

KARMA YEM VE MADDELERİNDE ZEARALENON DÜZEYLERİNİN  
YÜKSEK PRFORMANS LİKİT KROMATOĞRAFİ  
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

*Determination of the levels of zearalenone residue in feeds and  
feedstuffs by high performance liquid chromatography*

Ahmet ACET<sup>1</sup>  
Ömer DEMET<sup>2</sup>  
Nesrin TUNCER<sup>3</sup>  
Behiç COŞKUN<sup>4</sup>  
Büyüamin TRAŞ<sup>5</sup>  
H. Hüseyin AĞAÇDELEN<sup>6</sup>

*Summary* : The levels of zearalenone were investigated in total 99 various commercial feed mixtures and feed ingredients by using HPLC. The sensitivity of the method was found as 11 µg/kg.

Samples were collected in the periods of January - February and April - May from Konya, Adana, Bursa regions.

In the first period, total 65 samples which are 19 feeds and 46 feedstuffs were analysed. Zearalenone was determined in 6 samples of the feeds and 15 samples of the feedstuffs. The average level of zearalenone was calculated as 3.66 µg/kg in whole samples.

In the second period, total 34 samples which are 11 feeds and 23 feedstuffs were analysed. Zearalenone was determined in 6 samples of the feeds and 8 samples of the feedstuffs. The average level of zearalenone was calculated as 5.46 µg/kg in whole samples.

In both periods, the percentage of the samples included zearalenon

- 
- (\*) Bu çalışma TOKB Kor. Kon. Genel Müdürlüğünce desteklenmiştir.  
(1) Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Farm. ve Toks. Anabilim Dalı KONYA  
(2) Yrd. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Farm ve Toks. Anabilim Dalı KONYA  
(3) Uzm. Toksikolog, Hayvan Hast. ve Araş. Enst. Müdürlüğü KONYA  
(4) Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Hayv. Besl. ve Besl. Hast. Anabilim Dalı KONYA  
(5) Arş. Gör., S. Ü. Vet. Fak. Farm. ve Toks. Anabilim Dalı KONYA  
(6) Vet. Hekim., Hayvan Hast. ve Araş. Enst. Müdürlüğü KONYA

was average 33 % and the mean zearalenone level was determined as 4.31 µg/kg feed.

The samples contained about 10 µg/kg zearalenone may cause hipercoestrogenism in pigs. Same effects may be seen in the other animals when these feedstuffs fed for a long periods.

**Özet :** Bu çalışmada başta Konya olmak üzere, Bursa ve Adana illerinde faaliyet gösteren yem fabrikalarından sağlanan toplam 99 adet karma yem ve yem maddesinde hplc metodu ile zearalenon düzeyleri araştırıldı. Uygulanan metodun duyarlılığı 1 µg/kg olarak belirlendi.

Örnekler Ocak - Şubat ve Nisan - Mayıs olmak üzere iki dönemde toplandı.

İlk dönemde alınarak analizi yapılan numune sayısı toplam 65 adettir ve bunun 19 adedi karma yem, 46 adedi ise yem maddesidir. Karma yemlerin 6 adedinde ve yem maddelerinin 15 adedinde zearalenon bulunmuştur. Toplam numunelerde zearalenon düzeyi ortalama 3.66 µg/kg olarak belirlenmiştir.

İkinci dönemde ise analizi yapılan numune sayısı toplam 34 adettir ve bunun 11 adedi karma yem, 23 adedi ise yem maddesidir. Karma yemlerin 4 adedinde ve yem maddelerinin 8 adedinde zearalenon bulunmuştur. Bu dönemde ele alınan numunelerde ortalama zearalenon düzeyi 5.46 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Her iki dönemde ele alınan numunelerde zearalenon bulunma oranı % 33,3, ortalama zearalenon düzeyi ise 4.31 µg/kg olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada analiz edilen çeşitli karma yem ve yem maddelerinde belirlenen yaklaşık 10 µg/kg miktarındaki zearalenonun bu maddeye en fazla duyarlı hayvan olan domuzlarda, hiperöstojenizme sebep olabileceği; diğer hayvanlarda ise belirgin bir semptomu yol açmayacağı; ancak sürekli alınması halinde diğer hayvanlarda da benzeri durumlara rastlanabileceği kanısına varıldı.

