

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VE KIRIKKALE
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**SIĞIR ETLERİNDE HORMON KALINTISI VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Salih Engin ŞEVİK**

**Danışman
Doç. Dr. Naim Deniz AYAZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Ocak 2016
KIRIKKALE**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VE KIRIKKALE
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**SIĞIR ETLERİNDE HORMON KALINTISI VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Salih Engin ŞEVİK**

**Danışman
Doç. Dr. Naim Deniz AYAZ**

**Ocak 2016
KIRIKKALE**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Salih Engin şEVİK

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Sığır Etlerinde Hormon Kalıntısı Varlığının Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Salih Engin ŞEVİK

Danışman
Doç. Dr. Naim Deniz AYZ

Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı
Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU DOĞRU

Doç. Dr. Naim Deniz AYZ danışmanlığında **Salih Engin ŞEVİK** tarafından hazırlanan “**Sığır Etlerinde Hormon Kalıntısı Varlığının Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

... /... /2016

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Naim Deniz AYZ

Üye : Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU DOĞRU

Üye : Doç. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /..... /

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam sayın Doç. Dr. Naim Deniz AYZAZ'a, yüksek lisans dersleri ve tezimin yazımı esnasındaki yardımlarından dolayı Veteriner Hekim Ufuk BİLGİÇ'e, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan eşim ve kızıma, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

Salih Engin ŞEVİK

Kırıkkale, Ocak 2016

SIĞIR ETLERİNDE HORMON KALINTISI VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Salih Engin ŞEVİK

Erciyes Üniversitesi ve Kırıkkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2016
Danışman: Doç. Dr. Naim Deniz AYAZ

ÖZET

Dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte hayvansal gıdalara olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Özellikle sığır yetiştiriciliğinde hayvanlarda ağırlık artışı için yemden hayvanın maksimum düzeyde faydalanabilmesi ve yağ dokunun olabildiğince azaltılıp kas dokunun oranının artırılabilmesi gibi sebeplerle anabolik maddelerin kullanımı gündeme gelmektedir. Bu çalışmanın amacı sığır etlerinde insanlarda ciddi sağlık sorunlarına yol açabilecek bazı anabolik maddelerden DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol varlığının tespit edilmesidir. Test materyali olarak Kocaeli'nde kasap ve marketlerden toplanan 200 adet sığır eti kullanılmıştır. Anabolik maddelerden DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol ELISA yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışmada analiz edilen tüm örneklerde, araştırılan hormonların kalıntısı 1 ppb'nin altında tespit edilmiştir. Sonuç olarak örneklerde tespit edilen anabolizan madde kalıntı miktarlarının kabul edilebilir düzeyin altında olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sığır eti, Des, Trenbolon, Östradiol 17 β , Zeranol, ELISA

INVESTIGATION OF HORMONE RESIDUES IN BEEF

Salih Engin ŞEVİK

Erciyes University and Kırıkkale University
Institute Of Health Sciences
Food Hygiene and Technology Department
M.Sc. Thesis, October 2016
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Naim Deniz AYAZ

ABSTRACT

Due to the rapid increasing in the world's population, raises the need to animal origin foods. Especially, using anabolic substances come into question in cattle breed for several reasons such as weight gain, increasing feed efficiency, decreasing fat tissue and increasing muscle tissue. The aim of this study was to detect the residue amounts of some anabolic substances (DES, estradiol 17 β , trenbolon and zeranol) in beef. In the study, 200 beef samples were collected from the butchers and grocery stores in Kocaeli. Anabolic substances (DES, estradiol 17 β , trenbolon, and zeranol) were detected using ELISA method. Tested anabolic substances residues were detected below than 1 ppb in all tested samples. As a result, the amount of the detected residues were lower than the acceptable level.

