

BUĞDAY, MISIR, PİRİNÇ VE YERFISTIĞINDA AFLATOKSİN ÜRETİLMESİ

Ömer Demet¹

Halis Oğuz¹

İlhami Çelik²

Hasan Adıgüzel¹

Production of Aflatoxin on Wheat, Corn, Rice and Peanut

Summary: In this study, the production of aflatoxin at a grade appropriate for dietary aflatoxin feeding studies were performed under our laboratory conditions. After sporulation *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 strain in the tubes containing Potato Dextrose Agar (*Merck*), the spores were removed by washings with 0.005 % Triton X-100 (*Merck*) and an enriched suspensions of spores were obtained, following determination of the spore numbers in per ml of suspension, the suspension was used the inoculate the sterilized substrate (wheat, corn, rice and peanut) in erlenmeyer flasks and after inoculation the flasks were into an incubator for fermentation at 28 °C. Toplam twelve erlenmeyer flasks each having three ones for each substrate were fermented. At the end of the five days fermentation aflatoxin levels of the flasks were the determined by Fluorescence Spectrophotometry. Aflatoxin levels were measured as mg/kg substrate (ppm) as follows: 71.88 for wheat (72.55 % B₁, 11.31 % B₂, 11.28 % G₁ and 4.86 % G₂); 48.14 for corn (78.84 % B₁, 7.45 % B₂, 10.85 % G₁ and 2.86 % G₂); 63.64 for rice (83.06 % B₁, 12.98 % B₂, 2.84 % G₁ and 1.12 % G₂); and 14.65 for peanut (84.02 % B₁, 8.82 % B₂, 5.01 % G₁ and 2.15 % G₂).

Key words: Aflatoxin, production, wheat, corn, rice, peanut.

Özet : Bu çalışmada, buğday, mısır, pirinç ve yerfıstığına aflatoksin üretildi. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu, Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren tüplerde sporlandırıldıktan sonra, sporlar % 0.005'lik Triton X - 100 çözeltisi ile alınarak spor süspansiyonu hazırlandı ve spor hücresi sayımı yapıldı. Sterilizasyonu önceden yapılan ve buğday, mısır, pirinç ve yerfıstığı içeren erlenmayerlere ekimler yapıldıktan sonra fermentasyon için 28 °C'ye ayarlanmış etüve kondu. Herbir substrattan üç adet olmak üzere toplam on iki erlenmayer fermentasyona tabi tutuldu. Beş gün süren fermentasyon sonunda yapılan Spektrofotometrik ölçümde mg/kg (ppm) olarak sırasıyla buğdayda 71.88 (% 72.55 B₁, % 11.31 B₂, % 11.28 G₁ ve % 4.86 G₂); mısırdaki 48.14 (% 78.84 B₁, % 7.45 B₂, % 10.85 G₁ ve % 2.86 G₂); pirinçte 63.64 (% 83.06 B₁, % 12.98 B₂, % 2.84 G₁ ve % 1.12 G₂) ve yerfıstığında ise 14.65 (% 84.02 B₁, % 8.82 B₂, % 5.01 G₁ ve % 2.15 G₂) düzeyinde aflatoksin tesbit edildi.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, üretim, buğday, mısır, pirinç, yerfıstığı.

Giriş

Aflatoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂), *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* adlı mantarlar tarafından sentezlenen hepatotoksik metaboliklerdir. İlk olarak, 1960 yılında İngiltere'de küflenmiş yerfıstığı ile beslenen 100 bin hindi palazının ölmesiyle ortaya çıkmış, daha sonra alabalıklar üzerinde yapılan çalışma sonucu karaciğer kanserine neden olduğu belirlenmiştir. Bu özelliği ile de insan sağlığı bakımından riskli maddeler arasında yerini almıştır (Demet ve Oğuz, 1995; Huff ve ark., 1992; Kaya, 1989; Kubena ve ark., 1993; Şanlı, 1980).

Aflatoksikozis, aflatoksinlerin neden olduğu bir

zehirlenmedir. Hayvanlarda önemli ekonomik kayıplara neden olurken, insanlarda genellikle karaciğer kanserine yol açar.

Deneyisel yedirme çalışmalarında, yüksek düzeyde toksine ihtiyaç duyulur. Bu nedenle, ilk önce uygun herhangi bir vasatta yeterli miktarda aflatoksin üretilir (Huff ve ark., 1992; Kubena ve ark., 1993).

