

Kaşar Peynirlerinde Aflatoksin B1 Kalıntılarının Araştırılması

Abdullah Doğan¹

Özet

Bu çalışmada Kars yöresinde tüketilen kaşar peynirlerinde aflatoksin B1 düzeyleri araştırıldı.

Araştırmada toplam 50 adet peynir örneği kullanıldı. Kaşar peynirleri marketlerden 100 g miktarında alınarak laboratuvara getirildi. Laboratuvarında iyice ufalanıp karıştırıldıktan sonra 20 g alındı ve metanol, fosfattampon ve dimetilformamid karışımından hazırlanan ekstrakt solüsyonu ile ekstrakte edildi. Ekstrakt yüzeyi antikorlar ile kaplanmış pleytlere uygulandı, yıkama yapıldı. Daha sonra pleytlar konjugat solüsyonu ile kaplandı ve tekrar yıkandı. Pleytlere substrat solüsyonu ilave edildi. Oluşan rengin 405 nm dalga boyunda konsantrasyonları ölçüldü.

Numunelerin hiçbirinde aflatoksin B1'e rastlanmadı.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin B1, kaşar peyniri.

Zusammenfassung

Die Untersuchungen von Aflatoksin B1 in der geblichen Kases.

In dieser Arbeit wurde Aflatoxin B1 in der geblichen Kases, die Karsgebiet verbraucht wird, untersucht.

In der Arbeit wurde total 50 geblichen Kases proben gebraucht. Das geblichen Kases wurde etwa 100 g von Laden gekostet und zur Labor gekommen. Im Labor wurde das gebliche Kases gemischt, davon 20 g ausgewogen und wurde mit metanol, fosfattampon und dimethylformamide gemische als extrakt solutions extraktion. Extrakt wurde zur Polystrolperlenen, denen Oberflache von Antikarper bedeckt wurde, gegeben. Das Polystrolperlen wurde ausgewascht. Dann wurde das Kongugat zur Polystrolperlen gegeben und es noch einmal ausgewascht. Zur Polystrolperlen wurde Substrat solution gegeben. Die farbene Solution wurde 405 nm mit der maschinen von ELISA vermessen.

Es wurde Aflatoxin B1 in der Proben nicht begegnet.

Schlüsselwort: Aflatoxin B1, geblichen Kases.

Giriş

Mantarlar çeşitli besinler için doğal kirleticilerdir. Uygun şartlar altında hazırlanmayan ve depolanmayan besin maddelerinde sıkça ürerler. Üremeleri için uygun şartlar bulduklarında hızla çoğalarak besin maddesinin hem görünüşünü hem de kimyasal yapısını değiştirirler(1, 2,3,4,5,6). Mantarların besin maddelerinde üremeleri esnasında sentezleyip salgıladıkları maddelere miko-toksinler adı verilir. Mantarlar üreyip mikotoksin sentez etmelerinde rutubet oranı, oksijen, ısı ve besin içeriğinin önemli derecelerde etkileri vardır(1,7-15).

Mikotoksinler, besin maddeleri ve yemlerle tüketicilerin sağlığını tehlikeye düşürebilecek boyutlarda alınabilir (1,2,6,17-22). Çok küçük miktarlarda uzun süre alındığında kronik, doz ve zaman faktörlerine bağlı olarak subakut ve akut şekillerde zehirlenmelere neden olabilmektedir. Şimdiye kadar çok sayıda mikotoksinin organizmada meydana getirdiği etkileri tanınmıştır. Claviceps purpurea'nın çavdarda üremesi ile sentez edilen ergot alkaloidlerini tüketen insanlarda perifer dokularda gangrenlerin ortaya çıkması ile karakterize

ergotizm belirtileri görülmektedir(3,4,5,8,13,17). Sitroviridin solunum sisteminde ve kaslarda felçlere neden olan bir mikotoksindir(5,6,17). Zearanol adlı türevi bugün bazı ülkelerde anabolizan amaçla kullanılan zearalenon, besinlerde bulunacak olursa tüketicilerde abortus, gonadlarda tümörler, vulvada ödem ve büyüme görülür(5,7,11,12,23,24).

Mikotoksinler içerisinde aflatoksinler önemli bir yere sahiptir. Aspergillus flavusun bir metaboliti olan bu toksinin yapılan araştırmalar neticesinde 18 çeşidinin olduğu tesbit edilmiştir(6,20,21,22,24,25). Uygun şartlar bulunduğu üreyen bu mantar, besin çeşidine göre az ya da çok değişik oranlarda mikotoksin sentezlemektedir (10,26, 27,28).