Keywords: Bovine meat, Des, Trenbolon, Estradiol 17 β , Zeranol, ELISA

İÇİNDEKİLER

SIĞIR ETLERİNDE HORMON KALINTISI VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL ONAY.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR.....	ix
TABLolar, ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. TESTOSTERON.....	4
2.2. ÖSTRADİOL - 17 β	4
2.3. DİETİLSTİLBESTROL.....	5
2.4. ZERANOL.....	6
2.5. TRENOLON ASETAT.....	8
2.6. KLENBUTEROL.....	8
2.7. METİLTESTOSTERON.....	9
2.8. HAYVANLARDA HORMON KULLANIMININ VERİM ÜZERİNE ETKİSİ.....	10
2.9. HAYVANSAL GIDALARDA HORMON KALINTISI OLUŞUMUNA NEDEN OLAN FAKTÖRLER.....	11
2.10. HAYVANSAL GIDALARDA HORMON KALINTILARI VE HALK SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ.....	12

3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. DES ANALİZ PROSEDÜRÜ	20
3.1.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon	20
3.1.2. ELISA Test Prosedürü.....	21
3.2. ÖSTRADİOL - 17 β ANALİZ PROSEDÜRÜ	22
3.2.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon	22
3.2.2. ELISA Test Prosedürü.....	23
3.3. ZERANOL ANALİZ PROSEDÜRÜ	24
3.3.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon	24
3.3.2. ELISA Test Prosedürü.....	24
3.4. TRENOLON ANALİZ PROSEDÜRÜ.....	25
3.4.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon	25
3.4.2. ELISA Test Prosedürü.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
6. KAYNAKLAR	39
ÖZ GEÇMİŞ	47

KISALTMALAR

BGH	: Sığır Büyüme Hormonu
BST	: Sığır Somatotropini
CMA	: Klormadinon Asetat
DES	: Dietilstilbestrol
DHA	: Dehidroepiandrosteron
FCR	: Yem Dönüşüm Oranı
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
JECFA	: Gıda ve Tarım Örgütü Ortak Uzmanlar Komitesi
MGA	: Melengestrol Asetat
MPA	: Medroksiprogesteron Asetat
MRPL	: Gerekli Aimum Performans Limiti
TBA	: Trenbolon Asetat
USDA	: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
ppb	: Parts per billion
ppt	: Parts per trillion

TABLOLAR, ŞEKİLLER VE RESİMLER LİSTESİ

Tablo 4.1. Çalışılan Sığır Eti Numunelerinde Anabolizan Madde Varlığı Sonuçları...	27
Tablo 4.2. Çalışılan Sığır Eti Numunelerinde Anabolizan Madde Varlığı % Değerleri.....	35
Şekil 2.1. Testosteron Yapısal Formülü	4
Şekil 2.2. 17β- Östradiol Yapısal Formülü.....	5
Şekil 2.3. DES Yapısal Formülü.....	6
Şekil 2.4. Zeranol Yapısal Formülü	7
Şekil 2.5. Trenbolon Yapısal Formülü	8
Şekil 2.6. Klenbuterol Yapısal Formülü.....	9
Resim 3.1. BioTek™ ELx800™ Absorbance Microplate Readers	19
Resim 3.2. BioTek™ ELx50™ Microplate Strip Washer.....	20
Resim 3.3. RIDASCREEN® DES kantitatif analizi için yarışmalı ELISA kiti.....	22
Resim 3.4. RIDASCREEN® 17β-Östradiol analizi için yarışmalı ELISA kiti.....	23
Resim 3.5. RIDASCREEN® Zeranol kantitatif analizi için yarışmalı ELISA kiti.	25
Resim 3.6. RIDASCREEN® Trenbolon kantitatif analizi için yarışmalı ELISA kiti. ..	26

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusunun hızla artışı ve yaşam standartlarının yükselmesi fazla miktarda ve iyi nitelikli hayvansal kaynaklı gıdaların üretilmesini zorunlu hale getirmektedir. Bunu sağlamak için, hayvanların bakım ve beslenmesi ile genetik yapısının iyileştirilmesi yanında, besi durumu ve verimlerini artırmak amacıyla hormon ve hormon benzeri maddelerin kullanılması sıklıkla gündeme gelmektedir (1, 2).

