

TAVUK YEMLERİNDE ve YEM İLKEL MADDELERİNDE AFLATOKSİNLER

Yusuf Şanlı\*

Selahattin Ceylan\*\*

Sezai Kaya\*\*\*

Aflatoxins in feeds and feed ingredients

**Summary:** *Aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub>, were detected in total of 96 suspected feed samples comprising the laying hen feeds (34), the broiler feeds (26) and the feed ingredients (36).*

*The order of incidence of the aflatoxins was found to be B<sub>1</sub> in 62 samples, B<sub>2</sub> in 29 samples and G<sub>1</sub> in 18 samples. None of the samples had any detectable amount of aflatoxin G<sub>2</sub>. Aflatoxin B<sub>1</sub> was in the highest concentration which followed by aflatoxins B<sub>2</sub> and G<sub>1</sub>. The mean total levels of aflatoxins were calculated as 9.927 p.p.b. in the laying hen feeds, 6.042 p.p.b. in the feed ingredients and 4.018 p.p.b. in the broiler feed samples.*

*Contamination of the feeds with aflatoxins was seen comparatively less than those reported in the most the literatures but significantly higher than the accepted tolerance limits by various countries.*

*It was concluded from the findings that the concentration in poultry feed samples may have some potential risks for animal and, indirectly, human health.*

**Özet:** *Bu çalışmada, yumurta tavuğu yemi (34 adet), broiler yemi (26 adet) ve yem ilkel maddelerinden (36 adet) oluşan toplam 96 örneğin aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, ve G<sub>2</sub>, türevleri yönünden analizi yapıldı. Tüm nümünelerin 62'sinde aflatoksin B<sub>1</sub>, 29'unda B<sub>2</sub> ve 18'inde G<sub>1</sub> bulunurken G<sub>2</sub>'ye rastlanamamıştır. Ortalama aflatoksin yoğunluğu bakımından üç çeşit yem grubunda B<sub>1</sub> türevinin en yüksek düzeyde (yumurta tavuğu yemi 7.628 ± 2.449 µg/kg, yem ilkel maddeleri 4.000 ± 0.908 µg/kg ve broiler*

\* Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Birimi. Ankara Turkey.

\*\* Prof. Dr. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı, Bursa-Turkey.

\*\*\* Dr. med. vet. A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Birimi. Ankara-Turkey.

yemi  $3.546 \pm 0.866 \mu\text{g}/\text{kg}$  bulunurken, bunu  $B_2$  (yumurta tavuğu yemi  $0.942 \pm 0.307 \mu\text{g}/\text{kg}$ , yem ilkel maddeleri  $0.952 \pm 0.569 \mu\text{g}/\text{kg}$  ve broiler yemi  $0.461 \pm 0.214 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) ve  $G_1$  (yumurta tavuğu yemi  $0.697 \pm 0.441 \mu\text{g}/\text{kg}$ , yem ilkel maddesi  $1.061 \pm 0.474 \mu\text{g}/\text{kg}$  ve broiler yemi  $0.011 \pm 0.068 \mu\text{g}/\text{kg}$  türülerinin izlediği anlaşıldı. Ortalama toplam aflatoksin varlığı yönünden de yumurta tavuğu yemlerinin en fazla kirlendiği ( $9.297 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) ve bunu yem ilkel maddeleri ile ( $6.042 \mu\text{g}/\text{kg}$ ), broiler yemlerinin ( $4.018 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) izlediği belirlendi. Literatür verileriyle karşılaştırılan aflatoksin düzeyleri daha düşük görülmekle beraber, çeşitli ülkelerde benzeri yem ve yem ilkel maddeleri için uygulanan tolerans limitlerinden genellikle yüksek ve raslantı insidensinin sıklığı dikkate alınarak insan ve hayvan sağlığı yönünden sakıncalı olabileceği sonucuna varıldı.

### Giriş

Günümüze değin izolasyonu başarılmış ve nitelikleri belirlenmiş mikotoksin çeşitlerinin çok yönlü toksik etki gösterebilecekleri anlaşıldıktan sonra, toksijenik mantarlardan ileri gelen besin kirlenmelerine ilişkin araştırmalar da giderek yoğunlaşmıştır (5,35,46). Önceleri bu tür olgular besinlerin estetik yönden bozulması şeklinde değerlendirilerek az küflenmiş besinlerin insanlar ve ileri derecede küflenmiş olanların da hayvanlar tarafından tüketilmesinde ciddi bir sakınca görülmemekteydi. Fakat, son yıllarda bilhassa kanatlı hayvanlarda karşılaşılan toplu zehirlenme olayları, besin kirlenmelerinin sanıldığından daha ciddi boyutları bulunan önemli bir doğal kirlenme sorunu olduğunu ortaya çıkarmıştır (49).

Küflenmiş besinlerde zehirlenmeye yol açan toksik madde, küf mantarlarının metabolizma ürünü olan mikotoksinlerdir (1,2,8). Günümüze değin varlığı ortaya konan 300.000'den fazla mantar türünden 250 kadarının toksijenik nitelikli olduğu ve bunlardan 20 kadar türün de salgıladıkları mikotoksinlerle insan ve hayvanlarda sık sık zehirlenmelere yol açtıkları saptanmıştır (5,16,42).

Bugünkü bilimsel verilere göre, doğal kirleticisi olarak insan ve hayvan sağlığı yönünden önem taşıyan ve besin ortamından izole edilerek kimyasal yapıları açıklanmış en önemli mikotoksin çeşitleri arasında aflatoksinler, okratoksinler, zearalenon, trikoteserler ve ergot alkaloidleri bulunur (3,32).

Çok sayıdaki mikotoksin çeşitleri arasında aflatoksinler, insan ve bütün hayvanlara karşı aşırı derecede toksisite göstermeleri, çok

çeşitli besin maddelerinde kolayca ve yaygın kirlenmelere neden olmaları, dolayısıyla sık sık zehirlenmelere ve kalıcı bozukluklara yol açmaları ve daha önemlisi kanserojen etkili olmaları nedenleriyle halen yoğun bir biçimde araştırılan mikotoksin grubunu oluştururlar (1,7,8,9,14).

Mantarlar, tahıl ve çeşitli yiyeceklerde besin ve ekonomik değer kaybına yol açan nedenlerin başında gelirler. Her yıl dünya tahıl ve yağlı tohum ürününün % 1'inden fazlası mantarların yol açtığı çürüme ve küflenme olgularıyla işe yaramaz hale gelir. Tarlada veya depolama yerlerinde çevresel koşullar mantar çoğalmasına uygun olduğu zaman hemen hemen tüm besin maddeleri küflenebilirler (14,34,49).

