

## PİRİNÇTE AFLATOKSİN ÜRETİLMESİ

Ömer Demet<sup>1</sup> Halis Oğuz<sup>1</sup> İlhami Çelik<sup>2</sup> Ferhan Nizamlioğlu<sup>3</sup>

### Production of Aflatoxin on Rice

**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 of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 strain in the tubes containing Sabouraud Dextrose Agar (SDA), the spores were removed by washings with 0.005 % Triton X-100 (Merck) and an enriched suspension of spores were obtained. Following determination of the spore numbers in per ml. of suspension, the suspension was used to inoculate the sterilized rice in erlenmeyer flasks and after inoculation the flasks were in to an incubator for fermentation at 28 °C. At first stage of the study, thirtyfour erlenmeyer flasks were fermented. On the 2nd day of fermentation four erlenmeyers were removed because that rice kernels formed a large compact mass. After seven days fermentation, aflatoxin levels of the flasks were determined by Fluorescence Spectrophotometry. The mean aflatoxin level of thirty flasks was approximately 62.71 mg/kg (ppm). At second stage, three groups of erlenmeyers each having six ones, were fermented for 6,9, and 12 days. Aflatoxin levels were determined as follows; 30. 16 mg/kg, 29.65 mg/kg and 29.58 mg/kg respectively. Observation of no increase after 6 th day of the fermentation. As a result, 62.71 mg/kg total aflatoxin level were produced on rice, provides a sufficient amount for dietary aflatoxin feeding studies .

Key Words: Aflatoxin, production, rice.

**Özet:** Bu çalışmada, yedirme denemelerinde kullanılmak üzere pirinçte aflatoksin üretimi gerçekleştirildi. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 suşu, Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) içeren tüplerde sporlandırıldıktan sonra, sporlar % 0.005'lik Triton X-100 çözeltisi ile alınarak spor süspünsiyonu hazırladı. Spor sayımı yapıldıktan sonra, sterilize edilerek önceden hazırlanan pirinç içeren erlenmayerlere ekimler yapıldı ve fermantasyon için 28 °C'ye ayarlanmış etüve kondu. İlk aşamada, 34 adet erlen fermentasyona tabi tutuldu. İlk iki gün içerisinde topaklanma nedeniyle 4'ü fermentasyondan çıkartıldı. Kalanlar 7 gün süreyle fermente edildikten sonra aflatoksin düzeyi Floresans Spektrofotometre ile belirlendi. 30 erlende ortalama 62.71 mg/kg (ppm) düzeyinde total aflatoksin tespit edildi. İkinci aşamada, 6'sı 6 gün, 6'sı 9 gün ve 6'sı da 12 gün süreyle toplam 18 adet fermentasyon gerçekleştirildi. Aflatoksin düzeyleri mg/kg olarak sırasıyla 6. günde 30.16, 9. günde 29.65 ve 12. günde ise 29.58 olarak tespit edildi. Böylece fermentasyon süresinde renk değişimi de dikkate alındığında 6. günden itibaren aflatoksin düzeyinde bir farklılığının olmadığı görüldü. Sonuç olarak, pirinçte üretilen 62.71 mg/kg düzeyindeki total aflatoksin düzeyi, deneysel yedirme çalışmalarıda kullanılabilecek yeterli miktarı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, üretim, pirinç.

Geliş Tarihi: 19.5.1995

1- S.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toks. Anabilim Dalı, KONYA

2- S.Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embr. Anabilim Dalı, KONYA

3- T.K.B. Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü- KONYA

### Giriş

Aflatoksinler (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>), *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* adlı küf mantarları tarafından sentezlenen hepatotoksik metabolittir. İlk olarak 1960 yılında İngiltere'de küflenmiş yer fıstığı ile beslenen 10 bin hindi palazının ölmesiyle ortaya çıkmış, daha sonra alabalıklar üzerinde yapılan çalışmalar sonucu hepatomlara neden olduğu belirlenmiştir. Bu özelliği ile de insan sağlığı bakımından riskli maddeler arasında yerini almıştır (Demet ve Oğuz, 1995; Kaya, 1989; Şanlı, 1980).

