar. Sütte ve idrarda tesbit edilmiş tüm aflatoksinin takriben % 85 i, ilk 48 saat zarfında ekstrete edildiğini, 4 gün sonunda sütte, 6 gün sonunda da idrar ve gaitada artık aflatoksin tesbit edilemediğini, total dozun % 0,18 i sütte, % 1,55 i idrarda, % 2,79 u gaitada olmak üzere sadece % 4,52 sinin idantifiye edilebildiğini, aflatoksin M_1 'in hazmedilen aflatoksin B_1 miktarının % 0,35 ine ulaşabilen ve sütte bulunan tek kompozan olduğunu, idrarda da M_1 'in ekstrete edilen en fazla kompozan olarak görüldüğünü, halbuki B_1 in gaitada en çok çıkarıldığını, G_1 'in idrarda olduğu gibi gaitada ekstrete edildiğini, idrardakinin daha fazla olduğunu, fakat sütte bulunmadığını bildiriyorlar. Vermiş oldukları tablonun tetkikinden bu durum daha iyi anlaşılacaktır.

TABLO 1.

B_1 , G_1 , B_2 aflatoksinleri karışımının ağızdan tek bir dozundan sonra ineğin süt, idrar ve gaitasında tesbit edilen aflatoksin komponentlerinin miktarı. (Tek doz 300 mg).

Numune	Aflatoksin Komponentleri	Tesbit edilen Tüm miktar Mikrogram	Verilene göre %
Süt	B_1	0	—
	G_1	0	—
	M_1	492	0.35*
İdrar	B_1	760	0.58
	G_1	1220	0.92
	M_1	2230	1.61*
Gaita	B_1	3930	2.98
	G_1	630	0.48
	M_1	2960	2.13*

* Verilen B_1 e göre hesap edilmiştir.

Yine aynı araştırmacılar yaptıkları diğer araştırmalarda, toksik yemle alınan aflatoksinle süt içinde dışarı atılan M_1 arasında doğru bir orantı bulunduğunu tespit etmişler ve koyunda aflatoksin metabolizmasını tetkik etmişlerdir ^{3,4}.

Fehr, et al.¹¹, Laktasyon dönemindeki 2 inek ve keçiler üzerinde bulaşık yemle yedirme denemesi yapmışlar ve bunların sütleriyle toksin çıkardıklarını tespit etmişlerdir.

Bu tip çalışmaların daha bir çok araştırmacı tarafından yapıldığını görmekteyiz^{15,21,23}.

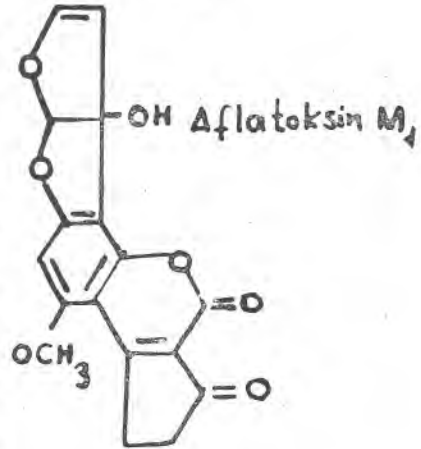
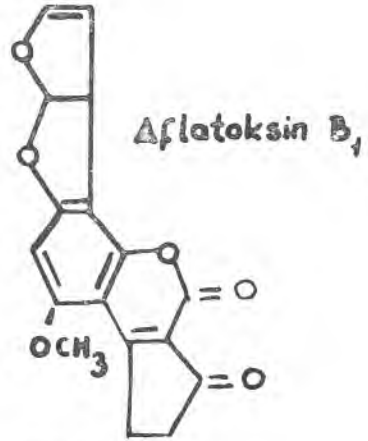
Bir kaç kelime de, sütle atılan aflatoxin M₁'in ve onun meydana gelmesine sebep olan aflatoxin B₁ in özelliklerinden bahsetmek istiyoruz.