Aflatoksin üretilmesinde en çok kullanılan ürünlerin başında yerfıstığı (Arseculeratne ve ark., 1969; Codner ve ark., 1963), buğday (Stubblefield ve ark., 1967; Hesseltine ve ark., 1966), mısır (Schroeder, 1966; Silman ve ark., 1979), soya fasülyesi (Gupta ve ark., 1977), sorghum ve pirinç (Shotwell ve ark., 1966; Hesseltine ve ark., 1966; Demet ve

Geliş Tarihi : 28.11.1995

1. S.Ü. Veteriner Fak., Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, KONYA.

2. S.Ü. Veteriner Fak., Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KONYA.

ark., 1995) gibi ürünler gelmektedir. Bunlardan başka sıvı ortamlarda da aflatoksin üretebilmektedir (Giegler ve ark., 1966; Reddy ve ark., 1971; Schroeder, 1966).

Shotwell ve ark. (1966), *A. flavus*, NRRL 2999 suşu kullanılarak pirinçte fermentasyon yolu ile 1500 µg/g düzeyine kadar toplam aflatoksin üretmeyi başarmışlardır. Bu düzeyin (µg/g), 950'si B₁, 143'ü B₂, 365'i G₁ ve 62'si de G₂'den oluşmaktadır. Fermentasyon süresinin 12 güne kadar tutulduğu söz konusu çalışmada en çok üremenin 5-6. günlerde olduğu bildirilmektedir. Gupta ve ark. (1975), *A. parasiticus* NRRL 3240 suşu kullanarak soya fasülyesi ununda 6.85 mg/100 g düzeyinde toplam aflatoksin üretebilmişlerdir. Codner ve ark. (1963), yerfıstığında günlük elle karıştırmak suretiyle yapılan fermentasyonda 265 µg/g toplam aflatoksin üretmişlerdir. Yine aynı çalışmada, fermentasyon ortamına ZnSO₄ ilave edildiğinde aflatoksin sentezinin yaklaşık iki kat arttığı bildirilmektedir. Schroeder (1966), *A. parasiticus* 64 R-8 suşu ile mısırdaki 1-2.29 mg/30 g toplam aflatoksin; Arseculeratne ve ark. (1969), *A. flavus* ATCC-15546 suşu ile hindistan cevizinde 8 mg/g toplam aflatoksin; Harvey ve ark. (1991) ise, *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu ile pirinçte 260 mg/kg düzeyinde toplam aflatoksin üretmişlerdir.

Hesseltine ve ark. (1966), *A. flavus* NRRL 2999 suşu ile karıştırıcı kullanmadan buğdayda 19 µg/g, mısırdaki 47 µg/g, pirinçte 185 µg/g ve yerfıstığında ise 104 µg/g toplam aflatoksin üretmişlerdir. Aynı çalışmada karıştırıcı kullandıklarında ise bu miktarın; buğdayda 869 µg/g, mısırdaki 317 µg/g, pirinçte 185 µg/g ve yerfıstığında 282 µg/g olduğunu belirtmektedirler. Silman ve ark. (1979) ise, *A. flavus* suşu ile mısırdaki 10 günlük fermentasyon sonucunda 6200 ppb toplam aflatoksin üretmişlerdir. Shotwell ve ark. (1966)'nın bildirdikleri yöntemi esas alan Demet ve ark. (1995) da *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu ile pirinçte 62.71 mg/kg (ppm) toplam aflatoksin üretmişlerdir.

Giegler ve ark. (1966), *A. flavus* NRRL 3000 suşu ile 200-300 mg/lt arasında AFB₁+G₂; Reddy ve ark. (1971), *A. parasiticus* ATCC 15517 suşu ile 28-30 µg/100 ml toplam aflatoksin; Davis (1966) de, *A. flavus* ile yarısentetik ortamda 63 mg/100 ml toplam aflatoksin üretmişlerdir.