Çeşitli tahıllar, insan ve hayvan yiyeceklerinin küflenmesi ve dolayısıyla mikotoksinlerle kirlenme derecesi ısı, oransal nem, ortam havasının bileşimi, ürünlerde şekillenen mekanik hasar olgusu, besinlerin kimyasal bileşimi, yağ içeriği, pH durumu gibi çevresel ve hazırlayıcı koşullara göre önemli ölçüde değişebilir (35,43).

Farklı türden mantarların üremesi yönünden, belli çevresel koşullarda ve coğrafi bölgelerde bulunan bazı besin çeşitleri daha uygun bir ortam oluştururlar (46). Özellikle tropik ve subtropik iklime sahip ülkelerde üretilen yer fıstığı, mısır, soya fasülyesi, pamuk tohumu unu gibi yağlı ürünler ile bunlarla hazırlanan insan ve hayvan yiyecekleri her zaman için küflenme riskiyle karşı karşıyadırlar (22,23, 28,45).

Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus flavus*, *As. Parasiticus* ve benzeri mantar türleri oldukça farklı nitelikteki çevre koşullarına uyum gösterebilirler. Hemen her çeşit tahıl, hazır besin ve karma yemlerde kolayca üreyebilirler. Dolayısıyla farklı iklim koşullarına sahip pek çok ülkede bu tür mantarlardan ileri gelen küflenme sorunlarıyla karşılaşma olasılığı büyüktür (7,11,28). Nitekim bu sorunun önceleri daha çok tropik ve subtropik iklime sahip ülkelere özgü olduğu sanılırken, son zamanlarda yapılan yoğun araştırmalar sonucunda, tüm dünyada karşılaşılabileceği gerçeği ortaya çıkmıştır (22,23,43).

Küflenmiş yiyeceklerin görünüşleri ve hijyenik kaliteleri önemli ölçüde bozulur. Bu tür besinlerin dış görünüşlerine bakılarak küflenmeye sebep olan mantarların toksijenik nitelikli olup olmadıkları anlaşılabilir. Her ikisi de benzer şekilde karakteristik renk değişikliklerine neden olurlar, besin ortamında ısı artışına yol açarlar ve jermine hasara uğratarak, jermine gücü azaltırlar (22,28,30).

Aflatoksin zehirlenmeleri ilk kez 1960'da İngiltere'de hindi, ördek ve sülün palazlarında baş gösteren ve 100.000'den fazla hayvanın ölümüyle sonuçlanan toplu zehirlenme olayıyla dikkati çekmiştir (3,23,33). Bu ülkeye Güney Afrika ülkelerinden dış alımı yapılan küflü yer fıstıklarının hayvan yemi olarak kullanılması sonucu ortaya çıkan zehirlenmeler, önceleri etkeni bilinmediğinden "Hindi-X hastalığı" olarak adlandırılmıştır. Fakat sonraki yıllarda konuya ilişkin yapılan araştırmalarla (1,2,4,29,32,33) zehirlenmelerin yer fıstığında üreyen *As. flavus* ve *As. parasiticus*'un metabolizma ürünlerinden ileri geldiği anlaşıldıktan sonra mantar türünün adıyla ilgili olarak bu grup mikotoksinlere aflatoksin ve sebep oldukları zehirlenmelere de aflatoksikoz adı verilmiştir.

İnsan ve tüm hayvan türlerinin aflatoksinlere karşı duyarlı oldukları anlaşılmıştır. Türler arasında ördek ve hindi palazları, tavşan, kobay, rat ve alabalık en duyarlı olanlardır. Bu türlerde aflatoksin B<sub>1</sub>'in LD<sub>50</sub>, dozu 1 mg/kg veya daha düşük düzeydedir. İkinci derecede duyarlı olan hayvanlar arasında ergin kanatlılar, domuz, hamster, vizon, maymun, dana, kuzu ve som balığı bulunur. Aflatoksin B<sub>1</sub>'in belirtilen türlerdeki LD<sub>50</sub>, dozu da 10 mg/kg dolayındadır. Ergin sığır, koyun ve fare ise en az duyarlı olan hayvanlardır (6,13). Kanatlılar arasında duyarlılık derecesi ördek, hindi ve sülün palazları, piliçler, bıldırcın yavruları, ergin sülünler ve bıldırcınlar sırasını izleyerek azalır (13,28,29).

Genellikle çok genç hayvanlar yaşlılardan, erkekler de dişilerden daha fazla aflatoksinlere duyarlıdırlar. Çiftlik hayvanları arasında duyarlılık derecesi kanatlı, domuz, sığır, at ve koyun sırasını izleyerek azalır. Bununla beraber bir kaç günlük civcivler, üç aylıktan küçük domuz yavruları ile altı aylığa kadar olan danalar ergin olanlardan oldukça duyarlıdırlar (49).

Alınan aflatoksin miktarına bağlı olarak duyarlı türlerde akut, subakut ve kronik zehirlenmeler şekillenir. Klinik olarak çok seyrek karşılaşılan akut ve subakut zehirlenmeler fazla miktarda aflatoksinin bir defada veya kısa sürede alınmasıyla ortaya çıkar. Genellikle klinik aflatoksikozis terimini karşılayan kronik zehirlenmeler ise, küflenmiş yemlerle beslenmede olduğu gibi, sürekli olarak düşük dozlarda aflatoksin alınması sonucu gelişir (46). Tüm türlerde karşılaşılan klinik belirtiler ve patolojik bozukluklar aşağı yukarı birbirine benzer (26). Evcil hayvanlarda en fazla ekonomik kayıba yol açan ve insan sağlığı yönünden de çok sakıncalı olarak görülen kronik

zehirlenmelerde karşılaşılan başlıca ortak klinik belirtiler iştihazsızlık, ağırlık kaybı, büyümenin yavaşlaması ve hatta durması, vücut direncinin kırılması, yemden yararlanma yeteneğinin azalması ve verim düşüklüğüdür. Türler gere göre az çok değışmekle beraber, karaciğerde baş gösteren işlevsel yetersizliğe bağılı olarak sarılık, anoreksi, depresyon ve diyare gibi belirtiler de görülebilir. Bunların dışında genellikle ölümden bir kaç gün öncesine kadar dikkati çekici her hangi bir belirti görülmez (2,4,7,10,15,21,23,26,44).