### Giriş

Doğal ya da sentetik yapılı toksik, mutajenik, teratojenik ve karsinogen özellikte bir çok madde çeşitli yollarla besinlere karışmaktadır. Bu maddeler arasında başta aflatoksinler olmak üzere mikotoksinler önemli yer tutmaktadır (6). Bu tür bulaşık besinlerin ya da yem maddelerinin tüketilmesi ile ortaya çıkan akut toksikasyon belirtilerine çok az rastlanmakta uzun süreli alınmaları sonucunda oluşan kronik belirtiler daha çok dikkat çekmektedir.

Mikotoksikozis olgusu, mikotoksinin çeşidine göre değişiklik gösterir. Aflatoksinler, okratoksinler, rubratoksin, sporidesmin, sterigmatostin, luteosikrin ve siklorotin karaciğer üzerine etkili olurken (2, 3, 11), yine okratoksinler ve sitrinin böbrekler üzerine (5, 10), penitrem A, patulin, sitroviridin ve ergot alkaloitleri sinir sistemi üzerine, trikotesenler (T-2 toksin) ve stakiotriyotoksin hücreler üzerine etkilidir. Öte yandan zearalenon (F-2 toksin) ise östrojen benzeri etki gösterir (12, 14, 22).

Zearalenon, *Fusarium* türü küf mantarlarında fitoöstrojen olarak bulunur. Besinlerle alındığında östrus döneminin uzaması, anöstrus, infertilite, meme loblarının uzaması, meme başı duyarlılığının artması, süt ve döl veriminde düzensizlikler gibi belirtilerle kendini gösteren hiperöstrojenizme sebep olur (12, 18). Özellikle domuzlarda yemdeki zearalenon düzeyi 0.01 mg/kg aştığında bu etkiler kolaylıkla gözlenebilmektedir (4, 5, 7). Nitekim, İtalya ve Porto Riko gibi bazı ülkelerde çocuklarda seksüel gelişmenin erken olması da zearalenon gibi besinlerde bulunabilen östrojenik etkili maddelerin fazla alınmasına yorumlanmaktadır (18).

Zearalenona duyarlı hayvanlar arasında ilk sırada domuzlar, daha sonrada sırasıyla süt sığırları, kuzular, hindiler, ratlar, sığanlar, tavşanlar, maymunlar ve insanlar bulunmaktadır (10, 14). Kanatlılar ise zearalenon'un etkilerine son derece dayanıklıdır. Oral olarak 15 g/kg vücut ağırlığı düzeyinde tek dozda verilen zearalenonun piliçlerde toksik bir etkiye sebep olmadığı bildirilmektedir. Ancak aynı hayvanlara bir hafta süreyle oral yoldan 0.2 g/kg dozunda zearalenon verilmesi hayvanların % 45 inde ovidukt büyümesine yol açmıştır. Doz 0.4 g/kg a çıkarıldığında ise bütün hayvanlarda aynı durumun gözleendiği bildirilmektedir. Ergin tavuklarda ise 250-500 mg/kg zearalenon bulunduran yemler ağırlık kaybına, yemden yararlanma ve yumurta veriminde düşüslere yol açmaktadır (6, 10, 18).

Zearalenon üreten *Fusarium* türleri yaklaşık 100 yıldır önemli bir bitki patojeni olarak bilinmektedir. Daha çok buğday, arpa, yulaf ve sorgumda küflenmeler; mısır kök ve koçanlarında küflenme ile birlikte deformeler; mısır tanelerinin yeterince sertleşmemesi gibi olumsuz etkiler yaptığı öne sürülmektedir.