Bu çalışma ile, *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu kullanılarak buğday, mısır, pirinç ve yerfıstığından aflatoksin üretilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araç ve Gereçler: Etüv (Dedeoğlu), Sterilizatör (Dedeoğlu), Otoklav (Labsco), Santrifüj (Runne Heidelberg Mod, RS, 80-A), Rotatif Evaporatör (Heidolph), Hassas Terazî (Shimadzu), Otomatik Leke Uygulayıcısı-Spotter (Desega), UV Işın Kabini (Desega), Floresans Spektrofotometre (Perkin Elmer MPF 43-A), İnce Tabaka Plakalar (Merck, Silikajel-60), Developman Tankı (Labsco), Mikroskop (Leitz Ortho Lux-II model), Rutin Diğer Laboratuvar Malzemeleri.

Kimyasal Maddeler: Metanol (Merck), Aseton (Merck), Asetonitril (Merck), Kloroform (Merck), Benzen (Merck), Dietileter (Merck), Triton X-100 (Merck), Sodyum Sülfat (Anhidr, Merck), Patates Dekstroz Agar (Merck), Aflatoksin (B₁, B₂, G₁, G₂) Standartları (Alltech firması aracılığı ile iMacor Chemical Ltd., Box. 6570, Kudüs'ten sağlandı).

Standart ve Diğer Çözeltiler: Stok Standart Çözeltisi (20 µg/ml): 1 mg aflatoksin 50 ml benzende çözdürülerek hazırlandı. Çalışma Standart Çözeltileri (0.2 µg/ml ve 0.4 µg/ml): Stok çözeltiden 0.5 ml alıp 50 ml ve 0.5 ml alıp 25 ml hacimde benzen-asetonitril (98+2) karışımı ile hazırlandı. 1. Developman Tankı Çözeltisi: 50 ml Dietileter içine susuz sodyum sülfat katılarak hazırlandı. 2. Developman Tankı Çözeltisi: Kloroform-Aseton-Su (88+12+1.2). Triton X-100 (% 0.005'lik): Steril bidistile su ile hazırlandı.

Diğerleri: *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu (U.S. Dept. of Agri., Agri., Res. Service, Peoria IL., 61604-3999, USA'dan temin edildi), Pirinç (Baldo), Mısır, Buğday ve Yerfıstığı.

Aflatoksin üretilmesinde Shotwell ve ark. (1966)'nın bildirdikleri metodu esas alan Demet ve ark. (1995)'nin aynı amaçla pirinçte uyguladıkları yöntem kullanıldı.

Kültür Vasatının Hazırlanması: 3.9 g PDA tartılarak üzerine 100 ml distile su eklendi. İyice eritildikten sonra otoklavda sterilize edildi. 15 x 1.5 cm'lik steril cam tüplere aktarıldıktan sonra ağızları pamukla kapatılarak dökülmeyecek şekilde yatık durumda vasatın katılaşması sağlandı. 1 ml nutrient buyyonda sulandırılan liyofilize *A. parasiticus* suşundan vasata-ekimler yapıldıktan sonra etüve konarak 28 °C'de sporlanma sağlandı.

Spor Sayımı: Vasatta oluşmuş sporlar % 0.005'lik Triton X-100 çözeltisi ile alındı. Bunun için her bir tüpe 3 ml çözelti ilave edildi. Steril koşullarda tüplerden sporlar öze ile kazınarak toplanması kolaylaştırıldı. Spor süspansiyon 50 ml'lik steril bir balon jodede toplandı. Bundan 1/10, 1/100 ve 1/1000'lik dilüe çözeltiler hazırlandıktan sonra Thoma lamında mikroskopta sayıldı. Böylece, ml'de 3.17×10^6 spor hücresi olduğu belirlendi.

Fermentasyon: 500 ml'lik erlene 100 g substrat tartılarak üzerine 50 ml musluk suyu ilave edildi. İki saat süreyle karıştırıldıktan sonra ağzıları pamuk tampon ile kapatılarak otoklavda sterilize edildi. Soğuması beklendi ve sonra kuvetlice çalkalanarak lapalaşmalar önleildi. 1 ml spor süspansiyonu ilave edildikten sonra yeniden çalkalayarak 28 °C'ye ayarlanmış etüve fermente olmak üzere kondu. Geceleri hariç her saat başı elle karıştırmak suretiyle danelerin birbirlerine yapışması önlenmeye çalışıldı. 24. saatte 5 ml steril su ilave edildi. 5. güne kadar sürdürülen fermentasyonda günlere göre renk değişiklikleri gözlemlendi. Fermentasyondan sonra tekrar otoklava konarak mantarların yıkımlanması sağlandı ve sterilizatöre alınarak 70 °C'de yaklaşık iki gün süreyle kuruması sağlandı.