Aflatoksinlerin en önemli olanı B1 türevidir. Bu mikotoksinin ana metaboliti olarak kabul edilir. Aflatoksinler renksiz, suda az, etanol, kloroform gibi solventlerde kolay çözünen ışığa duyarlı, fakat ısıya yüksek derecelerde (300 °C'ye kadar) dahi dayanıklı olan maddelerdir(9,11,13,20,29).

Ağız yolu ile alındığında kolay ve hızlı bir şekilde emilerek kana geçerler. Organizmada aflatoksin p1, q1, m1, 2a, aflatoksikol ve aflatoksin B1-8,9-epoksidi dönüştürülür. Aflatoksin M1 sütle atılır, epoksit türevi ise aflatoksinlerin tümöral etkilerinden

¹ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı, KARS.

sorumludur. Metabolitler büyük bir oranda 24 saat içerisinde vucuttan atılır(11,30-34).

Aflatoksinlerle ilk zehirlenme 1960 yılında civcivlerde görülen ve Turkey x olarak adlandırılan olaydır. Zehirlenen civcivlerin tükettiği yemlerden izole edilen toksinlerin, yapılan çalışmalar sonucu *Aspergillus flavus* adı verilen mantarın üremesi sonucu salgılandığı tesbit edilmiştir (5,9,10,11,23, 24, 32,35).

Hayvan türleri aflatoksinlere karşı değişik faktörlere bağlı olarak farklı derecelerde duyarlılık gösterirler. Hayvanlarda zehirlenmelere neden olan aflatoksin miktarı 10-100 ppm arasında değişmektedir. Hayvan türlerine göre LD50'si 0.5-10 mg/Kg dozları arasındadır(5,13).

Akut aflatoksin zehirlenmelerinde karaciğer hasarına bağlı olarak yaygın sarılık ve kanamalar dikkati çeker. Karaciğerde nekroz odakları ve yağ birikmesine rastlanır. Kronik olaylarda ise büyüme hızında ve yemden yararlanmada önemli ölçülerde düşme, karaciğerde bozukluk, immün cevap ve böbrek fonksiyonlarında azalmalar görülür. Kanatlılarda strese uyum yeteneği azalır, yumurta verimi ve kuluçkadan canlı civciv çıkma oranı düşer(11,13,20,23,25). Canlıların sağlığını olumsuz yönde etkiler.

Bu çalışmada Kars yöresinde üretilen ve piyasaya çıkarılan kaşar peynirlerinde aflatoksin kalıntılarının bulunup bulunmadığı araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada toplam 50 adet kaşar peyniri örneği kullanıldı. Numuneler piyasadan rastgele toplandı.

Araç ve gereçler: Çalışmada erlenmayer, mezür, bolonjoje, pipet, mikropipet, polisitolperlen (pleyt), mikser, süzgeç kağıdı, karıştırıcı ve ELİSA okuyucusu (Metertech-960) kullanıldı.

Kimyasal maddeler: Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve elde edildikleri firmalar aşağıda gösterilmiştir.

Metanol	Merck
Dimetilformamid	Sigma
Sodyum karbonat	Merck
Sodyum hidrojenkarbonat	Merck
Potasyum dihidrojenfosfat	Merck
Disodyum hidrojenfosfat	Merck
Sodyum klorür	Merck
Tween 20	Merck
Sodyum hidrojen fosfat	Merck
Sitrik asit monohidrat	Merck
ABTS	Merck
Hidrojen peroksit	Merck
Sülfirik asit	Merck
Antiserum B1	Sigma
Aflatoksin B1	Aldrich
Anti-Aflatoksin B1-peroksidaz	Sigma
Fötalkölb serumu	Sigma

Solusyonların hazırlanması:

ABTS stok solüsyonu: 0,1 g. ABTS 5 ml'lik suda

çözdürüldü ve 1'er ml'lik hacimler halinde -20 °C'de kullanım için bekletildi.

ABTS kullanma solüsyonu: 9,8 ml sitrat tampon, 0,1 ml 0,12 mol/l'lik hidrojen peroksit ve 0,1 ml ABTS stok solüsyonu iyice karıştırılarak kullanıma hazır hale getirildi.

Hidrojen peroksit solüsyonu: 0,12 mol/l olacak şekilde hazırlandı. Bu amaç için 0,15 ml % 30'luk hidrojen peroksit 9,85 ml distile su ile sulandırıldı. Günlük hazırlanmalıdır.