Aflatoxin B₁ in kapalı formülü C₁₇ H₁₂ O₆ olup açık formülü yanda görülmektedir. Işığa karşı hassas olup ısı ile 268-269 C° de dekompoze olur. Ultraviyole lamba altında viyole flöresans verir.

Aflatoxin M₁, hydroxyaflatoxin B₁ dir. B₁ den bir atom oksijen daha fazla ihtiva eder. Kapalı formülü C₁₇ H₁₂ O₇ dir. Açık formülü yanda görülmektedir. Işığa karşı hassas olup, ısı ile 299 °C de dekompoze olur. Ultraviyole lamba altında mavi viyole flöresans verir.

Her ikisi de sıcak kanlılarda akut zehirlenmelere ve kronik hastalıklara sebebiyet verirler.^{13,14,30}

Jones ve lee¹⁸, M₁ üzerindeki araştırmalarında dimethyl formamid yahut dimethyl sulfoxide de sature bir solüsyonun bir cam üzerinde yavaş olarak kurutulması ile sahada dikkörtgen şeklinde kristallerin teşekkül ettiğini, dimethyl formamide ile elde edilmiş kristallerin ince dikkörtgen şeklinde ekserisi merkezi olarak incelmış olduklarını bu kristallerin tahminen 300 °C de kahverengi olarak parçalandıklarını kaydetmişlerdir.



Numune alma :

Aflatoxin tayin metodlarına geçmeden evvel bir kaç kelime ile numune alma işlemine dikkati çekmek isteriz. Bu hususta Frank ve Eyrich¹², salmonellalarda olduğu gibi burada da benzer bir durumun mevcut olduğunu, küflerin lokal bir şekilde görülüp ve yüzeyde de üredikleri için toksinin de gıdanın her yerine eşit olarak dağılmadığını, daha çok küflenmiş kısımlarda lokalize olduğunu, ortamın fiziksel özelliğinin müsait olduğu hallerde aflatoxin'in mycel'den ayrılarak ortamın iç kısımlarına da yayılabileceğini, fakat konsantrasyonunun seyreceğini, bu sebeplerle numunenin tartılmadan önce iyice karıştırılmasının icabettiğini, gerekirse hyphe ve konidiler yönünden mikroskopta muayene edilmesinin lâzım geldiğini bildiriyorlar.

Aflatoxin tayin metodları : Yer fıstığı unlarında aflatoxinin tespiti üzerine bir çok araştırmacı gerek bu madde üzerinde gerekse diğer yem ve gıda maddeleri üzerinde çeşitli ekstraksiyon ve izolasyon metodları geliştirmişlerdir. Metotlardaki belli başlı merhaleler şunlardır :

- 1- Numunenin alınması ve hazırlanması
- 2- Numunenin ekstraksiyonu
- 3- Numune ekstraktının pürifikasyonu
- 4- İnce tabaka kromatografisi ile toksinlerin araştırılması ve izolasyonu.
- 5- Ultraviyole ışın altında muayene
- 6- Görülen spot'ların doğrulanması.

Bu metodların çoğu numuneyi ya metanolla yahut da aseton ile ekstre edip, bunlardan aflatoxini kloroform'a alarak, kloroformu konsantre ve pürifiye ettikten sonra ince tabaka kromatografisine tâbi tutma esasına dayanmaktadır.

Ekstraksiyonlar umumiyetle mixerde, bazan'da soxhelet cihazında sıcak olarak yapılmaktadır. Daha sonra elde edilen bakiye az bir kloroforma alınıp ince tabaka kromatografisi ile kromatografiye edilmektedir.

Kromatografinin nasıl yapıldığı AOAC ⁷ ve Nesheim ²⁴, Stubblefield, et al. ³⁵, gibi araştırmacılar tarafından geniş olarak izah edilmektedir. İnce tabaka plaklarının okunması ise ya gözle yahut Fluorodensitometric olarak ^{8,9,10,28} yapılmaktadır.