Buğday, mısır, pirinç ve yerfıstığının her birinden 3'er adet erlenmayerde fermentasyon gerçekleştirildi. Fermentasyondan sonra etüvden alınan erlenler otoklavda sterilize edildikten ve sterilizatörde kurutulduktan sonra öğütüldü. Erlen içerikleri substratların cinsine göre karıştırıldı ve deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere saklandı.

Aflatoksin Analizi: 10 g öğütülmüş substrat üzerine 100 ml distile su ilave edilerek 5 dk. süreyle karıştırıldı. Üzerine 100 ml kloroform eklenerek 5 dk. daha karıştırıldı. 300 devir/dk.'da 15 dk. süreyle santrifüj edildikten sonra ayırma hunisi ile kloroform fazı alındı. Kloroform fazı 15 g susuz sodyum sülfat konulan bir huniden süzüldü. Uçurma balonuna alınan kloroform, rotatif evaporatörde uçurulduktan sonra kalan ekstrakt 10 ml kloroform ile çözdürülerek küçük kapaklı şişelere alındı.

Plakaya Leke Uygulaması ve Okunması: Plakaya değişik yoğunluklarda aflatoksin çözeltileri ve her bir substrattan elde edilen numune ekstraktı çözeltileri otomatik leke uygulayıcısı ile uygulandı. Birinci developmandan sonra kirliliğin ayrılmış olduğu kısmı kesilen plaka, ikinci developman tankına

kondu. Çözücünün plaka sonuna kadar yürümesi sağlanarak aflatoksin türlerinin iyice ayrılması amaçlandı. İkinci developman tankından alındıktan sonra kurutulmuş UV lambası altında 365 nm dalga boyunda incelendi. Lekelerin koordinatları belirlendikten sonra, Floresans Spektrofotometre (emisyon, 425; ekstasyon 365 nm.) ile aflatoksin düzeyleri belirlendi.

Bulgular

Fermentasyona tabi tutulan erlenler içerisinde fermentasyon süresince oluşan renk değişiklikleri sadece pirinç içerenlerde açık bir şekilde gözlemlenebildi (Resim 3 ve 4). Fermentasyonun 2. gününde pirinç taneleri üzerinde beyaz lekeler, 3. günde giderek parlaklık kazanan sarımsı renklenmeler, 4. günden itibaren ise açık kahverengiye dönüşüm tesbit edildi. Fermentasyon sonucunda pirinç danelerinin tıpkı buğday daneleri gibi bir görünüm aldığı görüldü (Resim 3).

A.parasiticus NRRL 2999 suşu tarafından oluşturulan sporlar Resim 1'de, İnce Tabaka Kromotografisinde aflatoksin lekeleri ise Resim 2'de görülmektedir.

Spektrofotometrik ölçümlerde toplam aflatoksin miktarları (mg/kg = ppm) buğdayda 71.88, mısırdaki 48.14, pirinçte 63.64 ve yerfıstığında 14.65 olarak belirlendi. Ayrıca toplam aflatoksin içerisindeki bireysel aflatoksin (B_1 , B_2 , G_1 ve G_2) düzeyleri de tesbit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Buğday, Mısır, Pirinç ve Yerfıstığında Tesbit Edilen Aflatoksin (AF) Düzeyleri ve Aflatoksin Türlerinin Toplam Miktarı İçindeki Dağılımları.

	Aflatoksin Türleri				Topl. AF (mg/kg)
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	
Buğday, mg/kg	52.14	8.12	8.12	3.50	71.88
%	72.55	11.31	11.28	4.86	
Mısır, mg/kg	37.96	3.59	5.22	1.37	48.14
%	78.84	7.45	10.85	2.86	
Pirinç, mg/kg	52.83	8.25	1.80	0.56	63.64
%	83.06	12.98	2.84	1.12	
Yerfıstığı, mg/kg	12.30	1.29	0.73	0.33	14.65
%	84.02	8.82	5.01	2.15	