Aflatoksikozis, aflatoksinlerin neden olduğu bir zehirlenmedir. Hayvanlarda, önemli ekonomik kayıplara neden olurken, insanlarda genellikle karaciğer kanserine yol açar.

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

Aflatoksin üretilmesinde en çok kullanılan ürünlerin başında yer fıstığı (Arseculeratne ve ark., 1969; Codner ve ark., 1963), buğday (Stubblefield ve ark., 1967) mısır (Schoeder, 1966), soya fasulyesi (Gupta ve ark., 1977, sorgum ve pirinç (Shotwell ve ark., 1966) gibi ürünler gelmektedir. Bunlardan başka sıvı ortamlarda da aflatoksin üretilmektedir (Ciegler ve ark., 1966, Reddy ve ark., 1971; Schoeder, 1966).

Shotwell ve ark. (1966) *A. flavus* NRRL 2999 suşu kullanarak pirinçte fermentasyon yolu ile 1500 µg/gr düzeyine kadar total aflatoksin üretmeyi başarmışlardır. Bu düzeyin (µg/gr), 950'si B<sub>1</sub>, 143'ü, B<sub>2</sub>, 365'i G<sub>1</sub>, ve 62'si G<sub>2</sub>'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 fasulyesi ununda 6.85 mg/100 gr düzeyinde total aflatoksin üretebilmişlerdir. Yine aynı çalışmada, substrata ZnSO<sub>4</sub> ilave edildiğinde aflatoksin sentezinin yaklaşık iki kat arttığı belirtilmektedir. Schroder (1966), *A. parasiticus* 64-R 8 suşu ile mısırdaki 1-2.29 mg/ 30 gr total aflatoksin; Arseculeratne ve ark. (1969), *A. flavus* ATCC-15546 suşu ile hindistan cevizinde 8 mg/gr total aflatoksin; Harvey ve ark. (1991) ise, *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu ile pirinçte 260 mg/kg düzeyinde total aflatoksin üretebilmişlerdir.

Ciegler ve ark. (1966), *A. flavus* NRRL 3000 suşu ile 200-300 mg/lt arasında Afl. B<sub>1</sub>+G<sub>1</sub>; Reddy

ve ark. (1971), *A. parasiticus* ATCC 15517 suşu ile 28-30 mg/100 ml total aflatoksin; Davis (1966)'de *A. flavus* ile yarısentetik substratta 63 mg/ml total aflatoksin üretebilmişlerdir.

Birçok araştırmacı (Harvey ve ark., 1991; Huff ve ark., 1992; Kubena ve ark., 1993), *A. parasiticus* NRRL 2999 suşu kullanılarak pirinçte üretilen aflatoksinin %79'unun B<sub>1</sub>, % 16'sinin G<sub>1</sub>, %4'nün B<sub>2</sub> ve %1'nin de G<sub>2</sub>'den oluştuğunu tesbit etmişlerdir.

Deneysel yedirme çalışmalarında ilk önce, küf mantarı suşundan uygun bir ortamda aflatoksin üretilmekte ve yeme karıştırılmak suretiyle hayvanlara yedirilmektedir. Bu çalışma ile de, yedirme denemelerinde kullanılmak üzere, pirinçte aflatoksin üretilmesi amaçlanmaktadır.

### Materyal ve Metot

Araç ve Gereçler: Etüv (Dedeoğlu), Sterilizatör (Dedeoğlu), Otoklav (Labsco), Santrifüj (Runne Heidelberg Mod, RS, 80-A), Rotatif evaporatör (Heidolph), Hassas terazi (Shimadzu), Otomatik leke uygulayıcısı-stopper (Desega), U.V. Işın Kabini (Desega), Floresans Spektrofotometre (Perkin Elmer MPF- 43-A, T.K.B. il Kontrol Lab. ANK.), İnce Tabaka Plakaları (İTK) (Merck, Silikajel-60), Developman tankı (Labsco), Mikroskop (Leitz Ortho Lux-II - Model), Rutin diğer laboratuvar malzemeleri.