Zearalenon en çok mısırdan ürer. Özellikle yağmurlu havalarda hasat edilerek soğuk ortamlarda depo edilen mısır zearalenon üreten *fusarium*ların üremesi için çok elverişlidir ve böylesi ürünlerde zearalenon düzeyi 2000 ppm düzeyine kadar çıkabilir. Normal şartlarda depolanan mısırdan ise bu düzey 5 ppm düzeyinin altındadır. Bununla birlikte zearalenon hemen her tür yem maddesinde bulunabilmektedir. Yapılan bir

tarama çalışmasında yem ve yem maddelerindeki zearalenon bulunuş oranının % 31 düzeyinde olduğu bildirilmektedir (18).

Yem ve yem maddelerinde zearalenon analizi çeşitli kromatografik yöntemlerle yapılmaktadır. Uygulanan metoda bağlı olmakla birlikte pikogram düzeyinde duyarlılık elde edilebilmektedir. İnce tabaka kromatografisi ve likid kromatografisi belirtilen amaçla fazlaca kullanılmaktadır (1, 9, 15, 16, 19, 20, 21, 23).

Hayvanlarda görülen ve zearalenon etkilerine bağlı olarak meydana gelen ekonomik kayıpların yanında, belkide daha önemlisi zearalenon rezidülerinin temel gıda maddelerinden et, süt ve yumurtaya geçmesi sonucunda insan sağlığı ve sosyal hayatının olumsuz yönde etkilenmesi riskidir. Keza koyun ve sığırlarda canlı ağırlık artışı sağlamak amacıyla kullanılan ve bir zearalenon türevi olan zeranol için de aynı tehlikelerin varlığı tartışma konusu olmaktadır.

Bu çalışmada, hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara neden olan, gerek hayvansal ve gerekse bitkisel gıdalarla insanlara geçerek, ciddi sağlık problemleri oluşturabilecek zearalenonun, ülkemizin farklı yörelerinden alınan karma yem ve yem maddelerinde varlığının ve düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

#### *Materyal ve Metot*

##### *Araştırma Materyali :*

Analizlerde kullanılan karma yem ve yem maddeleri başta Konya olmak üzere Bursa ve Adana illerinde faaliyet gösteren çeşitli özel ve devlete ait yem fabrikalarından temin edilmiştir. Numuneler Ocak-Şubat ve Nisan-Mayıs aylarını kapsayan iki dönemde alınmıştır. Alınan numuneler öğütülerek analize hazırlandı ve kuru madde tayini yapıldı.

##### *Araç ve Gereçler :*

- Yüksek devirli çalkalayıcı (gerhard, sv 20)
- Rotatif evaporatör (Heidolph)
- Slika kartij (sep-pak, Waters Associates Inc. Milford, ma 01757)
- Likit kromatografi (shimatzu model LC-6A, UV-VIS spektrofotometrik dedektör, SCL-6A sistem kontrol, C-R6A kromatopak)
- Kolon (Paslanmaz çelik, Shippak CLC-ODS, revers faz 15 cm \* 6mm ID kat. no: 228-00807-091)

- PTFE filtre (Sartorius 0.45  $\mu\text{m}$ )
- Sellüloz asetat filtre (Sartorius 0.45  $\mu\text{m}$ )
- Milipor (sartorius)

*Kimyasal Maddeler :*

- Solventler : Kloroform, toluen, aseton, Metanol (Merck)
- % 0.1 ortofosforik asit (Merck)
- Selit 545
- Standart : Z metanolde 10  $\mu\text{g/ml}$  ve 100  $\mu\text{g/ml}$  yoğunluklarında günlük olarak hazırlandı.

*Metot :*

Çalışmada Howell ve Taylor (9)'un yem ve yem maddelerinde zearalenon analizi için uyguladığı metot uygulandı.