Kromatografide elde edilen flöresan maddenin hakikaten aflatoxin olup olmadığı yani sonucun doğrulanması için çeşitli doğrulama metodları kullanılmaktadır:

- a) Reagentlerle muayene ¹²17.
- b) Herbir toxine has özel metodlarla muayene ²⁵26²⁷34.
- c) Çeşitli solventler kullanılarak kromatografi yapma¹².
- d) Spektrofotometrik muayene.
- e) Tavuk embriyo testi ⁷19²⁷.
- f) Biyolojik ve histopatolojik muayeneler²⁷.

Tavuk embriyo testi ile biyolojik ve histopatolojik muayeneler uzun zaman istediklerinden rutin muayenelerde elverişli değildirler. Bu bakımdan ekseriya diğer metodlar kullanılırlar.

Umumiyetle yer fıstığı için geliştirilmiş olan metodlar, sütte aflatoxin ekskrete edildiğinin anlaşılması üzerine süt ve mamullerine adapte edilmeye çalışılmıştır. Evvela süttözundan bu toxini ekstre etme usulleri denenmiştir. Aflatoxin tayin metodunun en önemli safhalarından olan numuneden toxinin ekstraksiyonu, Purchase ve Steyne³¹, tarafından mukayese edilmiştir. Bu araştırmacılar soğutulmuş kurutulmuş süttözundan aflatoxin M₁ yi ekstre etmek için soxhelet ekstraktörü yahut mekanik çalkalayıcı kullanarak muhtelif solventlerin kâbiliyetini mukayese etmişler ve soxhelet apareyinde aseton: kloroform: su karışımı bir azeotropic karışımla numuneler ekstre edildiği zaman ekstraksiyonun daha tesirli olduğunu bildirmişlerdir.

Roberts ve Allcroft ³², Sıvı sütün ihtiva ettiği aflatoxini tespit etmek için, Van der Linde, et al., tarafından bit metod tarif edildiğini, bu metodta metanolün proteinin presipitasyonu ve aflatoxinin ilk ekstraksiyonu için kullanıldığını, kendilerinin bu metodu tatbikte, proteinlerin tam olmayan bir presipitasyonu ile ve bilhassa süt numunelerinin buzdolabında yahut dipfrizde bir kaç gün muhafaza edildiği yahut süttözundan yapıldıkları zaman devamlı emülsiyonların teşekkülü ile neticelendiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar metanol yerine aseton kullanılıncaya proteinlerin memnun edici presipitasyonunun elde edildiğini böylece toxin ekstraksiyonunun yapılabildiğini, ayrıca proteinlerin aseton presipitatının çabuk süzülmesini, numuneyi 50 ml. yerine 100 ml. alabildiklerini bildirerek metodlarının ana hatlarını belirtmişlerdir.

Masri, et al.²⁰, Süttözunda M aflatoxininin analizi için muhtelif ekstraksiyon tekniklerinin denendiğini, değişik konsantrasyonda su ihtiva eden metanolla, değişik blender ekstraksiyonlarının mukayese edildiğini, metanolla % 20 su kullanılışı ve petrol eterle alçak derecede kaynatma ile süzölmüş ekstraktın yağının alınışının tavsiye

edildiğini, kloroform ile sulu metanol arasındaki nisbetlerin ve metanoldeki suyun muhtelif konsantrasyonlarının teste tâbi tutulduğunu, 1/1 metanol: su, bunun yarısı kadar kloroformla 3 defa ekstre yapma şeklinin tavsiye edildiğini bildirmişlerdir.

Aynı araştırmacılar diğer bir yayınlarında daha önce bildirdikleri metodlarını basitleştirmek ve kısaltmak için modifiye ettiklerini, M_1 tayinlerinde kullanılmamak kaydıyla kloroform ekstraktın temizlenmesi için yalnız B_1 tayinlerinde bazik bakır karbonat kullanılmasını tavsiye etmişlerdir²².