Klinik ve deneysel aflatoksikozis olaylarında tüm türlerde karşılaşılan en belirgin patolojik bozukluklar karaciğer üzerinde yoğunlaşır (8). Akut ve subakut olaylarda karaciğer solgun bir görünüm alır; nekroz odakları, safra kanallarında proliferasyon, yağ dejenerasyonu ve peteşiyal kanamalar şekillenir. Kronik olaylarda ise, yaygın ve nodüler karaciğer hiperplazisi, nekrozis ve fibrosis ile kendini gösteren interstisyel hepatitis gelişir (14, 26,29).

Tekrarlanan dozlarda ağızdan verilen aflatoksin B<sub>1</sub>'in bazı koşullarda maymunlar dahil tüm deney hayvanlarında hepatokarsinojenik etki gösterdiği saptanmıştır (9,17,47,48). Ördek ve hindi palazı, civciv, kobay, rat, domuz ve köpek türünden hayvanlar kullanılarak yapılan deneysel çalışmaların hemen hepsinde alınan aflatoksin miktarına bağılı olarak 7 ay ile 5.5 yıl arasında karaciğer kanseri şekillenmiştir (6,24,25,46,48). Tüm aflatoksin türleri (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub>) kanserojen etkili olmakla beraber bu yönde aflatoksin B<sub>1</sub> en güçlü etkiye sahip bir türevidir ve hatta bilinen en güçlü kanserojen maddelerin başında gelir (7,12,46,47). Deneysel çalışmalarda aflatoksin B<sub>1</sub>'in ratlarda çok düşük oranlarda böbrek epitel tümörleri de yaptığı anlaşılmıştır.

Aflatoksin yedirilen ratlarda DNA inhibisyonu, RNA polimeraz sentezinin ve etkinliğinin engellenmesi gibi biyokimyasal bozukluklar saptanmıştır. Benzeri bozukluklara hücre kültüründe ve insanlarda da rastlanmıştır (27,47).

Aflatoksikozis olgularında ortaya çıkan klinik belirtiler ve patolojik bozukluklar seçkin nitelikli değildir. Bu yüzden de klinik tanıları güçlkle yapılır. Bilhassa kronik aflatoksikozisler her zaman için gözden kaçabilir. Klinik belirtiler hemen her çeşit karaciğer bozukluğu ve yetersizliğinde görülebilen tiptendir. Patolojik bozukluklar da hemorajik ve septisemik hastalıklarla karıştırılabilir. Küflenme olaylarına katılan mantar türleri her zaman için toksijenik nitelikli olmadığından, sadece hasta hayvanlara verilen yemlerdeki görülebilir

küflenmelere dayanılarak tanıya gitmek de güvenli bir uygulama sayılamaz (14,22,46). Bu nedenlerle gerek aflatoksikozislerin tanınmasında ve gerekse yemlerdeki kirlenme durumunun saptanmasında güvenilir bir uygulama olarak aflatoksinlerin varlığını ortaya koyabilecek yöntemlere başvurulur (43).

Yiyeceklerde, hayvansal dokularda ve biyolojik sıvılarda aflatoksin varlığının belirlenmesi amacıyla en fazla baş vurulan yöntemler arasında şüpheli maddelerden hazırlanan ekstraktların bir günlük ördek palazlarına ve alabalıklara verilerek ortaya çıkan klinik belirtiler, ölümler ve otopsi bulgularının incelenmesi, ördek ve tavuk embriyolarında toksite denemelerinin yapılması, doku kültürlerine ekimler yapılarak hücre dejenerasyonlarının incelenmesi, toksijenik mantar türlerinin izole ve idantifiye edilmesi, indikatör olarak bazı seçkin salmonella suşları kullanılarak karsinojenik etkili aflatoksin varlığının ortaya çıkartılması ve nihayet elde edilen ekstraktların kromatografik ve fluorodansitometrik yöntemlerden biriyle nitel ve nicel olarak analizi bulunur (5,22,28,42,46).

Ülkemizde her geçen yıl önemi biraz daha artan hayvancılığın başlıca girdilerinden birini oluşturan karma yemler ile bunların hazırlanmasında kullanılan ilkel maddelerin hijyenik kaliteleri hakkında yeterli bilgi sahibi olmak, hem hayvancılığın gelişmesi ve hem de halk sağlığı yönünden çok önemlidir. Çünkü herhangi bir karma yemin bileşimine katılan maddelerin bileşimi ve çeşidi kadar kalitesi de değer taşır. Öte yandan son yıllarda yemlerin küflenmesi ve kalitesinin bozulması sonucu ortaya çıkan olumsuz koşulların hem hayvan üreticisinin ve hem de yem sanayiinin önemli sorunu haline geldiğini görmekteyiz. Bu çalışmamız, bazı karma tavuk yemleri ve ilkel maddelerinin aflatoksinlerle kirlenme durumunu saptayarak, gerekli önlemlerin alınmasına katkıda bulunmak için ele alınmıştır.

### **Materyal ve Metot**

#### *Analiz nümuneleri :*

Çeşitli kamu kuruluşları, özel tavukçuluk işletmeleri ve yem fabrikalarından, zehirlenmelere neden olduğundan kuşkulandığı için toksikolojik analizi yapılmak üzere gönderilen yumurta tavuğu yemi (34 adet), broiler yemi (26 adet) ve yem ilkel maddeleri (36 adet) üzerinde aflatoksin kalıntıları araştırıldı.

*Adsorbanlar :*

1- *Silikajel-G*: (İnce-tabaka kromatografisi için, Type 60, Merck, Art. 7731): Bağlayıcı madde olarak % 13 oranında alçı içerir ve % 10'luk sulu süspansiyonun pH'sı 7'dir.

2- *Silikajel* (Kolon kromatografisi için, 70-230 mesh ASTM, Merck, Art. 7734) 80°C'da iki saat süreyle aktive edilip, desikatörde kurutulduktan sonra, ağırlık/ağırlık esasına göre % 1 oranında damıtık su katılarak iyice karıştırılmakla bölümsel olarak deaktive edildi; analiz süresince desikatörde saklandı.

*Ayrıçıklar :*

1- *Sodyum sülfat*: (Anhidr, granüllü, Merck, Art. 6649).