Kimyasal Maddeler: Metanol (Merck), Aseton (Merck), Asetonitril (Merck), Kolorform (Merck), Benzen (Merck), Dietileter (Merck), Triton X-100 (Merck), Sodyum sülfat (Anhidr, Merck), Sabouraud Dekstroz Agar (SDA, Oxoid), Aflatoksin (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) Standartları (Altech firması aracılığı ile Macor Chemical-Ltd, Kudüs'ten sağlandı).

Standart ve Diğer Çözeltiler: Stok standart çözeltisi (20 µg/ml): 1 mg aflatoksin 50 ml benzende çözündürülerek 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 tank çözeltisi: 50 ml dietileter içinde 10 gr. susuz sodyum sülfat katılarak hazırlandı.

2. Developman tank çözeltisi: Kloroform +Aseton+Sü (88+12+1.2).

Triton x-100 çözeltisi (%0.005): Steril bidistile su ile hazırlandı.

Diğerleri: Pirinç (Baldo). *Aspergillus parasiticus*

## Prinçte Aflatoksin Üretilmesi

NRRL 2999 suşu (T.K.B. Ankara il Kontrol Lab.' dan sağlandı).

Pirinçte Aflatoksin üretilmesi ve Ekstraksiyonu, Shotwell ve ark. (1966)'nın bildirdikleri yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.

Kültür Vasatının Hazırlanması: 3.9 gr Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) tartılarak üzerine 100 ml distile su eklendi. İyice eritildikten sonra 1.5 kg/cm<sup>2</sup> basınç altında 121 °C'de 15 dk otoklavda sterilize edildi. 15x1.5 cm'lik 15 adet steril tüplere aktarıldıktan sonra ağızları pamukla kapatılarak dökmeyecek şekilde yatık durumda vasatın katılması sağlandı.

Nutrient buyyonda sulandırılan *A. parasiticus* suşundan vasata ekimler yapıldıktan sonra etüve konarak 28 °C'de sporlanma sağlandı.

Spor Sayımı: Vasatta oluşan 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 süspansiyonları 50 ml'lik steril bir balon jodede toplandı. Bundan 1/10, 1/100 ve 1/1000'lik dilüe çözeltileri hazırlandıktan sonra Thoma lamında mikroskopta sayıldı. Böylece ml'de  $3.84 \times 10^6$  spor hücresi olduğu belirlendi.

Pirinçte Fermantasyon: 250 ml'lik bir erlene 50 gr. pirinç tartılarak üzerine 25 ml musluk suyu ilave edildi. İki saat süreyle karıştırıldıktan sonra ağızı pamuk tampon ile kapatılarak 1.5 kg/cm<sup>2</sup> basınç altında 121 °C'de 15 dk. süreyle otoklavda sterilize edildi. Soğuması beklendi ve sonra kuvvetlice çalkalanarak lapalaşmalar önlenildi. 0.5 ml spor süspansiyonu ilave edildikten sonra yeniden karıştırıldı ve 28 °C'ye ayarlanmış etüve fermente olmak üzere kondu. Geceleri hariç her saat başı elle karıştırılmak suretiyle pirinç danelerinin mümkün olduğu kadar birbirine yapışması önlenmeye çalışıldı. 24. ve 48. saatlerde 5'er ml steril su eklendi. 12. güne kadar sürdürülen fermentasyonda günlere göre renk değişiklikleri gözlemlendi. Fermentasyondan sonra sterilizatöre alınarak 70 °C'de yaklaşık iki gün süreyle kuruması sağlandı.

Toplam 52 adet erlende fermentasyon gerçekleştirildi. Bunun 34 adedi 7 gün süreyle; kalan 18 erlenden 6'sı 6 gün ; 6'sı 9 gün ve 6'sı da 12 gün süreyle fermentasyona tabi tutuldu. Fermantasyon sonucu etüvden alınan erlenler, 70 °C'ye ayarlanmış sterilizatörde 2 gün süreyle kurutulduktan sonra içerikleri öğütüldü ve deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere saklandı.

## Aflatoksin Analizi

Ekstraksiyon: 10 gr fermente pirinç unu 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 gr .susuz sodyum sülfat konulan bir huniden süzüldü. Uçurma balonuna alınan kloroform rotatif evaporatörde uçurulduktan sonra kalan ekstrakt 10 ml kloroform ile çözdürülerek küçük viallere alındı.