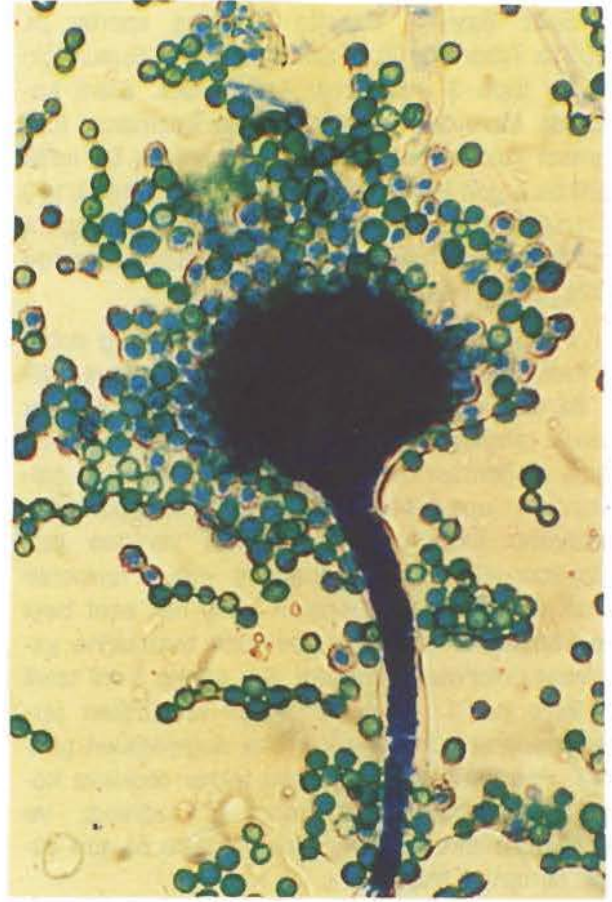
Fermentasyon sonunda; erlen içeriğini teşkil eden buğday, mısır, pirinç ve yerfıstığı başlangıç miktarlarında önemli azalmaların olduğu kaydedildi (Tablo 2).

Tablo 2. Buğday, Mısır, Pirinç ve Yerfıstığının Fermentasyon Öncesi ve Sonrası Ağırlıkları ve Meydana Gelen Kayıplar.

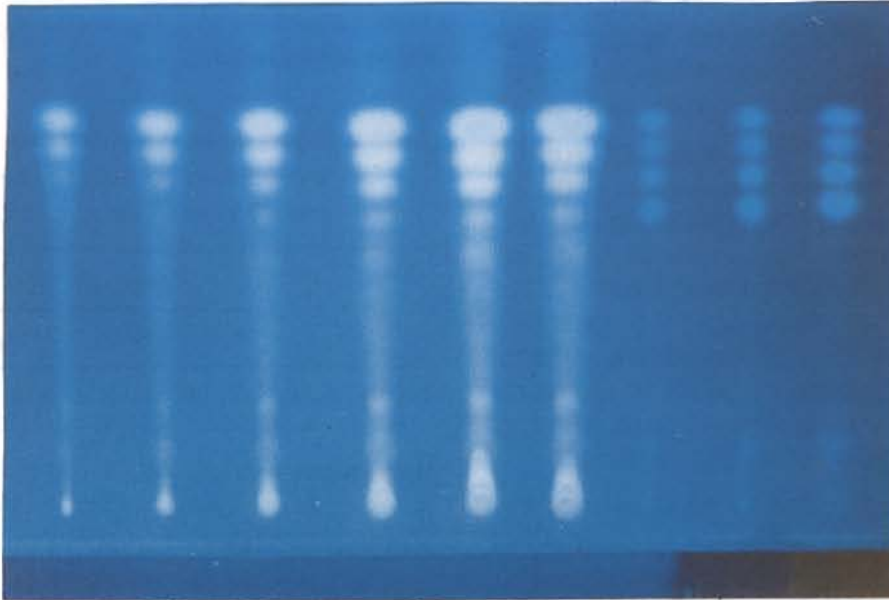
	Ferm. Öncesi (g)	Ferm. Sonrası (g)	Kayıp (%)
Buğday	300.00	275.00	8.33
Mısır	300.00	255.00	15.00
Pirinç	300.00	240.00	20.00
Yerfıstığı	300.00	260.00	13.33