2- *Kurşun asetat çözeltisi*: 20 g. nötral kurşun asetat trihidrat, balon jode bir miktar damıtık suda çözdürüldükten sonra, 0.3 ml. glasiyal asetik asit katıldı ve damıtık su ile hacmi 100 ml. ye ulaştırıldı.

3- *Doymuş sodyum klorür çözeltisi*.

4- *Alüminyum klorür çözeltisi*: % 95 etil alkolde % 24'lük.

5- *Trifluoroasetik asit* (Merck, Art. 808206).

6- *Sülfürik asit* (% 25'lik).

7- *Formik asit* (Merck, Art. 263).

8- *Potasyum klorür çözeltisi* (% 4'lük sulu çözelti).

9- *Aflatoksin standartları*: Özel ambalajlar içerisinde sağlanan kuru, kristalize toz halindeki aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> standartları (Sigma Chemical Company), etiketleri üzerindeki ağırlıkları dikkate alınarak 8-10 µg/ml'lik yoğunluk sağlayacak şekilde benzol: asetonitril (98:2) karışımında çözdürüldü. Bu standart depo çözeltilerin mililitresinde bulunan aflatoksin yoğunlukları spektrofotometrede ultraviyole (UV) absorban ölçme yöntemiyle (16) belirlendi. Aynı çözeltinin uygun bir bölümü benzol: asetonitril karışımıyla 0.5 µg/ml yoğunluğuna kadar seyreltilmekle ince-tabaka kromatografisine uygulama çözeltisi hazırlandı. Denemelerde kullanılmak üzere, uygulama çözeltisinden belli bir miktar ayırıldıktan sonra geri kalan standart depo çözeltisi ile birlikte ayrı ayrı mg düzeyine kadar tartılarak ağırlıkları referans amacıyla kaydedilip, şişeleri alüminyum plakalarla sarılmış halde soğutucuda saklandı. Çalışmalar sırasında soğutucudan çıkartılan standard ısısının oda ısısına çıkması için yeterli süre beklendi.

*Çözücüler :*

- 1- Asetonitril (Merck, Art. 800015).
- 2- Benzol (Merck, Art. 1781)
- 3- İzooktan (Merck, Art. 2727).
- 4- Kloroform (Merck, Art. 2431)
- 5- n-hekzan (Merck, Art. 4368)
- 6- Dietileter (Anhidr, Merck, Art. 921)
- 7- Metanol (Merck, Art. 6008)
- 8- Toluol (Riedel, 242-51)
- 9- Etil asetat (Merck, Art. 864).

Analizde kullanılan tüm çözücü ve ayıraçlar kromatografik analiz kalitesinde seçildi.

*Aygıtlar :*

- 1- İnce-tabaka kromatografisi aygıtı ve ekleri (Desaga).
- 2- Ultraviyole (UV) lambaları (Chromatolux 2L, Pleguer): 16 watt, uzun ve kısa dalga bir arada.
- 3- Spektrofotometre (Beckman, Model -B)
- 4- Rotatif evaporatör (Buchi).
- 5- Homojenizatör (Virtis, Model)-23).
- 6- Etüv, desikatör, saç kurutma makinası, kromatografi kolonları (20 mm iç çaplı ve 400 mm uzunluğunda), ayırma hunileri, santrifüj tüpleri (ml bölümlü).

Yem nünunelerindeki aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, ve G<sub>2</sub> kalıntılarının nitel ve nicel analizleri, daha önce karma yemlerde aflatoksin aranması amacıyla uyarladığımız yöntem (43) göre yürütüldü. Özetle, yemlerdeki aflatoksin kalıntıları. (1) Asetonitril: potasyum klörür çözeltisi ile ekstrakte edildi. (2) kurşun asetat ve doymuş sodyum klörür çözeltileriyle divalan çöktürme ile ön temizleme işlemi yapıldı. (3) izooktan ile sıvı-sıvı dağılım kromatografisi uygulanarak, çözülebilir yağlı kirlilikler giderildi. (4) silikajel kolon kromatografisi ile ileri temizleme işlemi yapıldı. (5) ince-tabaka kromatografisi ile nitel ve nicel kalıntı belirlemesi sonuçlandırılarak, bulunan değerler p.p.b. (µg/ kg) şeklinde hesaplandı.



## Sonuçlar ve Tartışma

Yumurta tavuğu yemi, broiler yemi ve yem ilkel maddeleri olmak üzere üç grupta toplanan 96 nümunedeki aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> bakımından yapılan analizlerden elde edilen bulgular Çizelge I. II. ve III.'de sergilenmiştir. Çizelgelerden izlenebileceği gibi, aflatoksin rastlantı oraları yüksektir. Bunun nedeni çalışmanın gereğini oluşturan tüm nünunelerin küflenme kuşkusuyla gönderilmiş yemler olmasıdır. Rastlantı yönünden değerlendirme yapıldığında, 34 yumurta tavuğu yem nünunesinden 24'ünde B<sub>1</sub>, 10'unda B<sub>2</sub>, 4'ünde G<sub>1</sub> kalıntıları; 26 broiler yeminden 17'sinde B<sub>1</sub>, 10'unda B<sub>2</sub>, 2'sinde G<sub>1</sub>; 36 yem ilkel maddesinden 21'inde B<sub>1</sub>, 9'unda B<sub>2</sub>, 12'sinde G<sub>1</sub>'e rastlanmış; aflatoksin G<sub>2</sub> numunelerin hiç birinde bulunamamıştır. Toplam 96 nünunedeki 62'sinde aflatoksin B<sub>1</sub>, 29'unda B<sub>2</sub> ve 18'inde G<sub>1</sub> bulunduğu göze çarpmaktadır. Rastlantı yönünden olduğu gibi, aflatoksin düzeyi bakımından da B<sub>1</sub> ortalaması daha yüksektir ve bunu aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>1</sub> izlemektedir (Çizelge 4).

Aflatoksin yönünden en yüksek kirlenmenin yumurta tavuğu yeminde (9.297 µg/kg) olduğu ve bunu yem ilkel maddeleri (6.042 µg/kg) izlediği görülmektedir. Yem ilkel maddeleri içinde ay çiçeği ve pamuk tohumu küspelerinde aflatoksin kalıntı rastlantı ve düzeyi, diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Nünunelerin kökenlerine göre, Lalahan Zootekni Araştırma Enstitüsünde hazırlanan yumurta tavuğu yemleri ile Ankara Yem Sanayii'nin ürettiği yumurta tavuğu ve broiler yemlerindeki aflatoksin bulunma oranları, ötekilerden daha fazla görülmektedir.