Geriye Kazanç Yüzdesinin Belirlenmesi: 10 gr pirince 10 µg ve 100 µg düzeyinde aflatoksin B<sub>1</sub> katılmak suretiyle geriye kazanç yüzdesi belirlendi.

Plakaya Leke Uygulanması ve Okunması: Plakaya değişik yoğunluklarda aflatoksin çözeltileri ve numune ekstraktı çözeltileri otomatik leke uygulayıcısı ile uygulandı. Birinci developmandan sonra kirliliğin ayrılmış olduğu kısmı kesilen plaka, ikinci developman tankına kondu. 2. developman tankından alındıktan sonra kurutulurak U.V. lambası altında 365 nm. dalga boyunda incelendi. Numune lekeleri de belirlendikten sonra plaka, Floresans Spektrofotometre (emisyon; 425, eksitasyon; 365 nm) ile okunarak aflatoksin düzeyleri belirlendi.

## Bulgular

Toplam 34 adet erlenden 4'ünde daha ilk iki gün içerisinde topaklanma meydana geldiği için fermentasyona tabi tutulmadı. Kalan 30 adet erlen de fermentasyon süresince her saat başı elle karıştırılarak homojen bir renk değişikliğinin oluşması sağlandı. Fermentasyonun 2. gününde pirinç daneleri üzerinde leke gibi beyaz renkli bölgeler, 3. gün içerisinde ise giderek parlaklık kazanan sarı renklenmeler gözlemlendi. 4. günden itibaren de renklenme önce açık kahverengi, daha sonra da giderek buğday rengine dönüştü. Fermentasyon sonucunda pirinç danelerinin buğday görünümü kazanmış olduğu gözlemlendi. Bütün erlen içerikleri birarada toplanıp karışım sağlandıktan sonra yapılan analizlerde total aflatoksin düzeyinin 62.71 mg/kg (ppm) olduğu saptandı.

İkinci aşamada gerçekleştirilen 18 adet erlendeki fermentasyonda ise 6. günde 30.16 mg/kg; 9. günde 29.65 mg/kg ve 12. günde 29.58 mg/kg düzeyinde total aflatoksin belirlendi.

Analizde spektrofotometrik okumada aflatoksin tür ayırımı yapılamadı. Ekranında görülen ve tespit edilen aflatoksin piklerinin çıktısı alınamadı. Geriye



kazanç yüzdesinin belirlenmesi için yapılan analizlerde, bu oran % 92 olarak tespit edildi.

*A. parasiticus* NRRL 2999, suşu tarafından oluşturulan sporlar Şekil 1'de, İnce Tabaka Kromatografisinde aflatoksin lekeleri Şekil 2'de görülmektedir.

### Tartışma ve Sonuç

İlk aşamada fermentasyona tabi tutulan 34 erlenden 4'ü ilk iki gün içerisinde topaklanma gösterdiğinden fermentasyonları sürdürülmedi. İyi bir fermentasyon için, erlen içeriklerinin su oranının uygun bir şekilde ayarlanması ve sürekli karıştırmak suretiyle içeriğin bir yığın haline dönüşmesinin önlenmesi gerekmektedir. Bunun için de bir karıştırıcıya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada karıştırma işlemi, geceleri hariç olmak üzere her saat başı elle yapılmıştır.

Fermentasyon süresince pirinç danelerinde görülen renk değişiklikleri Shotwell ve ark., (1966)'nın fermentasyonda belirledikleri değişikliklerle benzerlik göstermekteydi. Bu değişiklikler, genellikle başlangıçta daneler üzerinde beyaz lekeler, daha sonra sararma ve nihayet açık kahverengiden giderek buğday rengine dönüş, hatta dikkatle bakıldığında pirinç daneleri sanki buğday danesiymiş gibi bir görünüm alma şeklinde olmaktadır.