*Numunelerin Analize Hazırlanması :*

Ekstraksiyon : Analize hazırlanmış 50 g numune tartılarak 500 ml'lik bir erlene konarak üzerine 25 ml distile su ve 250 ml kloroform ilave edildi. Yüksek devirli çalkalayıcıda 30 dak. süreyle karıştırıldı. Ekstrakt 10 g selit 545 konmuş süzgeç kağıdından süzülerek, biri rekoveride kullanılmak üzere 50 ml'lik iki hacim alındı. Elde edilen ekstraktlar evaporatörde kuruyuncaya değin uçuruldu. Kalıntı iki defa 0.5 ml toluenle yıkanarak küçük tüplere alındı.

Temizleme ve elüasyon işlemi : Tüplere alınan ekstrakt sepekte temizleme ve elüasyon kartijine alındı. Kartij 10 ml toluen aseton (95 : 5) karışımı ile elüe edildi. Elüat evaporatörde kurumaya yakın uçurulduktan sonra, kalıntı iki defa 0.5 ml kloroformla yıkanarak küçük tüplere alındı.

HPLC analiz işlemi : Küçük tüplere alınan ekstrakt kuruyuncaya kadar uçurulduktan sonra 0.1 ml mobil fazda çözdürüldü. HPLC şartları; Mobil faz (asetonitril - % 0.01 ortofosforik asit, 50 : 50), Dedektör (218 nm), Kolon (shippack OLS-ODS, revers faz) konumunda oluşturuldu. Analize geçmeden önce kolon akış hızı 1 ml / dakikaya ayarlanarak alet bir süre stabilize edildi. Zearalenon standartları kullanılarak standart eğri çizildi. Aynı kromatogram şartlarında, mobil fazda çözdürülmüş 0.1 ml numune ekstraktından 20  $\mu\text{l}$  HPLC ye enjekte edilerek numuneler analiz edildi. Daha önce hazırlanan standart eğrisinden yararlanılarak, numunelerde bulunan zearalenon düzeyleri alan normalizasyon metodu (metot 41) ile hesaplandı.

### Bulgular

Analizi yapılan 99 adet karma yem ve yem maddesi numunelerinin 33'ünde zearalenon tespit edildi. Diğer bir ifade ile tüm numunelerde zearalenon bulunma oranı % 33.3 olarak belirlendi.

Ocak-Şubat aylarını kapsayan ilk dönemde alınan ve analizi gerçekleştirilen 19 karma yemden 6'sında (% 31.5 inde) 46 yem maddesi numunesinin ise 15'inde (% 32.6 sında) zearalenon bulundu (tablo 1). Karma yemlerde bulunan zearalenon düzeyi ortalaması 3.47, yem maddelerinde ise bu miktar 3.73 µg/kg olarak belirlendi.

Nisan-Mayıs döneminde alınan ve analizi gerçekleştirilen 11 adet karma yemin 4 ünde (% 36.3 ünde) zearalenon bulundu. Aynı dönemde alınan toplam 23 adet yem maddesinin ise 8 inde (% 34.8 inde) bu maddeye rastlandı (tablo 2).

Her iki dönemde analiz edilen numunelerin toplamı birlikte ele alındığında oran olarak en fazla pamuk tohumu küspesinde (% 50) ve en azda kepekte zearalenon görülmüştür (incelenen 5 numunenin hiç birinde zearalenon görülmemiştir). (tablo 3).

Çalışmamızda uygulanan HPLC şartlarında zearalenon piki 15. dakikada elde edilmiştir (şekil 1a ve 1b). Yöntemin duyarlılığı ise 1 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Ocak-Şubat döneminde alınan karma yem ve yem maddelerinde nem oranları ve zearalenon düzeyleri