Anabolik maddeler vücutta azotun tutulmasına, protein ve aminoasitlerin parçalanmasının azalmasına yol açarak kas kitlesini artırır. Ayrıca vücutta, azot yanında sodyum, potasyum, kükürt, fosfor ve klorun tutulmasına da sebep olurlar (3). Anabolik maddeler, eritropoetin sentezinin artmasına ve kemik iliğinde kan yapıcı maddelerin uyarılmasına yol açarak kan yapımının da artmasına neden olurlar (3, 4).

Anabolik ilaçlar, birçok ülkede canlı hayvan yetiştiriciliğinde büyüme oranını ve beslenme etkinliğini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (5-9). Östrojenler ve östrojen benzeri maddeler, somatotropin ve insulin sekresyonunu arttırarak protein depolanmasını sağlamaktadır. Sentetik hormonların implante edilmesi ile longissimus kas bölgesinin geliştiği bildirilmektedir (10-12).

Bu çalışmanın amacı Kocaeli bölgesinde satışa sunulan sığır etlerinde bazı anabolik maddelerin (DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol) varlığını tespit etmektir. Bu amaç doğrultusunda Kocaeli il sınırları içerisinde bulunan kasap ve marketlerden toplanan 200 adet sığır eti örneği test materyali olarak kullanılmıştır. Anabolik maddelerin (DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol) analizi ticari test kitleri (Ridascreen) ile ELISA yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Tespit edilen anabolizan madde düzeyleri 19.12.2012 tarihli 28502 sayılı resmi gazetede yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen limitlere uygun olup olmadığı incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Hormonlar kan dolaşımı ile hedef organlara taşınan ve hedef organlar üzerinde etkiye sahip maddelerdir. Hormonlar üretim şekillerine göre doğal hormonlar ve kimyasal olarak üretilmiş anabolizanlar olmak üzere temel olarak iki başlık altında sınıflandırılmaktadır. Hormonlar, biyolojik aktivitelerine göre östrojenik, androjenik ve gestajenik, kimyasal yapılarına göre de endojen ve eksojen steroidler ile steroid olmayan eksojen bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır (13).

Steroid yapılı hormonlar, ağızdan alındıklarında sindirim kanalından emilerek vücutta etkinliklerini devam ettirirler. Örneğin doğum kontrol hapları steroid hormonlardır ve ağızdan kullanılırlar. Tersine protein yapıdaki hormonlar midede parçalanır ve ağızdan alındıklarında vücutta etkinlik gösteremezler. Bunun için genellikle protein yapılı hormonlar bir etki oluşturmak için vücuda enjeksiyonla verilmelidir (14-16).

Gıda endüstrisinde kullanılan hormonlar azotun vücutta tutulmasını sağlayarak protein sentezini arttırırlar. Böylece genç hayvanların daha çabuk ağırlık artışı kazanmasını sağlarlar. Et endüstrisinde kesimden önce hayvan tarafından yenilen yemin miktarını ve bekleme süresini kısaltmaya yardımcı olurlar. Bu etkileri ile canlı ağırlık kazancını %10-25 ve yemden yararlanmayı %5-10 arasında arttırırlar. Canlı ağırlıktaki artış daha az yağ içeren ama daha iyi nitelikli et hazırlanması şeklindedir (70). Hormonlar süt sığırlarında süt üretiminin artması için de kullanılmaktadırlar. Böylece hormonlar et ve süt endüstrisinin kârlılığını arttırabilmektedir. ABD’de implantların kullanımı sayesinde yıllık 370 milyon kg üretim artışı ve 2.913,977 ton yem tasarrufu sağlandığı belirtilmektedir. Basit olarak bir implant 1-2 ABD Dolarına mal olurken bunun yetiştiriciye dönüşü harcanan her dolar için 10-15 ABD Doları olmaktadır (18).