Çeşitli ülkelerde, özellikle son zamanlarda, karma yemlerde ve yem ilkel maddelerindeki küflenme olgusu üzerinde dikkatle durulmakta; bu yönden rutin kontroller ve yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Çeşitli araştırmacılar bu bakımda elde ettikleri bulgulara göre, yer fıstığı nünunelerinde 10-22.400 µg/kg (18, 38); soya fasülyesinde 4-81 µg/kg (37); pamuk tohumunda 151-1500 µg/kg (40), mısır çeşitlerinde 10-348 µg/kg (22,40); sorhum darısında 3-20 µg/kg (36); yulafta 0-6 µg/kg (35); çeşitli tahıllarda 0-9 µg/kg (35, 37); pirinçte 5-282 µg/kg (40, 46); karma yemlerde 0-50 ve 2000-15000 µg/kg düzeylerde (11,20,22,28,35,38,39,40,41). aflatoksine rastlanmıştır.

Scott, P.M. (35)'e göre çeşitli ülkelerde yemlerde ve yem ilkel maddelerinde bulunan aflatoksin kalıntı düzeyleri şöyledir: Kanada'

Çizelge I: Yumurta tavuğu yemlerinde belirlenen aflatoksinler ve düzeyleri ( $\mu\text{g./kg.}$  veya p.p.b.)

| YEM NÜMUNESİNİN |                 |                 | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |                |                |                |        |
|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı         | Hazırlanma tar. | B <sub>1</sub>                       | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Toplam |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1978            | 18                                   | 6              | 12             | -              | 36     |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1979            | 8                                    | -              | -              | -              | 8      |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1979            | 6                                    | -              | -              | -              | 6      |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1980            | 2                                    | 1              | -              | -              | 3      |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1980            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Lalahan         | 1981            | 12                                   | 3              | 2              | -              | 17     |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1978            | 12                                   | -              | 10             | -              | 22     |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1979            | 30                                   | 6              | -              | -              | 36     |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1980            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1981            | 1                                    | -              | -              | -              | 1      |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1981            | 7                                    | 2              | -              | -              | 9      |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Ank. yem. san.  | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | A.Ü.Vet.Fak.    | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | A.Ü.Vet.Fak.    | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | İzmir yem. san. | 1979            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| T. yum. yemi    | İzmir yem. san. | 1979            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| T. yum. yemi    | İzmir           | 1979            | 8                                    | 3              | -              | -              | 11     |

Çizelge 1'in devamı

| YEM NÜMUNESİNİN |                     |                 | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |                |                |                |        |
|-----------------|---------------------|-----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı             | Hazırlanma tar. | B <sub>1</sub>                       | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Toplam |
| T. yum. yemi    | Karaman yem. san.   | 1979            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| T. yum. yemi    | Eskişehir yem. san. | 1979            | -                                    | -              | 0.4            | -              | 0.4    |
| T. yum. yemi    | Eskişehir yem. san. | 1980            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| T. yum. yemi    | Bursa yem. san.     | 1979            | 3                                    | 2              | -              | -              | 5      |
| T. yum. yemi    | Bursa yem. san.     | 1979            | 4                                    | 2              | -              | -              | 6      |
| T. yum. yemi    | İnegöl/Bursa        | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | İnegöl/Bursa        | 1981            | 3                                    | -              | -              | -              | 3      |
| T. yum. yemi    | Elibol/Bursa        | 1981            | 80                                   | -              | -              | -              | 80     |
| T. yum. yemi    | Elibol/Bursa        | 1980            | 10                                   | -              | -              | -              | 10     |
| T. yum. yemi    | Bursa yem san.      | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Çifteler harası     | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Özkaşıkçı/Ank.      | 1978            | 14                                   | 6              | -              | -              | 20     |
| T. yum. yemi    | Bilyem Taş          | 1981            | 4                                    | 2              | -              | -              | 6      |
| T. yum. yemi    | Bol-yem/Bolu        | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Bol-yem/Bolu        | 1981            | 15                                   | -              | -              | -              | 15     |
| T. yum. yemi    | Yem san/İst.        | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| T. yum. yemi    | Yem san./İst.       | 1981            | 20                                   | -              | -              | -              | 20     |

Çizelge II: Broiler yemlerinde belirlenen aflatoksinler ve düzeyleri ( $\mu\text{g./kg.}$  veya p.p.b.)

| YEM NÜMUNESİNİN |                  |                 | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |                |                |                |        |
|-----------------|------------------|-----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı          | Hazırlanma tar. | B <sub>1</sub>                       | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Toplam |
| Broiler yemi    | Ankara yem. san. | 1979            | 8                                    | 3              | -              | -              | 11     |
| "               | Ankara yem. san. | 1979            | 3                                    | -              | -              | -              | 3      |
| "               | Ankara yem. san. | 1979            | 0.2                                  | -              | -              | -              | 0.2    |
| "               | Ankara yem. san. | 1980            | 0.6                                  | -              | -              | -              | 0.6    |
| "               | Ankara yem. san. | 1980            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Ankara yem. san. | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Ankara yem. san. | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Ankara yem. san. | 1981            | 1                                    | 0.2            | -              | -              | 1.2    |
| "               | Aysaş/Ankara     | 1981            | 5                                    | 0.4            | -              | -              | 5.4    |
| "               | Aysaş/Ankara     | 1981            | 1                                    | 0.1            | -              | -              | 1.1    |
| "               | Aysaş/Ankara     | 1981            | 4                                    | 1              | -              | -              | 5      |
| "               | Ankara köyleri   | 1980            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Ankara köyleri   | 1980            | -                                    | -              | -              | -              | -      |

Çizelge II'nin Devamı

| YEM NUMUNESİNİN |                     |                | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |                |                |                |        |
|-----------------|---------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı             | Hazırlama tar. | B <sub>1</sub>                       | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Toplam |
| Broiler yemi    | Eskişehir yem. san. | 1980           | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| "               | Safyem/Sivrihisar   | 1981           | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| "               | Safyem/Sivrihisar   | 1981           | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Bol-bak/Bolu        | 1980           | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Bol-bak/Bolu        | 1980           | 0.6                                  | -              | 0.2            | -              | 0.8    |
| "               | Bol:yem             | 1981           | 20                                   | 4              | -              | -              | 24     |
| "               | Bol-yem             | 1981           | 15                                   | 2              | -              | -              | 17     |
| "               | Bol-yem             | 1981           | 0.8                                  | 0.1            | 0.1            | -              | 1      |
| "               | Bursa yem san.      | 1981           | 6                                    | 1              | -              | -              | 7      |
| "               | Bursa yem san.      | 1981           | 1                                    | 0.2            | -              | -              | 1.2    |
| "               | Bursa yem san.      | 1981           | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Bursa yem san.      | 1981           | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Bursa yem san.      | 1981           | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |