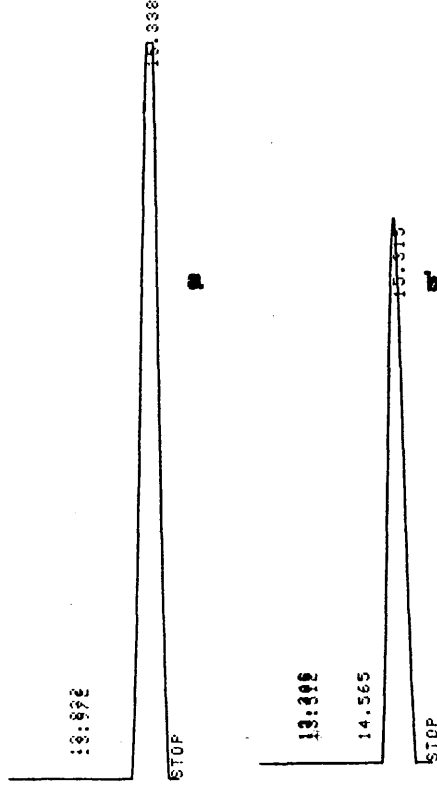
Numunenin Adı	Alınan İl	Nem Oranı %	Zearalenon µg/kg
Karma yemler			
Süt yemi	Konya	12.52	1.83
Süt yemi	Bursa	10.36	0.39
Besi yemi	Konya	12.21	9.98
Yum. Tavuk yemi	Konya	10.81	6.78
Et. Piliç yemi	Adana	10.40	1.30
Et. Civeci yemi	Adana	9.53	0.53
Ortalama		10.97	3.47

## Yem maddeleri

Pamuk tohumu küspesi	Konya	9.56	0.17
Pamuk tohumu küspesi	Konya	9.28	3.82
Pamuk tohumu küspesi	Adana	9.34	2.99
Soya fasulyesi küspesi	Konya	8.86	1.92
Soya fasulyesi küspesi	Konya	12.22	1.30
Ay çiçeği küspesi	Konya	12.21	1.28
Mısır	Konya	12.11	4.09
Mısır	Adana	17.63	10.95
Mısır	Adana	13.05	0.22
Mısır proteini	Bursa	12.17	8.45
Buğday	Adana	9.46	9.90
Razmol	Bursa	12.24	5.56
Düğürçük	Konya	11.11	0.91
Balık unu	Konya	8.39	2.28
Et-kemik unu	Konya	9.44	1.54
Ortalama		11.14	3.73

Tablo 2. Nisan - Mayıs döneminde alınan karma yem ve yem maddelerinde nem oranları ve zearalenon düzeyleri

Numunenin Adı	Alınan İl	Nem Oranı %	Zearalenon µg/kg
Karma yemler			
Süt yemi	Konya	9.26	6.08
Besi yemi	Konya	10.64	0.89
Kafes tav. yum. yemi	Adana	9.27	6.15
Etlik civciv yemi	Adana	9.45	6.67
Ortalama		9.66	4.95
Yem maddeleri			
Ay çiçeği küspesi	Konya	9.85	1.80
Ay çiçeği küspesi	Konya	8.00	5.84
Ay çiçeği küspesi	Bursa	6.31	16.63
Soya fasulyesi küspesi	Bursa	9.94	8.04
Mısır	Konya	10.47	6.06
Mısır	Konya	10.95	3.45
Arpa	Konya	8.09	3.05
Arpa	Bursa	11.55	0.78
Ortalama		9.40	5.71