Reaksiyon durdurma solüsyonu: 25 ml %98-100'lük sülfirik asitten alınıp hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

Sitrat tampon solüsyonu: (0,05 mol/l , pH 4) 4,8 g sitrik asit monohidrat 450 ml distile suda çözdürüldü. Yaklaşık 20 ml 1 mol/l Na- karbonat ile pH 4'e ayarlandı. Sonra hacmi 500 ml'ye su ile tamamlandı. +6 °C'da saklandı.

Sodyum karbonat solüsyonu: 10,6 g Na-karbonat 100 ml suda çözdürüldü. Fötal dana serumu taşıyan (% 3) PBS: 9 ml fötal dana serumu alındı ve hacmi PBS solüsyonu ile 300 ml'ye tamamlandı.

% 1'lik FCS taşıyan PBS: 15 ml fötal dana serumu alınıp hacmi PBS ile 1,5 l'ye tamamlandı.

Bikarbonat tampon: (0,1 mol/l, pH 9,6) Solüsyon A: 10,6 g Na-karbonat 1 litre suda çözdürüldü. Solüsyon B: 8,4 g Na-hidrojen karbonat 1 l suda çözdürüldü. Solüsyon B solüsyon A ile pH 9,6ya ayarlandı.

Ekstraksiyon solüsyonu: 70 ml-metanol, 29 ml PBS ve 1 ml Dimetilformamid karıştırıldı ve dört numunenin ekstraksiyonunda kullanıldı.

Ekstrakt sulandırma solüsyonu: 7 ml metanol, 92 ml PBS ve 1 ml dimetilformamid karıştırılarak hazırlandı.

Fosfat tampon solüsyonu: (PBS, 0,01 mol/l, 0,15 mol/l NaCl, pH 7,4). 0,27 g potasyum dihidrojenfosfat, 1,43 g disodyum hidrojenfosfat ve 8,55 g NaCl 1 litre suda çözdürülerek hazırlandı.

PBS-Twen-Yıkama solüsyonu: (0,1 mol/l, pH 7,4, 0,05 % Twen) . Solüsyon A:;0.54g Potasyum dihidrojenfosfat 17,1 g NaCl ve 1 ml Twen (20-80) 2 l suda çözdürüldü. Solüsyon B: 2,86 g diNa-hidrojenfosfat, 17,1 g NaCl ve 1 ml Twen 2 l suda çözdürüldü. Solüsyon B solüsyon A ile pH 7,4'e ayarlandı.

Afl.B1 stok solüsyonu: 1 mg Aflatoksin B1 10 ml kloroformda çözdürülerek hazırlandı (0,1 mg/ml).

Afl.B1 çalışma solüsyonu: Afl.B1 stok solüsyonundan 0,1 ml alınıp 10 ml'ye tamamlandı (1 mikrogram/ml). Bu solüsyondan 0, 1, 2, 4, 8 ve 10 mikrogram/Kg numune olacak şekilde yemlere katıldı. Bu değer 1 mikrogram /Kg için 0,02 ml/20 g numuneye denk gelir.

Metot: Bu çalışma Blüthgen u. Mitarb. (26) bildirdikleri ELİSA yöntemine göre yapıldı.

Antiserum B1 ve fötal dana serumları ile polisitolperlenlerin hazırlanması: Antiserum B1 'den 10 mikrolitre alınarak 1 ml'ye hacmi PBS ile tamamlandı (1/100). 82 °C'lik su banyosunda 5 dakika ısıtıldı. Oda ısısına soğutulduktan sonra 1/10 000 oranında Bikarbonat tampon ile tekrar sulandırıldı. Yani Ön sulandırmadan 0,1ml alınarak hacmi 1litreye Bikarbonat tampon ile çıkarıldı. Her positrolperlene bu serum

solüsyonundan verildi ve polisitrolperlenler oda ısısında bir gece ileri geri çalkalandı. Polisitrolperlenlerdeki tampon solüsyonu pipetlerle temizlendikten sonra iki kez PBS -Twen- Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra % 3 oranında fetal dana serumu taşıyan PBS her polisitrolperlene verildi. Polisitrolperlenler 35 dakika 37 °C'da inkübe edildikten sonra iki kez PBS-Twen -Yıkama solüsyonu ile yıkanarak, ELISA'da kullanıma hazır hale getirildi.