Çizelge III: Yem ilkel maddelerinde belirlenen aflatoksinler ve düzeyleri (µg./kg. veya p.p. b.)

| YEM NÜMUNESİNİN |                     |                 | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |                |                |                |        |
|-----------------|---------------------|-----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı             | Hazırlanma tar. | B <sub>1</sub>                       | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Toplam |
| Ay çiçeği küs.  | Eskişehir y.s.      | 1980            | 6                                    | 0.4            | -              | -              | 6.4    |
| "               | Eskişehir y.s.      | 1980            | 2                                    | -              | -              | -              | 2      |
| "               | Eskişehir y.s.      | 1981            | 13                                   | 2              | 0.4            | -              | 15.4   |
| "               | Eskişehir y.s.      | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Safyem/Eskişehir    | 1980            | 3                                    | 1              | 15             | -              | 19     |
| "               | Safyem/Eskişehir    | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Karacabey H.        | 1980            | 8                                    | -              | 6              | -              | 14     |
| "               | Karaköy H.          | 1981            | 12.5                                 | 1.5            | 2              | -              | 16     |
| "               | Mutlu çift./İst.    | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Mutlu çift./İst.    | 1981            | -                                    | -              | -              | -              | -      |
| "               | Bursa yem. san.     | 1980            | 10                                   | 2              | 0.6            | -              | 12.6   |
| "               | Bursa yem san.      | 1980            | 3                                    | -              | 0.2            | -              | 3.2    |
| "               | Elibol/Bursa        | 1981            | 8                                    | 3              | 0.4            | -              | 11.4   |
| "               | Elibol/Bursa        | 1981            | 15                                   | 4              | 0.6            | -              | 19.6   |
| Pamuk toh. küs. | Tariş/İzmir         | 1979            | 10                                   | -              | 6              | -              | 16     |
| "               | Tariş/İzmir         | 1979            | 6                                    | -              | 1              | -              | 7      |
| "               | Eskişehir yem. fab. | 1980            | 8                                    | 2              | -              | -              | 10     |
| "               | Adana yem san.      | 1981            | 12                                   | -              | 2              | -              | 14     |

| YEM NÜMUNESİNİN |                |                | BULUNAN AFLATOKSİN ÇEŞİDİ ve MİKTARI |    |   |   |        |
|-----------------|----------------|----------------|--------------------------------------|----|---|---|--------|
| Çeşidi          | Kaynağı        | Hazırlanma tar | B                                    | B  | G | G | Toplam |
| Pamuk toh, küs. | Bursa yem san. | 1980           | 2                                    | -  | - | - | 2      |
| "               | Bursa yem san. | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| "               | İstanbul       | 1981           | -                                    | -  | - | - | -      |
| "               | İstanbul       | 1981           | 0.7                                  | -  | - | - | 0.7    |
| Mezbaha ürünü   | İzmir          | 1979           | 20                                   | 20 | 4 | - | 44     |
| Et, unu         | Ankara         | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| "               | Ankara         | 1980           | 0.2                                  | -  | - | - | 0.2    |
| "               | Ankara         | 1981           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Balık unu       | Trabzon        | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Balık unu       | Karaman        | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Balık unu       | Eskişehir      | 1980           | 0.4                                  | -  | - | - | 0.4    |
| Balık unu       | Eskişehir      | 1981           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Pancar posası   | Ankara         | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Pancar posası   | Ankara         | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Arpa kırması    | Haymana        | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Arpa kırması    | Haymana        | 1980           | -                                    | -  | - | - | -      |
| Arpa kırması    | Çifteler H.    | 1981           | 4                                    | -  | - | - | 4      |
| Arpa kırması    | Karaköy H.     | 1981           | 0.2                                  | -  | - | - | 0.2    |

Çizelge IV: Yem türüne göre bulunan aflatoksinlerin ortalama düzeyleri ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

| Yem Türü            | Ortalama aflatoksin düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |                  |                  |                |                  |
|---------------------|--------------------------------------------------------|------------------|------------------|----------------|------------------|
|                     | B <sub>1</sub>                                         | B <sub>2</sub>   | G <sub>1</sub>   | G <sub>2</sub> | Top. Ort.        |
| Yumurta tavuğu yemi | 7.628 +<br>2.449                                       | 0.942 +<br>0.307 | 0.697 +<br>0.441 | —              | 9.297 +<br>2.668 |
| Broiler yemi        | 3.546 +<br>0.856                                       | 0.461 +<br>0.214 | 0.011 +<br>0.008 | —              | 4.018 +<br>1.114 |
| Yem ilkel maddeleri | 4.000 +<br>0.908                                       | 0.952 +<br>0.569 | 1.061 +<br>0.476 | —              | 6.042 +<br>1.557 |

da yemlerde 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  B<sub>1</sub>; Fransa'da tahıllarda 225  $\mu\text{g}/\text{kg}$  B<sub>1</sub>, karışık yemlerde 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  B<sub>1</sub>; İngiltere'de (yerfıstığı dışındaki) yemlerde 40-270  $\mu\text{g}$  total aflatoksin; Polonya'da çeşitli yemlerde 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  B<sub>1</sub>; Batı Almanya'da yemlerde 7-300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  B<sub>1</sub>

Literatür verileriyle karşılaştırıldığında, kuşku yemlerin ve yem ilkel maddelerinin analizleri sonucunda belirlediğimiz aflatoksin düzeyleri yüksek görünmemektedir. Ama, bu yemlerin önemli derecede mortalite veya verim düşüklüğü görülen işletmelerden gönderildiği düşünülürse, yinde tehlikeli bir küflenme olgusuna işaret ettiği varsayılmalıdır. Yurdumuzda, yem ilkel maddelerinin depolanmasına ve işlenmesine ilişkin koşullar dikkate alındığında, birçok ülkeye göre sorunun boyutlarının bulgularımızla karşılaştırılamıyacak ölçülerde büyük olabileceği de gözden uzak tutulmamalıdır. Çünkü çok sayıda kümes hayvanında ölümlerin meydana geldiği işletmelerden gönderilen yem numunelerinde aflatoksinlere yüksek oranda rastlanabilmektedir. Yurdumuzda bu yönden kabul edilmiş tolerans limitleri bulunmaması ve rutin aflatoksin taraması yapılmaması da risk yaratabilmektedir.