**Şekil 1: Zearalenon piki. a. Standart Zearalenon(100ng)**  
**b. Numünede zearalenon**

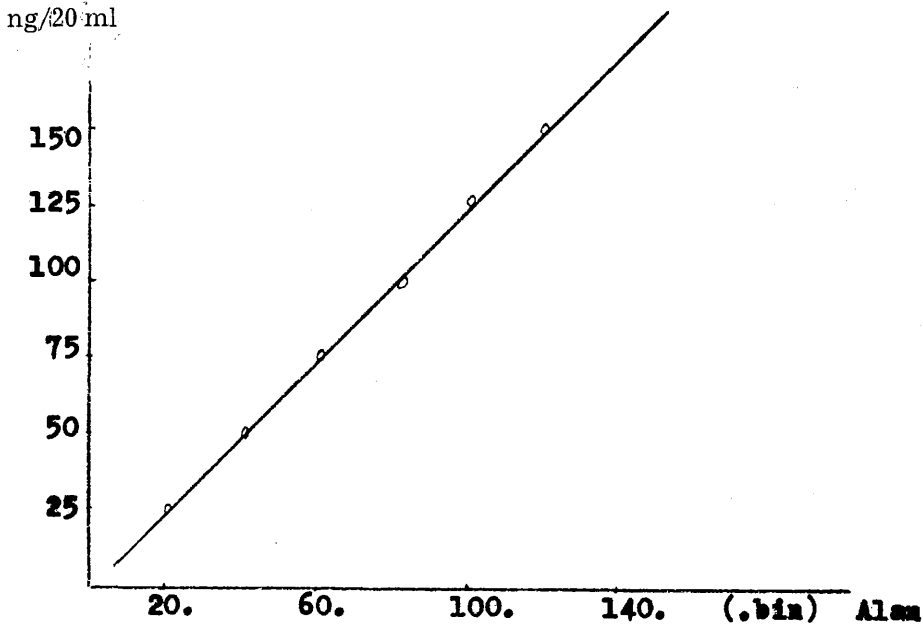
Tablo 3. Araştırmanın her iki döneminde analiz edilen karma yem ve yem maddelerinde zearaleno bulunuş oranları

Numunenin adı	Analizi yapılan numune sayısı	Zearalenon bulunan numune sayısı	Zearalenonun bulunuş oranı %
Karma yemler			
Ruminantlar için hazırlanan karma yemler	12	5	42
Kanathlar için hazırlanan karma yemler	18	5	28
<b>Toplam</b>	<b>30</b>	<b>10</b>	<b>33</b>



## Yem maddeleri

Pamuk toh. küspesi	6	3	50
Ay çiçeği küspesi	10	4	40
Soya fasulyesi küspesi	10	3	30
Hayvansal kaynaklı yem ham maddeleri	7	2	29
Mısır	12	5	42
Arpa	8	2	25
Buğday	6	1	17
Kepek	5	0	0
Diğerleri	5	3	60
<b>Toplam</b>	<b>69</b>	<b>23</b>	<b>33</b>



Şekil 2: Zearalenon Standart Eğrisi

### Tartışma ve Sonuç

İlaçlar ve anabolizan ajanların tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılması sonucu, gıda maddelerinde oluşturdukları rezidüel artıklar önemli düzeyde besin kirlenmesine sebep olmaktadır. Her ne kadar bu artıklar akut zehirlenme olaylarına fazlaca sebep olmasalar bile etiyolojisi belirlenemeyen ve zaman zaman görülen kronik rahatsızlıklar şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Hayvan ve insanlarda zearalenon alınması ile ortaya çıkan belirtiler, diğer mikotoksinlerin alınması sonucu görülenlerden önemli ölçüde farklılık gösterir. Çünkü, zearalenon östrojenik etkili bir maddedir. Yumurta tavuklarıyla yapılan bir çalışmada (6) C 14 ile işaretlenmiş zearalenon ün hızla metabolize olduğu ve kısa sürede vücuttan atıldığı ancak, yaklaşık % 6 lık bir düzeyin yumurtalık ve yumurtaya geçtiği bildirilmektedir. Bu nedenle İtalya ve Porto Riko gibi bazı ülkelerde çocukların cinsel olgunluğa erken yaşta ulaşılmasında bu mikotoksinin etkili olabileceği görüşü kuvvet kazanmaktadır (10, 18). Nitekim domuzlarda bu mikotoksinin hiperöstrojenik etkisi daha açık olarak gözlenebilmektedir (14, 15).