Ekstraksiyon: Standart amacıyla güneş ışığına ince serilerek 10 gün bırakılan ve muhtemel aflatoksin kalıntılarını gidermek amacıyla beş kez kloroformla ekstrakte edilip kurutulan kaşar numunelerine sırasıyla 0, 1, 2, 4, 8, 10, ppb'lik konsantrasyonlarda aflatoksin çalışma solüsyonundan ilave edildi. Numunelerdeki kloroform buharlaştıktan sonra ekstraksiyon yapıldı. Ekstrakt sulandırma solüsyonu ile ekstrakt 5 ml'ye tamamlandı ve oda ısısında karanlıkta uygulama için saklandı. 30 g numune iyice ufalandıktan sonra 20 gram bir beherglasa alınır ve üzerine 100 ml ekstraksiyon solüsyonu ilave edildi. Mikserde 3 dakika karıştırıldı, filtre edildi. Bu süzütüden 0,3 ml alınıp hacmi ekstrakt sulandırma solüsyonu ile 15 ml'ye tamamlandı.

Uygulama: 15 ml hacime getirilmiş standart ya da numune ekstraktı polisitrolperlenlere (1-3 arası) verildi. Perlenler bir kap içerisinde ışıktan korunarak oda ısısında bir saat süreyle makinede karıştırıldı. Solüsyon pipetle alınarak atıldı ve perlenler bir kez PBS-Tween-Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sonra polisitrolperlenler konjugat ile inkübe edildi. Burada 10 mikrolitrelik sentetik konjugat önce PBS ile 1/100 oranında sulandırıldı yani hacmi 1 ml'ye tamamlandı sonra 1/12.500 oranında % 1 oranında fetal dana serumu ilave edilmiş PBS ile sulandırıldı, yani 0,1 ml ön sulandırmadan alınıp hacmi %1 FCS taşıyan PBS ile 1,25 l'ye tamamlandı. Konjugatın son sulandırılmasından her perlene verildi. Perlenler ışıktan korunarak 1 saat oda ısısında karıştırılmadan saklandı. Konjugat pipetle emilerek atıldı ve perlenler üç kez PBS-Tween-Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sonra kromojen substrat solüsyonu ile perlenler inkübe edildi. Her perlene pipetler yardımıyla 0,2 ml substrat kullanma solüsyonu ilave edildi ve 37 °C'de su banyosunda karıştırılmadan inkübe edildi. Yeşil renk yaklaşık 20 dakikada maksimuma ulaşır. Reaksiyon bu zaman sonunda 0,025 ml 'lik durdurma solüsyonu ile sonlandırıldı, kısa bir karıştırma yapıldı.

Fotometrik ölçüm: Reaksiyon durdurulduktan sonra yeterli bir zamanda (20saniye/numune) ölçüldü. Perlenlerdeki sıvılar cilt ve kuvvet için yakıcı olabilir. 405 nm dalga boyunda absorbans ve konsantrasyon değerleri ölçülerek makineden sonuçlar alındı.

Bulgular

Analiz sonucu elde edilen standart değerler grafiğe aktarılarak standart eğri elde edildi. Okuyucudan alınan konsantrasyon ve absorbans değerleri bu eğri göz önüne alınarak değerlendirildi. Her numuneden iki

kuyucuğa konarak bunlardan elde edilen sonuçların ortalaması kullanıldı.

Analiz sonuçlarına göre analiz edilen bütün örneklerde aflatoksin B1 kalıntısına rastlanmadı.

Tartışma ve Sonuç

Mikotoksinler, doğada yaygın olarak bulunan ve oldukça ilginç özellikler gösteren mantarların metabolizma ürünleridir. Mantarlar hem bitkisel hem de hayvansal özellik gösteren canlılardır. Çeşitli sınıflara aittirler. Uygun şartlar bulduklarında hızla üreyerek mikotoksin sentezlerler(1,2,12,25,29). Mantarlar üreyebilmeleri için buldukları ortamda besin maddeleri, nem ve oksijene değişik yoğunluklarda ihtiyaç duyarlar(6,27,35). Yalnız mikotoksin sentezleme yeteneğine sahip olan her mantarların üremesi mikotoksin oluşturmaz. Yapılan çalışmalar mikotoksin sentezleyen mantarların üremesi sonucunda toksinlerin oluşabilmesi için besin maddeleri içerisinde karbonhidratların bulunması gerektiğini ortaya koymuştur. Mantarlar karbonhidratları ve özellikle şekerleri çok severler. Özellikle besin maddeleri içerisinde sakkarozun belirli yoğunluklarda bulunması mikotoksin sentezi için zaruridir. Yapılan çalışmalarda ortamda sakkarozun bulunması ile aflatoksin teşekkülü arasında doğru bir orantının mevcut olduğu tesbit edilmiştir. Besi yerlerine % 3.5 oranında sakkaroz katılması aflatoksin oluşumunu hızlandırdığı, hatta bu yoğunluğun % 8'e çıkarılması aflatoksin teşekkülünü daha çok artırdığı deneylerle ortaya konmuştur(16,27). Her iki çeşit besinde mantar üremesine rağmen protein içeriği yüksek olan baklagillere göre karbonhidrat içeriği fazla olan tahıllarda aflatoksin oluşumu daha fazladır.