Jacobson, et al.¹⁶, Vücuda giren aflatoxin ile sütle sekrete edilen aflatoxin arasındaki münasebeti tayin etmek ve dolayısıyla sütteki M_1 ve B_1 aflatoxinlerini tesbit etmek için hassas bir metoda ihtiyaç bulunduğunu, milyarda 0,5 kısım aflatoxin ihtiva eden numunelerden, gözle mukayese sınırları içerisinde iyi recovery'ler elde edilebilen bir metod takdim ettiklerini, proteinsizleştirilmiş sütün yani % 80 metanolik filtratın, % 4 tuz solüsyonu ilavesiyle % 50 ye ayarlandığını ve heksan ile ekstraksiyon yapılarak yağının giderildiğini, aflatoxinlerin alkolik fazdan kloroform ile ekstrakte edildiğini ve kloroform'un vakumda bertaraf edilerek bakiyenin benzen: heksan (1:1) içerisinde eritildiğini B_1 ile M_1 aflatoxinlerini ayırmak için sudaki kalsiyum klorür solüsyonu ile celit doldurulmuş bir partition kolonunda kromatografiye edildiğini, elue edilmiş B_1 in ikinci bir temizleme için metanol: su (1:1) ile celit dolu diğer bir partition kolonundan geçirildiğini, eluatın kuruyuncaya kadar buharlaştırıldıktan sonra kloroformda eritilip kromatografiye edildiğini, bu metodlarıyla 0,1 ppb toxinin emniyetle tayin edilebildiğini bildirmişlerdir.

Pons, et al.²⁹, AOAC'nin 1972 toplantısında süt ve süttözunda aflatoxin M_1 in tayini için teklif ettikleri metodu şöyle tarif etmişlerdir:

Süt yahut süttözundan yapılmış süt hızlı bir karıştırıcıda asetonla ekstrakte edilir ve süzülür. Filtrattan alikot bir miktar pigmentleri ve proteini bertaraf etmek için kurşun asetat ile muamele edilir. Muamele edilmiş ekstraktan bir alikot heksanla yıkanır ve M_1 kloroforma ayrılır. Sonra sudaki tuzlu solüsyonla yıkanır. Solvent buharlaştırılır ve 50 ml. sütü yahut 5 gr. süttözunu temsil eden bakiye az bir kloroformda eritilir. Absorbosil-1 ile kaplanmış bir ince tabaka plağına konulmuş alikotla, kloroform: aseton: 2- propanol (850: 100: 50) içinde develope edilir. Ayrıca temizleme ihtiyacı gösteren numuneler için, bir sellüloz-su-metanol partition kolonu kullanarak yardımcı bir temizleme kademesi denenir. Araştırmacılar süt için has-

sasiyetin temizlemeksizin kilogramda takriben 0,1 mikrogram ve konda temizleme ile kilogramda takriben 0,05 mikrogram olduğunu, kilograma 0,1-1 mikrogram seviyelerinde süte ve süttozuna ilâve edilen M_1 Recovery'lerinin konuldukları kadar tesbit edildiklerini, metodun modifiye Jacobson, Harmeyer ve Wiseman metodları (kromatografik kolonsuz) ve soğutularak yahut püskürtülerek yapılmış bu- laşık süttozlarında M_1 'in tespiti için Purchase ve Steyn metodu ile mukayesesinin bütün numuneler için oldukça daha iyi M_1 değerleri verdiğini bildirmişlerdir.

Stubblefield, et al.³⁶, ise aynı toplantıda "Sütte Aflatoxin M_1 " adı altında yaptıkları tebliğde sütte aflatoxin M_1 'in tespiti için neşre- dilmiş 6 metodu mukayese ettiklerini bildirmişlerdir.

Stack, et al.³⁴, M_1 'in teyidi için verdikleri metotta M_1 'i pyridine- acetic anhydride karışımı ile muamele ederek bir M_1 asetat derivatif teşekkül ettirdiklerini bunun aseton: kloroform (1:9) ile developman- ında M_1 in $R_f = 0,11$ de gözüktüğü halde M_1 asetatın $R_f = 0,55$ de gözüktüğünü, M_1 asetatın su ve konsantre hidroklorik asit ile mua- melesi neticesi bir hemiacetal teşekkül ettiğini bunun da 2- propanol: aseton: kloroform (10:10:80) ile developmanında M_1 'in $R_f = 0,70$ de gözükmeye karşı hemiacetal'ın $R_f = 0,15$ te gözüktüğünü bildi- riyorlar.