Çalışmada analiz edilen karma yemler ve yem maddelerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde her ne kadar zearalenon bulunuş oranı (% 33.3) yüksek gibi görünsede zearalenon düzeyi ortalama değerleri esas alındığında oldukça düşük bulunmuştur. Bu düzeyler tablo 1 ve 2 de de görüldüğü gibi 3.47 - 5.71 µg/kg arasında değişmektedir. Bu düzeyler zearalenona en hasas hayvan olan domuzlar için bile düşüktür. Nitekim Nelson ve ark. (14) domuzlarda hiperöstrojenizme yol açan zearalenon düzeyinin 10 µg/kg olduğunu belirtmektedir. Çalışmada bu düzeyi aşan iki yem numunesi bulunmaktadır. İlk dönemde Adana yöresinden temin edilen mısırdaki (10.95 µg/kg) ve ikinci dönemde Bursa yöresinden temin edilen ay çiçeği küspesinde (16.63 µg/kg) bu düzeyin üzerinde değerler elde edilmiştir.

Zearalenon üreten küflerin mısırdaki çok kolay ürediği bildirilse de (10, 18) bu çalışmada olduğu gibi hayvansal kaynaklı yemler de dahil olmak üzere hemen her çeşit yem maddesinde zearalenon'a rastlanmıştır. Hatta Tablo 3 de de görüleceği gibi oran olarak en fazla zearalenon bulunan (% 50) yem maddesi pamuk tohumu küspesidir. Yine ay çiçeği küspesinde de bu oran % 40 ile mısırınkine (% 42) çok yakındır. Karma yemler içerisinde ise ruminantlar için hazırlananlarda kanatlılar için hazırlananlara göre daha sık görülmüştür. Bu oranlar sırası ile % 42 ve % 28 olarak bulunmuştur. Bu konuda yapılan bir tarama çalışmasında ise

Sundlof ve Stickland (18) çeşitli yem maddelerinde zearalenon bulunuş oranını % 31 olarak tespit etmişlerdir.

Dönemlere göre zearalenon düzeyi incelendiğinde ise depolama süresinin uzaması ile birlikte miktarda da artış görülmektedir. Nitekim ilk dönemde ele alınan karma yemlerdeki zearalenon miktarı 3.47 µg/kg olarak bulunurken ikinci dönemde 4.95 µg/kg olarak bulunmuştur. Buna paralel bir artış yem maddesi örneklerinde de gözlenmektedir.

Ülkemizde zearalenon ile ilgili gerek yemlerde ve gerekse diğer materyallerde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, çalışmada elde edilen sonuçları ülkemiz açısından tartışma imkanı sınırlı kalmaktadır.

Sonuç olarak; bu araştırma ile östrojenik etkili doğal bir mikotoksin olan zearalenon'un, ülkemizin farklı bölgelerinden alınan karma yem ve yem maddelerinde bulunma oranı ve düzeyleri değerlendirildiğinde konunun insan sağlığı yönünden de önemi dikkate alınarak; et, süt, ve yumurta gibi temel gıda maddelerinde de daha kapsamlı araştırmalara gidilmesi kanısını taşımaktayız.

#### Kaynaklar

1. Benneth, G. A., Shotwell, O. L. and Kwolox, W. F. (1985). Liquid Chromatographic Determination of Zearalenon and Zearalenoni in Corn. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 68, 958-964.
2. Booth, N. M. Mc Donal, L. E. (1982). Veterinary Pharmacology and therapeutics. Fifth edition, The Iowa State University Press/Ames.
3. Brander, G. C., Pugh, D. M. and Bywater, R. J. (1982). Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. Forth edition, Bailliere Tindall, London.
4. Cadwell, R. W., Tuite, J., Stop, M. and Baldwin, R. (1970). Zearalenone Production by Fusarium Species. Appl. Microbiol. 20, 31-34.
5. Clarke, M. L., Harvey, D. G. and Huwphreys, D. J. (1985). Veterinary Toxicology. Bailliere Tindall, London.
6. Cullison, A. E., Lowrey, R. S. (1987). Feed and Feeding. Fourth Edition. Prestice. Hall. Inc. New Jersey.
7. Eugenin, C., Christensen, C. M. and Miriocha, C. J. (1970). Factor Affecting Production of the Mycotoxin F-2 by Fusarium roseum. Phytopathology, 60, 1055.
8. Gross, V. J. and Rabb, J. (1975). Zearalenone Production in Barley. Ann. Appl. Biol., 80, 211-216.