Yapılan bu çalışmada hiç aflatoksine rastlanmamış olması muhtemelen yukarıda açıklanan sebeplerden dolayıdır. Kaşar peynirlerinde protein içeriğinin yüksek olması mantar ürese dahi mikotoksin sentezleme yeteneğinin en aza incecğini açıklamaktadır. Ayrıca kaşar peynirlerinin iç kısımlarında oksijen yetersizliğinden dolayı mantarın ürememesine de bağlı olabilir.

Peynirlerde, muhtemel aflatoksin kontaminasyon kaynağı olarak peynirlerin yapıldığı süt değerlendirilir. Aflatoksinlerin ısıya oldukça dayanıklı oldukları gözönüne alınacak olursa bu yönde bir kontaminasyonun olma olasılığı oldukça yüksektir. Ancak yapılan çalışmalarda süte besin maddeleri ile alınan aflatoksinlerin M1 metabolitinin geçtiği belirlenmiştir(11,16,30,31,32,33,34). Bu çalışmada bu yönde herhangi bir araştırma yapılmamış olup yalnızca aflatoksin B1 kalıntısı araştırılmıştır.

Aflatoksin analizinde çok sayıda yöntemden faydalanmak mümkündür(2,9,10,26,30). Bu çalışmada ELISA yöntemi kullanılmıştır. Araştırmacıya göre 1-10 ppb yoğunlukları arasında yöntemin linear eğri verdiği bildirilmektedir(26). İmmunokimyasal testlerde her zaman görülebilecek çapraz reaksiyon olayları ve daha yüksek konsantrasyonlardaki mikotoksin düzeylerinin belirlenmesindeki olumsuzluklar numunelerde aflatoksin

kalıntısına rastlanmaması dolayısıyla problem olmamıştır.

Mikotoksinlerin tüketicilerin sağlığını olumsuz yönte etkilemesinden dolayı besin maddelerinde bulunabilecek düzeyleri ile ilgili sınırlamalar getirilmiş ve bu konu ile ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır(11,23,31).

Sonuç olarak Kars'da üretilen ve tüketime sunulan kaşarlarda aflatoksin B1'e rastlanmamıştır.