Araştırmacıların metodlar üzerinde yaptıkları olumlu modifikas- yonlar zaman zaman kollaboratif çalışmalarla tetkike tâbi tutulmakta ve metodlarda kabul edilen değişiklikler ise J. Assoc. Offic. Anal. Chemists'de "metodlarda değişiklikler" adı altında neşredilmektedir.⁶

Literatür

- 1- **Allcroft, R., Carnaghan, R. B. A.** (1962): *Groundnut Toxicity. Aspergillus flavus toxin (aflatoxin) in Animal Products.* Preliminary Communication. Vet. Rec. 74, 863-864.
- 2- **Allcroft, R., Carnaghan, R. B. A.** (1963): *Groundnut Toxicity. An Examination for Toxin in Human Food Products from Animals Fed Toxic Groundnut Meal.* Vet. Rec. 75, 259-263.
- 3- **Allcroft, R., et al.** (1966): *Metabolism of Aflatoxin in Sheep.* Ex- cretion of the Milk Toxin. Nature 209, 154-155.
- 4- **Allcroft, R., Robert, B. A.** (1968): *Toxic Groundnut Meal. The Relationship between Aflatoxin B₁ Intake by Cows and Excretion of Aflatoxin M₁ in milk.* Vet. Rec. 82, 116-118.

- 5- **Allcroft, R., et al.** (1968): *Excretion of Aflatoxin in a Lactating Cow.* Food Cosmet. Toxicol. 6, 619-625.
- 6- **Anon** (1973): *Method for the Determination of Aflatoxin M₁ in Fluid Milk and Milk Powder.* Changes in Methods. J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 56, 485 Sec. 26. C09-26. C14.
- 7- **AOAC** (1970): "*Natural Poisons. Mycotoxins. Aflatoxins.*" 426-438. "As quoted" Official Methods of the Association of Official Agricultural Chemists. 11 th Edi. Washington.
- 8- **Ayres, J. L., Sinnhuber, R. O.** (1966): *Fluorodensitometry of Aflatoxin on Thin-Layer Plate.* J. Am. Oil Chemists' Soc. 43, 423-424.
- 9- **Beckwith, A. C., Stoloff, L.** (1968): *Fluorodensitometric Measurement of Aflatoxin Thin Layer Chromatograms.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 51, 602-608.
- 10- **Beljaars, P. R., Fabry, F. H. M.** (1972): *Quantitative Fluorodensitometric Measurements of Aflatoxin B₁ with a Flying-Spot Densitometer.* I. Fluorodensitometric Study of the Behavior of Aflatoxin B₁ Standard Spots on Different Types of Silica Gel. J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 55, 775-780.
- 11- **Fehr, P. M., et al.** (1968): *Effet de la Consomation de Tourteau d'Arachide Pollué par Aspergillus flavus chez le Ruminant en Lactation.* Le Lait 48, 477, 377-392.
- 12- **Frank, H. K., Eyrich, W.** (1968): *Über den Nachweis von Aflatoxinen und das Vorkommen Aflatoxin-vortäuschender Substanzen in Lebensmitteln.* Z. Lebensmittel-Untersuch. u. Forsch. 138, 1-11.
- 13- **Goldblatt, L. A.** (1972): *Aflatoxin Scientific Background, Control, and Implications.* Second Ed., Academic Press, New York and London, 1-472.
- 14- **Holzappel, C. W., et al.** (1966): *Isolation and Structure of Aflatoxins M₁ and M₂.* Tetrahedron letters 25, 2799-2803.
- 15- **Iongh, H., et al.** (1964): *Milk of Mammals Fed an Aflatoxin-Containing Diet.* Nature 202, 466-467.
- 16- **Jacobson, W. C., et al.** (1971): *Determination of Aflatoxins B₁ and M₁ in Milk.* J. Dairy Science 54, 21-24.
- 17- **Jacquet, J., et al.** (1971): *Recherche des Flavacoumarines par Chromatographie en Couche Mince. Importance de la Discrimination des Autres Taches Fluorescentes.* Bull. Acad. Vét. 44, 263-275.