Tartışma ve Sonuç

Tablo 1'de görüldüğü gibi spektrofotometrik ölçümlerde toplam aflatoksin düzeyleri (mg/kg) buğdayda 71.88, mısırdaki 48.14, pirinçte 63.64 ve yerfıstığında 14.65 olarak belirlenmiştir. Yine Tablo 1'de sözkonusu ürünlerde sentezlenen aflatoksin türleri (B₁, B₂, G₁, G₂) düzeyleri de görülmektedir. Bu çalışmada, pirinçten elde edilen düzey (60.64 mg/kg), Demet ve ark. (1995)'nin yine aynı materyali (pirinç) kullanarak yaptıkları çalışmada elde ettikleri düzeye (62.71 mg/kg) yakıneken, Shotwell ve ark. (1966)'nin pirinçte ürettikleri düzeyin (1500



Şekil 1. *A. parasiticus* NRRL 2999 sporlarının ışık mikroskopundaki görünümü. Metilen mavisi boyaması 40 x 11



Şekil 2. *A. parasiticus* NRRL 2999 tarafından sentezlenen AF B₁, B₂, G₁ ve G₂ lekelerinin İTK'da görünümü

$\mu\text{g/g}$) çok altında olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmada da fermentasyon süresince erlenler elle karıştırılmış, bir karıştırıcı sağlanamamıştır. Öte yandan, Gupta ve ark. (1975), *A. parasiticus* NRRL 3240 suşu kullanarak yaptıkları çalışmada, soya fasulyesinde 68.5 mg/kg düzeyinde toplam aflatoksin üretebilmişlerdir. Shotwell ve ark. (1966) ise suş olarak *A. flavus* NRRL 2999 kullanmışlardır. Bu durumda aynı materyal (substrat veya ürün) kullanılarak farklı suşların sentez yeteneği ve düzeylerinin belirlenmesinde yarar vardır. Birçok araştırmacı (Harvey ve ark., 1991; Huff ve ark., 1992; Kubena ve ark., 1993), *A. flavus* NRRL 2999 suşu kullanarak pirinçte 260 mg/kg düzeylerinde aflatoksin üretebildiklerini bildirmektedirler. Yine Giegler ve ark. (1966), *A. flavus* NRRL 3000 suşu ile sıvı ortamda $200\text{-}300 \text{ mg/l}$ AFB₁+G₁ üretebilmişlerdir. Harvey ve ark. (1991) ise, *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu ile pirinçte 260 mg/kg düzeyinde toplam aflatoksin üretebildiklerini bildirmektedirler. Schroeder (1966)'de *A. parasiticus* 64 R-8 suşu ile mısırdaki $1\text{-}2.29 \text{ mg/30 g}$ toplam aflatoksin üretebilmiştir.

Hesseltine ve ark. (1966) *A. flavus* NRRL 2999 suşu ile buğdayda $19 \mu\text{g/g}$, mısırdaki $47 \mu\text{g/g}$ pirinçte $185 \mu\text{g/g}$ ve yerfıstığında da $104 \mu\text{g/g}$ toplam aflatoksin üretirken, bu çalışmada, yukarıda bildirilen düzeyler elde edilmiştir. Her iki çalışmada elde edilen düzeylere bakıldığında, mısırdaki birbirine yakın, diğer ürünlerde ise kayda değer farklılıkların olduğu

görülmektedir. Yine Hesseltine ve ark. (1966), aynı çalışmalarında fermentasyon süresince karıştırıcı kullandıklarında bu düzeylerin buğdayda $869 \mu\text{g/g}$, mısırdaki $317 \mu\text{g/g}$, pirinçte $185 \mu\text{g/g}$ ve yerfıstığında da $282 \mu\text{g/g}$ gibi yüksek düzeylerin elde edildiğini bildirmektedirler.

Öte yandan Codner ve ark. (1963), yerfıstığında *A. flavus* suşu ile yerfıstığından elle karıştırma yapmak suretiyle $265 \mu\text{g/g}$ toplam aflatoksin üretebildiklerini bildirmektedirler. Hatta fermentasyon ortamına ZnSO_4 ilavesi ile aflatoksin sentezinin yaklaşık iki katı arttığını da belirtmektedirler.

Aflatoksin üretiminde spor ekiminden sonra fermentasyon süresince vasatın bir karıştırıcı vasıtasıyla karıştırılması ve böylece sentezlenme düzeylerinin artırılması önemli görülmektedir. Mantar suşu türlerinin aflatoksin sentez yeteneği birbirine benzerse de, alınan veya bildirilen farklı sonuçlar gözönünde tutularak, suş türü seçimi aflatoksin sentezi yapılacak laboratuvarlarda araştırmacı tarafından belirlenebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, elde edilen aflatoksin düzeyleri, deneysel yedirme çalışmalarında ihtiyaç duyulan miktarları karşılasa da; daha yüksek düzeylerin üretilmesi için çalışmaların sürdürülebilmesi, böylece çeşitli sahalarda gerekli olan aflatoksinin ülkemizde elde edilebilir hale getirilmesi gerektiği kanaatindeyiz.