Kaynaklar

1. Anon.: The threat of aflatoxins. J.A.V.M.A. 194(6):743-746,(1989).
2. Bauer,JundGareis,M.:Untersuchungsmethoden für Mykotoxinen. Deutsch. Tierarztl. Wschr. 96, 346-349,(1989).
3. Burfening,P.J.: Ergotism. J.A.V.M.A. 163(11): 1288-1290,(1973).
4. Carlton,W.W., Tuite,J. and Caldwell,R.: Penicillium viridicatum toxins and mold nephrosis. J.A.V.M.A. 163(11): 1297-1299,(1973).
5. Habermehl,G.: Die Bedeutung von Mykotoxikosen für Mensch und Tier. Dtsch.Tierarztl. Wochenschrift. 96, 335-338,(1989).
6. Shreeve,B.J. and Patterson,D.S.P.: Mycotoxicosis. The Vet. Rec. October 11, 279-280,(1975).
7. Blaney,B.J., Bloomfield,R.C. and Moore,C.J.: Zearalenone intoxication of pigs. Aust. Vet. J. 61(1): 24-27,(1984).
8. Cysewski,S.J.: Paspalum staggers and tremorgen intoxication in animals. J.A.V.M.A. 163(11): 1291-1292,(1993).
9. Heeschen,W. und Blüthgen,A.: Bedeutung einer Mykotoxin für die Kontamination von Milch und Milchprodukten. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 355-360,(1989).
10. Kaya,S.: Süt yemi ve çiğ sütte aflatoksin kalıntılarının kromatografik yöntem ile araştırılması. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 29(3-4): 443-457(1982).
11. Kaya,S.: Yem ve besinlerdeki mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. A.Ü. Vet.Fak. Derg. 36(1): 226-253,(1989).
12. Nelson,G.H., Christensen,C.M. and Mirocha,C.J. : Fusarium and estrogenism in swine. J.A.V.M.A. 163(11): 1276-1277,(1973).
13. Schuh,M.: Bedeutung der Mykotoxinaufnahme für Leistung und Gesundheit.Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 353-355,(1989).
14. Smalley, E.B.: T-2 toxin. J.A.V.M.A. 163(11): 1278-1280,(1973).
15. Tapia,M.O. and Seawright,A.A.: Experimental ochratoxycosis A in pigs. Aust. Vet. J. 61(7): 219-222,(1984).
16. Böhm, K.H.: Entwicklungsbedingungen für toxische Pilze. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 339-341,(1989).
17. Crump, M. H.: Slafamine (Slobber Factor) Toxicosis. J.A.V.M.A. 163(11):1300-1302,(1973).
18. Munro,I.C., Scott,P.M., Moodie,C.A. and Willes,R.F.: Ochratoxin A-occurrence and toxicity. J.A.V.M.A. 163(11): 1269-1273,(1973).
19. Richard,J.L.: Mycotoxin photosensitivity. J.A.V.M.A. 163(11): 1298-1299,(1973).
20. Shreeve,B.J.,Patterson,D.S.P. and Roberts,B.A.: Investigation of suspected cases of mycotoxicosis in farm animals in Britain. The Veterinary Record. October 11, 275-278,(1975).
21. Wilson, B.J. and Harbison,R.D. : Rubratoxins. J.A.V.M.A. 163(11): 1274-1275,(1973).
22. Wilson,B.J., Maronpot,R.R. and Hildebrandt,P.K.: Equine leukoencephalomalacia. J.A.V.M.A. 163(11): 1293-1294,(1973).
23. Kaya,S., Yavuz,H. ve Akar,F.: Bazı yağlı tohum küspelerinde mikotoksin kalıntıları. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 37(1): 173-180,(1990).
24. Lillehoj,E.B.: Feed sources and conditions conducive to production of aflatoxin, ochratoxin, fusarium toxins and zearalenone. J.A.V.M.A. 163(11): 1281-1283,(1973).
25. Pier,A.C.: An overview of the mycotoxicoses of domestic animals. J.A.V.M.A.163(11): 1250-1261,(1973).
26. Blüthgen,A., Schrader,W., Aman,I., Heeschen,W. und Hahn,G. : Zum enzymimmunologischen Nachweis von Aflatoxin B1 in Futtermitteln für Milchtiere. I.Entwicklung und Bewertung eines Perlen-ELISA. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 42(3):339-349,(1990).
27. Thalman,A.: Bedingungen für die Bildung von Mykotoxinen in Futtermitteln. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 341-343,(1989).
28. Trucksess,M.W., Young,K., Donahue,K.F., Morris,D.K. and Lewis,E.: Comparison of two immunochemical methods with thin-layer chromatographic methods for determination of aflatoxins. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73(3): 425-428,(1990).
29. Müller,H-M.: Massnahmen zur Minderung von Mykotoxinbildung und -anreicherung in Futtermitteln. Dtsch. Tierarztl. Wschr.96, 363-368,(1989).
30. Ergün,Ö.: Sütte ELISA testi ile aflatoksin M1 tesbiti. Pendik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 18(1-2):60-65,(1987).
31. Fink-Gremmels,J.: Bedeutung der Mykotoxinaufnahme für das Schlachtvieh. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 360-363,(1989).
32. Madden,U.A. and Stahr,H.M.: Retention and distribution of aflatoxin M1 in tissues of chicks fed aflatoxin-contaminated poultry rations amended with soil. Vet.Human Toxicol. 37(1): 24-29,(1995).
33. Steimer, J., Blüthgen,A., Heeschen,W., Wetzel,S. and Hamann,J.: Untersuchungen zur beeinflussung der ausscheidung von aflatoxin M1 durch polychlorierte biphenyle beim lactierenden rind. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 42(49): 543-552,(1990).
34. Wessel,J.R. and Stoloff,L.:Regulatory surveillance for aflatoxin and other mycotoxins in feeds, meat and milk. J.A.V.M.A. 163(11): 1284-1287,(1973).
35. Kaya,S., Bilgili,A. ve Çetin İ.: Etlik piliç yetiştiriciliğinde altlıktan kaynaklanabilecek mikotoksin riskinin araştırılması.TÜBİTAK VHAG Proje No: VHAG-783,(1990).