- 18- **Jones, F. T., Lee, K. S.** (1968): *Note on Aflatoxin M₁. Optical and X-Ray Crystallographic Data.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 51, 610.
- 19- **Kiermeier, F., Böhm, S.** (1971): *Zur Aflatoxinbildung in Milch und Milchproducten. V. Anwendung des Hühnerembryo-Testes zur Sicherung des dünn-schichtchromatographischen Aflatoxin-Nachweiss in Käsen.* Z. Lebensmittel-Untersuch. u. Forsch. 147, 61-64.
- 20- **Masri, M. S., et al.** (1968): *Mycotoxins. Analysis for Aflatoxin M in Milk.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 51, 594-600.
- 21- **Masri, M. S., et al.** (1969): *The Aflatoxin M content of Milk from Cows Fed Known Amounts of Aflatoxin.* Vet. Rec. 84, 146-147.
- 22- **Masri, M. S., et al.** (1969): *Modification of Method for Aflatoxins in Milk.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 52, 641-643.
- 23- **Nabney, J., et al.** (1967): *Metabolism of Aflatoxin in Sheep. Excretion Pattern in the Lactating Ewe.* Food Cosmet. Toxicol. 5, 11-17.
- 24- **Nesheim, S.** (1969): *Conditions and Techniques for Thin Layer Chromatography of Aflatoxins.* J. Am. Oil. Chemists' Soc. 46, 335-338.
- 25- **Pohland, A. E., et al.** (1968): *Aflatoxin B₁ Hemiacetal.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 51, 907-910.
- 26- **Pohland, A. E., et al.** (1970): *Rapid Chemical Confirmatory Method for Aflatoxin B₁. I Development of the Method.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 53, 101-102.
- 27- **Pohland, A. E.** (1972): *Confirmative Methods for Mycotoxins. Abstracts of the Mycotoxin Papers presented at the AOAC Meeting, Washington, Abst. 212.*
- 28- **Pons, W. A.** (1971): *Mycotoxins Evaluation of Reflectanca Fluorodensitometry for Measuring Aflatoxins on Thin Layer Plates.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 54, 870-873.
- 29- **Pons, W. A., et al.** (1972): *Method for Aflatoxin M₁ in Liquid Milk and Milk Powder.* Abstracts of the Mycotoxin Papers presented at the AOAC Meeting, Washington, Abst. 208.
- 30- **Purchase, I. F. H.** (1966): *Aflatoxin in Milk.* S. A. Medical Journal 40, 774.
- 31- **Purchase, I. F. H., Steyn, M.** (1967): *Estimation of Aflatoxin M in Milk.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 50, 363-366.

- 32- **Roberts, B. A., Allcroft, R.** (1968): *A Note on the Semi-quantitative Estimation of Aflatoxin M₁ in Liquid Milk by Thin-Layer Chromatography.* Food. Cosmet. Toxicol. 6, 339-340.
- 33- **Sargeant, K., et al.** (1961): *The Assay of a Toxic Principle in Certain Groundnut Meals.* Vet. Rec. 73, 1219-1223.
- 34- **Stack, M. E., et al.** (1972): *Mycotoxins. Derivative Method for Chemical Confirmation of Identity of Aflatoxin M₁.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 55, 313-314.
- 35- **Stubblefield, R. D., et al.** (1972): *Aflatoxin M₁ and M₂ and Parasiticol. Thin Layer Chromatography and Physical and Chemical Properties.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 55, 762-767.
- 36- **Stubblefield, R. D., et al.** (1972): *Aflatoxin M₁ in Milk. Evaluation of Methods.* Abstracts of the Mycotoxin Papers presented at the AOAC Meeting, Washington, D. C. U.S.A. Abst. 207.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 3.10.1973 günü gelmiştir.