Genellikle yemlerde aflatoksin B<sub>1</sub> bakımından uygulanan tolerans limitleri mg/kg olarak şöyledir: Yem ilkel maddeleri için 0.7; doğrudan yem olarak kullanılan ilkel maddeler için 0.05; evcil ruminantlara verilen kompoze yemler için 0.05; ördekler hariç ergin kanatlılar ve süt sığırlarına verilecek yemler için 0.02 ve diğer kompoze yemler için resmi analiz yöntemleriyle saptanabilen en düşük düzeyler. A.B.D.'inde her çeşit hayvan yeminde bulunmasına izin verilen aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyi 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  olarak sınırlandırılmıştır. Bu ülkede, insan besinlerinde aflatoksin varlığına izin verilmemektedir (42),



Evcil kanatlılarda kronik toksik etki meydana getirebilen ve yemlerde bulunan aflatoksin konsantrasyonu ortalama 0.5 mg/kg olarak bildirilmektedir (49).

Yemlerde bulunan düşük düzeylerdeki aflatoksinlerin evcil kanatlılarda neden olduğu kitlesel ölümler veya karaciğer nekrozu, kanama, koagulopati, immunogenezisin bozulması, direncin kırılması, gelişmenin yavaşlaması, yumurta üretiminin azalması gibi kronik toksik etkilerin yanında, küflenmiş besinlerle beslenen hayvanların yumurtalarına ve etlerine ve sütlerine aflatoksin kalıntıları geçmektedir (2,4,19,31,45,46). Bu kalıntılar et, süt, yumurta aracılığıyla insan vücuduna yansımaktadır; yani evcil hayvanların yemleriyle birlikte aldığı subletal düzeylerdeki aflatoksinler, sonunda bu hayvanların yenilebilir ürünleri yoluyla insan sağlığını tehdit etmektedir. Ayrıca, aflatoksinler ısıya ve besinlerin teknolojik işleme yöntemlerine genellikle dayanıklı olduğu için, besinlerin hazırlanması sırasında pek az kayba uğrar. Öte yandan, birkaç kilogram yem ilkel maddesi veya besin çeşidi, diğer besinlerle karıştırılınca tüm karışımda kontaminasyona yol açar. Bu nedenle iyi görünümlü küflerden arınmış sanılan birçok besinlerde küf bulunabilmektedir. Bu noktalar dikkate alındığında, besinlerdeki aflatoksin varlığının en güvenilir biçimde ortaya çıkarılması için kesinlikle fiziko-kimyasal yöntemlerle analitik taramalar yapılması gerekmektedir (7,22,28,40).

Besin küflenmelerinin önlenmesi; küflenme olgusunun analitik yoklamalarla saptanması; sakıncalı düzeylerde aflatoksin içeren besinlerin insan ve hayvanlarca tüketiminin önlenmesi şeklindeki koruyucu uygulamalar bugün aflatoksin sorununun çözümünde en geçerli önlemler olarak düşünülmektedir.

### Literatür

- 1- **Allcroft, R. and Carnaghan, R.B.A.** (1962): *Groundnut toxicity Aspergillus flavus toxin (aflatoxin) in animal products.* Vet. Rec., 74, 863-864.
- 2- **Allcroft, R. and Carnaghan, R.B.A.** (1963): *Groundnut toxicity: An experimentation for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal.* Vet. Rec., 75, 259-263.
- 3- **Allcroft, R. et al.** (1961): *A toxic factor in Brazilian Groundnut meal.* Vet. Rec., 73, 428-429
- 4- **Allcroft, R. and Roberts, B.A.** (1968): *Toxic groundnut meal: the relationship between aflatoxin B<sub>1</sub> intake by cows and excretion of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk.* Vet. Rec., 82, 116-118.
- 5- **Arda, M.** (1980): *Mikoloji.* A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları No: 366, Ders kitabı No: 264. A.Ü. Basımevi-Ankara.

- 6- **Bost, J. et Gastellu** (1976): *L'aflatoxicose chronique du chien*. Etude experimentale d'une d'une intoxication collective. *Revue Med. Vet.*, 3, 391-415.
- 7- **Butler, W. H.** (1974): *Aflatoxin*. In Purchase, I.F.H. ed. *Mycotoxins*, Amsterdam, Elseviere, p.p. 1-28.
- 8- **Butler, W. H., Greenbaltt, M. and Liyinsky, W.** (1969): *Carcinogenesis in rats by aflatoxin B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub>*. *Can. Res.*, 29, 2206-2211.
- 9- **Carnaghan, R.B.A.** (1967): *Hepatic tumors and other chronic liver changes in rats following a single oral administration of aflatoxin*. *Br. J. Can.*, 21, 811-814.
- 10- **Clegg, F.G. and Bryson, H.** (1962): *An outbreak of poisoning in store cattle attributed to Brazilian groundnut meal*. *Vet. Rec.*, 74, 992-994.
- 11- **Demirer, M. A. ve ark.** (1979): *Piyasada satılmakta olan bazı karma yemlerde ve yem hammaddelerinde aflatoxin B<sub>1</sub> araştırmaları*. *A.Ü.Vet. Fak. Derg.*, 26 (1-2), 169-184.
- 12- **Epstein, S. M., Bartus, B. and Farber, E.** (1969): *Renal epithelial neoplasm induced in male Wistar rats by oral aflatoxin B<sub>1</sub>*. *Can. Res.*, 29, 1045-1050.
- 13- **Goldblatt, L.A.** (1969): *Aflatoxins*. Academic Press. N.Y. et Londres p. 472.
- 14- **Goldblatt, L.A.** (1972): *Aflatoxin. Scientific background, control and implications*. 2. ed. Academic press, New York and London. pp. 1-472.
- 15- **Hamilton, P.B.** (1976): *Effect of aflatoxin animal and interrelationship with nutrition*. *Feeds-tuffs*, 3, 22-23.
- 16- **Horwitz, W., et al.** (1975): *Natural poisons*. In: chapter 26. Official methods of analysis of the Association of official analytical chemistry, Washington, DC. A.O.A.C.p. 24.
- 17- **IARC:** (1976): *Aflatoxins*. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man: same naturally occurring substances. Lyons, International Agency for Research on cancer, Vol. 10, pp. 51-72.
- 18- **Jacquet, T., Boutibonnes, P. et Tcherani, A.** (1971): *Recherche des flavocumarines par chromatographie en couche mince. Importance de la discrimination des autres taches fluorescentes*. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, 44, 263-275.
- 19- **Jemmali, M. and Murthy, T.R.K.** (1976): *A chemical assay method for the determination of aflatoxin residues in animal tissues*. *Z. Lebensmitt. Unter. Forsch.*, 161, 13-17.
- 20- **Kiermeier, F., et al.** (1977): *On the presence the content of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk shipped to a dairy plant*. *Z. Lebensmitt. Unters. Forsch.*, 163, 171-174.
- 21- **Krisnamachari, K.A.V.R. et al.** (1975): *Investigations into an outbreak of hepatitis in parts of Western India*. *Indian J. Med. Res.*, 63, 1036-1048.
- 22- **Labarthe, B.** (1975): *Etude d'une mycotoxine, polluant de derrees alimentaires: L'aflatoxine l'arachide*. *L'Alim. et la Vic*, 67 (1), 12-25.
- 23- **Loosmore, R. M. and Harding, J.D.S.** (1961): *A toxic factor in Brazilian Groundnut causing liver damage*. *Vet. Rec.*, 73, 1362-1364.
- 24- **Mantel, N. and Bryan, W. R.** (1961): *Safety testing of carcinogenic agents*. *S. Natl. Cancer. Inst.*, 27, 455-470.
- 25- **Mantel, N., et al.** (1975): *An improved "Mautel-Bryan" procednre for "safety" testing of carcinogens*. *Can. Res.*, 35, 865-872.