İlk aşamada gerçekleştirilen 30 adet fermentasyonda ortalama olarak 62.71 mg/kg (ppm) total aflatoksin elde edilmiştir. Floresens Spektrofotometrede kantitatif olarak belirlenen bu düzeyin, total aflatoksin bazında 1500 µg/gr düzeyinde üretebilen Shotwell ve ark. (1966)'na göre oldukça düşük olduğu görülmektedir. Adı geçen çalışmada suş olarak *A. flavus* NRRL 2999 kullanılmıştır. *A. parasiticus* NRRL 3240 suşunun kullanıldığı Gupta ve ark. (1966)'nın soya fasülyesi ile yaptıkları çalışmada ise, 68.5 mg/kg düzeyinde total aflatoksin üretilmiş olup, bu çalışmada elde edilen düzeye (62.71 mg/kg) yakındır. Pirinçte *A. flavus* NRRL 2999 suşu kullanılarak yapılan çalışmalarda (Harvey ve ark., 1991; Huff ve ark., 1992; Kubena ve ark., 1993), 260 mg/kg total aflatoksin üretildiği bildirilmektedir. Yine Ciegler ve ark., (1966), *A. flavus* NRRL 3000 suşu kullanılarak sıvı ortamda 200-300 mg/lt arasında Afl. B<sub>1</sub>+G<sub>1</sub>, Arseculeratne ve ark. (1966), *A. flavus* ATCC 15546 suşu ile hindistan cevizinde 8 mg/gr total aflatoksin üretebilmişlerdir ki, bu düzeyler bu çalışmada elde edilen düzeyin (62.71 mg/kg) çok üstündedir.

Bir çalışmada (Gupta ve ark., 1975), vasata ZnSO<sub>4</sub> katılmasının sentezlenmeyi yaklaşık iki katı kadar arttırdığı bildirilmektedir.

Görüldüğü gibi aflatoksin sentezine yönelik çalışmalarda elde edilen sonuçlar oldukça farklıdır. Bunda birçok faktörün etkili olduğu anlaşılmaktadır. Bunlardan ilki, kullanılan suşun taze olması; yani aflatoksin üretme yeteneğinin azalmamış olmasıdır. Bu çalışmada, T.K.B. Ankara il Kontrol Lab.'dan sağlanan suşun yeterince taze veya aktif olmaması sözkonusu olabilir. Çünkü, ikinci aşamada gerçekleştirilen 18 adet fermentasyonda ortalama 30 mg/kg düzeyinde aflatoksin belirlenebilmiştir. İlk aşamadaki fermentasyon şartlarında yapılan bu fermentasyonda düzeyin hemen hemen yarıya düşmesindeki asıl sebep aynı kültürün pasajlanmış şeklinin kullanılması olabilir.

Aflatoksin sentezlenmesi üzerine etkili diğer faktörlerden birisi de fermentasyona tabi tutulan içeriğin düzenli olarak sürekli karıştırılması gereğidir. Bundan amaç, pirinç danelerinin birbirine misellerle tutunup küme oluşturmamasıdır. Bunun için de en iyisi imkanı var ise, uygun bir karıştırıcının kullanılmasıdır. Bu çalışmada karıştırıcı temin edilemediğinden karıştırma işlemi elle yapılmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile elde edilen 62.71 mg/kg pirinç düzeyindeki total aflatoksin, deneysel yedirme çalışmaları için gerekli olan aflatoksin miktarını karşılamaktadır. Ancak bu düzey, yukarıda da belirtildiği gibi Gupta ve ark.(1975)'nin ve Arseculeratne ve ark. (1969)'na göre çok düşüktür. O nedenle, üretim çalışmalarında üretimi veya sentezi etkileyen faktörlerin özellikle dikkate alınmasında yarar olduğu kanısındayız. Böylece, laboratuvar koşullarında çok daha yüksek düzeyde aflatoksin üretilmesi mümkün olacaktır.