Şekil 3. Pirinçte başarılı fermentasyon.



Şekil 4. Pirinçte başarısız fermentasyon

Kaynaklar

Arsecularetna, S.N., Silva De, L.M., Wijesundera, S. and Bandunatha H.S.R. (1969). Coconut as a Medium for the Experimental Production of Aflatoxin. *Appl. Micr.*, 18(1), 83-94.

Codner, R.C., Sergeant, K. and Yeo, R. (1963). Production of Aflatoxin by the culture of strains of *Aspergillus flavus oryzae* on stabilized peanuts. *Biotechnol. Bioeng.* 5:185-192.

Davis, N.D., Diener, U.L. and Eldridge, D.W. (1966). Production of Aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a Semisynthetic Medium. *Appl. Micr.*, 14 (3),378-381.

Demet Ö. ve Oğuz H. (1995) Aflatoxinsikozin Klinik Tanısı, Sağıtımı ve Koruyucu Önlemler. *Marmara'da Tarım Dergisi*,63:39-44.

Demet, Ö., Oğuz, H., Çelik, İ. ve Nizamlıoğlu, F. (1995). Pirinçte Aflatoxin İretilmesi. *Vet. Bilimleri Derg.* 11(1), 19-23.

Giegler, A., Peterson, R.E., Logoda, A.A. and Hall, H.H. (1966). Aflatoxin Production and Degadation by *As-*

pergillus flavus in 20 liter Fermentators. *Appl. Micr.*, 14 (5), 826-834.

Gupta, S.K. and Venkatasubramaian, T.A. (1975). Production of Aflatoxin on Soybeans. *Appl. Micr.* 29 (6), 834-837.

Harvey, R.B., Kubena, L.F., Phillips, T.D.,Corrier, D.E., Ellisade, M.H. and Huff. W.E. (1991). Diminition of Aflatoxin Toxycity to Gowing Lambs by Dietary Supplementation with Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate . *Am. J. Vet. Res.*, 12 (1), 152-157.

Hesseltine, C.W., Shotwell, O.L., Ellis, J.J. and Stubblefield, R.D.(1966). Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Bacteriol. Rev.* 30 (4) 795-805.

Huff, W.E., Kubena, L.F., Harvey, R.B. and Phillips, T.D. (1992). Efficacy of Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Reduce the Individual and Combined Toxicity of Aflatoxin and Ochratoxin-A. *Poultry Sci.*, 71:64-69.

Kaya, S. (1989). Aflatoxinler ve Diğer Mikotoksinler. *Türk Vet. Derg.* 2:12-16.

Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, T.D. and Clement, B.A. (1993). Effect of Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicates on Aflatoxicosis in Broiler Chicks. *Poultry Sci.* 72: 651-657.

Reddy, T.V., Viswanathan, L. and Venkatasubramanian, T.A. (1971). High Aflatoxin Production on a Chemically Defined Medium. *Appl. Micr.*, 22, (3), 393-396.

Schroeder, H.W. (1966). Effect of Corn Steep Liquor on Mycelial Growth and Aflatoxin Production in *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Micr.* 14 (3), 381-386.

Shotwell, O.L., Hasseltine, C.W., Stubblefield, R.D. and Sorenson, W.G. (1966). Production of Aflatoxin on Rice. *Appl. Micr.* 14 (5), 425-429.

Silman, R.W; Conway, H.F., Anderson R.A. and Bagley, E.B. (1979). Production of Aflatoxin in corn by a Large Scale Solid-Substrate fermentation Process. *Biotech and Bioeng.* 22: 1799-1808.

Stubblefield, R.D., Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Smith, M.L. and Hall, H.H. (1967). Production of Aflatoxin on Wheat and oats: measurements with a recording densitometer. *Appl. Micr.*, 15: 186-190.

Şanlı, Y. (1980). Besinlerde Küflenme Olgusu, Mikotoksinler ve Mikotoksikozisler. *Gıda Bil. Teknol. Derg.*, 3 (3-4), 127-147.