- 26- **Newberne, P.M. and Butler, W. H.** (1969): *Acute and chronic effects of aflatoxins on the liver of domestics and laboratory animals: A review.* Can. Res., 29, 236-250.
- 27- **Pong, R. S. and Wogan, G.N.** (1970): *Time course and dose-response characteristics of aflatoxin B<sub>1</sub> effects on rat liver RNA polymerase and ultrastructure.* Can. Res., 30, 294-309.
- 28- **Prior, M.G.** (1976): *Mycotoxin determination on animal feedstuffs and tissues in Western Canada.* Canadian Journal of Comparative Medicine, 40 (1), 75-79.
- 29- **Purchase, I.F.H.** (1967): *Acute toxicity of aflatoxins M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub> in one-day old duckling.* *Fd. Sosmet. Toxicol.*, 5, 339-342.
- 30- **Roberts, B.A. and Patterson, D.S.P.** (1979): *Second meeting on mycotoxins in animal disease.* Aberdeen-1976, Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, Surrey KT 15 3 NB, p. 40-45.
- 31- **Rodricks, J.V. and Stoloff, L.** (1977): *Food producing animals.* In: Rodricks, J. V., Hesselatine, C.WW. and Mehlman, M. A., ed. *Mycotoxins in human and animal health* Park Forest South, IL, U.S.A. Pathotox publishers Inc., pp. 67-79.
- 32- **Sargeant, K., Allcroft, R. and Carnaghan, R.B.A.** (1961): *Groundnut toxicith.* Vet. Rec., 73, 865-868.
- 33- **Sargeant, K., et al.** (1961): *The assay of a toxic principle in certain groundnut meals.* Vet. Rec., 73, 1219-1223.
- 34- **Schoental, R.** (1967): *Aflatoxins.* A Rev. Pharmac., 7, 343-356.
- 35- **Scott, P. M.** (1978): *Mycotoxins in feeds and ingredients and their origin.* Journal of food Protection 41, (5): 385-398.
- 36- **Shotwell, O. L. et al.** (1969): *Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin. I. Wheat, grain, sorghum, and oats.* Cereal chem., 46, 446-454.
- 37- **Shotwell, O. L. et al.** (1969): *Survey of ceral grains and soybeans for the presence of aflatoxins. II. Corn and soybeans.* Cereal Chem., 46, 454-463.
- 38- **Shreeve, B.S., Patterson, D.S.P. and Roberts, B.A.** (1975): *Investigations of suspected cases of mycotoxicosis in farm animals in Britain.* Vet. Rec., 97, 275-278.
- 39- **Smith, J.W. and Hamilton, P.B.** (1970): *Aflatoxicosis in the broiler chicken.* Poultry Sci., 49, 207-215.
- 40- **Stoloff, L.** (1976): *Occueance of mycotoxins in foods and feeds.* In: Rodricks, J. V. ed. *Mycotoxins and other fungal related food problems.* Washington, D.C. American Chemical Society, pp. 23-50.
- 41- **Strzelecki, E. L. and Gasiorowska, U. W.** (1974): *Aflatoxin B<sub>1</sub> in feedstuffs.* Zentralbl. Vet. Med. B., 21, 395-400.
- 42- **Şanlı, Y.** (1980): *Besinlerde küflenme olgusu ve mikotoksikozisler.* Gıda bilimi ve Teknolojisi Dergisi, 3, (3-4): 127-147.
- 43- **Şanlı, Y., Ceylan, S. ve Kaya, S.** (1982): *Karma yemlerde aflatoksin analizi.* A. Ü. Vet. Fak. Derg. 29 (1-2), 50-70.
- 44- **Tanton, B. N., et al.** (1977): *Study of an epidemis of jaundice, presumably due to toxic hepatitis in northwest India,* Gast-roenterology, 72, 488-494.

- 45- **Van Rensburg, S. J.** (1977): *Role of epidemiology in the elucidation of mycotoxin health risks.* In: Rodricks, J. V., Hesseltine, C.W. and Mehlman, M.A., ed. *Mycotoxins in human and animal health, park forest south, IL, U.S.A., Pathotox publ.,* pp. 699-711.
- 46- **W.H.O.** (1979): *Environmental health criteria 11, Mycotoxins.* Geneva, World Health Organization, pp. 1-127.
- 47- **Wogan, G. N.** (1973): *Aflatoxin carcinogenesis.* In: Bush, M., ed. *Methods in cancer research,* New York, Academic press, pp. 309-344.
- 48- **Wogan, G. N., Paglialunga, S. and Newberne, P. M.** (1974): *Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats.* *Food Cosmet. Toxicol.,* 12, 681-685.
- 49- **Zinten, H.** (1976): *Aflatoksin sorunu. Vitamin* (Roche yayınları-İstanbul, 9, 1-9.