9. Howell, M. W. (1982). Moulds and Mycotoxin in Animal Feedstuffs. Haresign, W. (Editor) : Recent Advencent in Animal Nutrition. Mansell Bookbinder Ltd., Essex.
10. Howeel, M. W. and Taylor, P. W. (1981). Determination of Aflatoxins, Ochratoxins A and Zearalenone in Mixed Feeds with Detection by Thin Layer Chromatography or High Performance Liquid Chromatography. J. Assoc. Off Anal. Chem. 64, 1355-1362.
11. Kaya, S. (1989). Aflatoksinler ve Diğer Mikotoksinler. Türk Veteriner Hekimliği Dergisi, 2, 12-16.
12. Kurtz, H. J., Nairen, M. E., Nelson, G. H., Christensen, C. M. and Mirocha, C. J. (1969). Histologic Changes in the Genital Tracks of Swine Rodooestrogenic Mycotoxin, Am. J. Vet. Res., 30, 551-556.
13. Lasztity, R., Tames, K. and Woller, L. (1979). Occurance of Fusarium Mycotoxins in Same Hungarian Corn Crops and the Possibilities of Detoxication, Ann. Nut. Alim., 31, 495-498.
14. Nelson, G. H., Christensen, C. M. and Mirocha, C. J. (1973). Fusarium and Oestrogenism in Swine. J. Am. Vet. Assoc., 11, 1276-1277.
15. Patterson, D. S. P. and Roberts, B. A. (1979). Mycotoxins in Animal Feedstuffs : Sensitive Thin Layer Chromatographic Detection of Aflatoxin, Ochratoxin A, Storigmatocystin, Zearalenone and T-2 toxin, J. Assoc. Off. Anal Chem., 62, 2, 1265-1267.
16. Scott, P. M., Panalaks, T., Kanhere, S. and Miles, W. F. (1978). Determination of Zearalenone in Cornflakes and other Corn-based Foods by Thin Layer Chromatography and High Pressure Liquid Chromotography and Gas-Liquid Chromotography / High Resolution Mass Spectrometry. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61, 593-600.
17. Stoloff, L. and Dalrymple, B. (1977). Aflatoxin and Zearalenone Occurence in Chywilled Corn Products. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 60, 579-582.
18. Sundlof, S. F. and Strickland, C. (1986). Zearalenone and Zeranol Potential Residue Problems in Livestock. Veterinary and Human Toxicology, 28, 3, 242-150.
19. Takeda, Y., Isohata, E., Amona, R. and Ucehiyama, M. (1979). Simultaneous Extraction and Fraction and Thin Layer Chromatographic Determination of 14 Mycotoxins in Grains. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 62, 573-577.
20. Tanaka., Hasegava, R. and Matsuki, Y. (1985). Rapid and Sensitive Determination of Zearalenone in Creals by High Performance Liquid Chromatography with Fluorasance Detection. ournal of Chromatography, 328, 271-278.
21. Verisiese, G. N. and Henocx, M. (1986). Detection of Fraudulent of Zeranol and Naturel Occurance of Zearalenone in Cattle Urine by Hifh Performance Liquid Chromatography, Analtia Letters, 19, 1199-1241.

22. Wolf, . G. and Miriocha, C. J. (1973). Regulation and Sexual Reproduction in *Gibberella zea* (*Fusarium roseum*) by F-2 (Zearalenone) *Can. J. Microbiol.*, 19, 725-734.
23. Wartberg, R., Woller, R. and Chulamorakot, T. (1978). Detection of Oestrogen-like Coumpounds by Thin Layer Chromotography. *J. Chromotography*, 156, 205-211.