### Kaynaklar

- Arseculeratne, S.N., Silve 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), 88-94.
- Ciegler, A., Peterson, R.E., Logoda, A.A., and Hall, H.H. (1966). Aflatoxin Production and Degradation by *Aspergillus flavus* 20 Liter Fermentors. *Appl. Micr.*, 14(5), 826-834.
- Codner, R.C., Sergeant, K. and Yeo, R. (1963). Production of Aflatoxin by the culture of strains of *Aspergillus flavus* oryzea on stabilized peanuts. *Biotechnol. Bioeng.* 5: 185-192.
- Davis, N.D., Diener, U.L. and Eldridge, D.W. (1966). Production of Aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> by *Aspergillus flavus* in a Semisynthetic Medium. *Appl. Micr.*, 14 (3), 378-381.
- Demet, Ö., ve Oğuz, H. (1995). Aflatozikozisin Klinik Tanısı, Sağıtımı ve Koruyucu Önlemler. *Marmara'da Tarım Dergisi*, 63: 39-44.
- Gupta, S.K. and Venkatasubramanian, T.A. (1975). Production of Aflatoxin on Soybeans. *Appl. Micr.* 29, (6), 834-837.

## Prinçte Aflatoksin Üretilmesi

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

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). Aflatoksinler 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 Aflotoxicosis in Broiler Chicks. *Poultry Sci.* 72: 651-657.

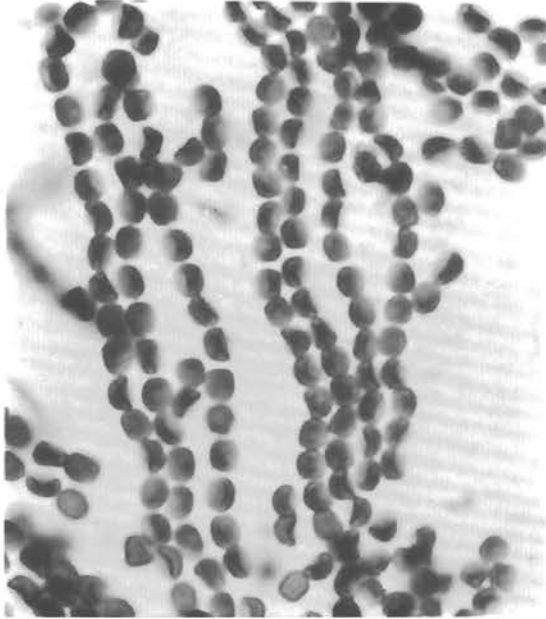
Redy, T.V., Viswanathan.L. and Venkatasubramanian. T.A., (1971). High Aflatoxin Production on a Chemically Defined Medium. *Appl. Micro.*, 22 (3), 393-396.

Schroder, H.W. (1996). Effect of Corn Steep Liquor on Mycelial Growth and Aflatoxin Production in *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Micro.*, 14 (3) 381-386.

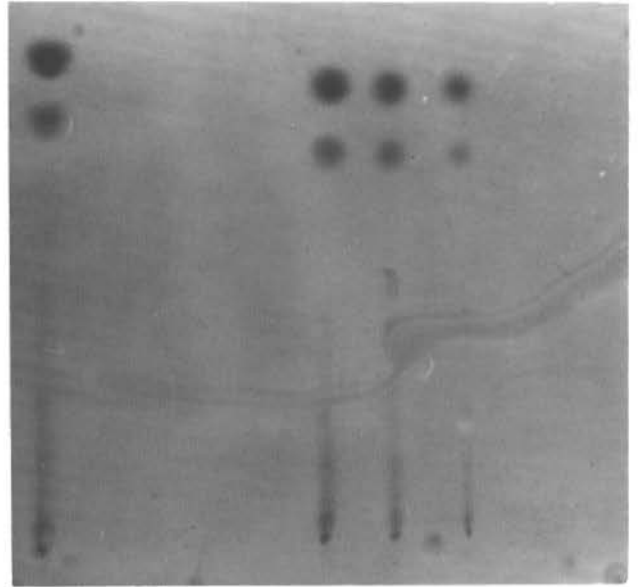
Shotwell, O.L., Hasseltine, C.W., Stubblefield, R.D. and Sorenson.W. G. (1966). Production of Aflatoxin on Rice. *Appl., Micro.* 14 (5), 425-429.

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

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



Şekil 1 : *A. parasiticus* NRRL 2999 sporlarının ışık mikroskopundaki görünümü. Giemsa boyaması, x 2000



Şekil 2: *A. parasiticus* NRRL 2999 tarafından pirinçte sentezlenen Afl. B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> lekelerinin İTK'da görünüşleri. (Afl. B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>, yoğunlukların düşük olduğundan resimde çıkmamıştır).