Bu hormon ve anabolizanlar hayvanlarda büyümeyi hızlandırmakta ve et/yağ oranını yükseltmektedir (19). Dünyada ilk olarak hayvanlarda hormon uygulamaları ABD’de

1956 yılında östradiol benzoat/progesteron implantasyonu ile başlamıştır. Ancak bu durum, steroid hormonların uygulandığı hayvanlardan elde edilen gıdaları tüketen insanlarda oluşabilecek sağlık riskleri nedeniyle dünya genelinde kabul görmemiş olup, farklı uygulamalar bulunmaktadır (13). Günümüzde steroid hormonlardan progesteron, testosteron, östradiol-17 β , zeranol, trenbolon asetat ve melengestrol asetat (MGA) ABD, Avustralya ve Kanada'da sığırlarda gelişmeyi arttırıcı olarak uygulanmasına karşın, 1988 yılından itibaren AB'de gelişmeyi arttırıcı amaçlı hormon implantasyonu, hormon uygulanmış hayvan ve etlerin 3. ülkelerden AB ülkelerine girişi yasaklanmıştır (13). AB mevzuatı östradiol-17 β , testosteron ve progesteronun hayvanlara ancak tedavi amaçlı uygulanabilmesine izin vermiştir (13, 20).

Türkiye'de hormon ve hormon benzeri maddelerin hayvanlarda tedavi amacı dışında kullanılması 1992 yılından itibaren yasaklanmıştır. Bugün ülkemizdeki mevcut uygulama 2003 yılında çıkartılan "Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlanan Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ" (2003/18) ile düzenlenmiştir. Bu tebliğe göre stilbenler, antitroidal maddeler, anabolizan amaçlı kullanılan steroidler, zeranol dâhil beta rezorsilik asit laktonlar ve beta agonisti maddelerin anabolizan amaçlı kullanılmaları yasaktır (17).

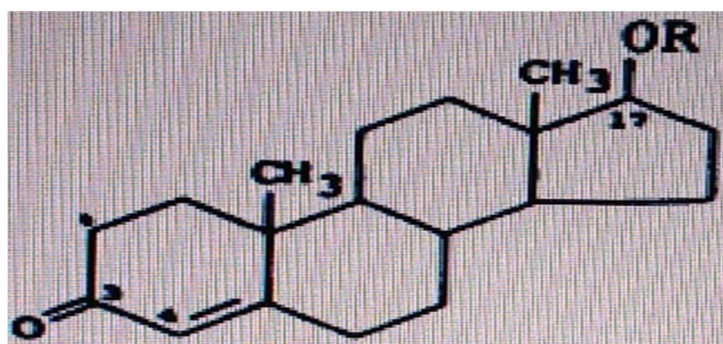
Gıda hayvanlarında büyütme faktörü olarak anabolizan maddelerin kullanımına ilişkin olarak ülkeler arasındaki farklılıklar genel olarak ticari ve halk sağlığı kaygılarından kaynaklanmaktadır (19). Bu noktada, anabolizanların kullanımının kontrolündeki eksiklikler sonucunda tüketicilerin sağlığında oluşabilecek olumsuzluklar halk sağlığı kurumlarının ve resmi otoritenin göz ardı edebileceği bir konu değildir. Bu nedenle denetimlerin etkin bir şekilde yapılması ve alınan örneklerden hormon kalıntılarının güvenilir ve hızlı bir şekilde tespit edilmesi halk sağlığının korunması için oldukça önemlidir (19).

Gıda eldesi için yetiştirilen hayvanlarda belirtilen amaçlarla kullanılan anabolizanların başında testosteron, östradiol-17 β , dietilstilbestrol (DES), zeranol, trenbolon asetat, klenbuterol ve MGA gelmektedir. Bu hormonlardan östradiol ve progesteron doğal dişilik, testosteron doğal erkeklik, zeranol, trenbolon asetat ve MGA ise sentetik büyüme hormonlarıdır (19). Sentetik hormonlar doğal steroid hormonlar kadar hızla metabolize edilemezler. Bu nedenle detaylı toksikolojik ve kalıntı analizlerinin

yapılması çok önemlidir. Bir sentetik östrojen olan DES'in karsinojenik özelliği nedeniyle kullanımı tüm dünyada yasaklanmıştır. ABD'de kullanımına izin verilen hormonlardan MGA yalnızca yeme katılarak, diğer izin verilen hormon preparatları kulak derisi altına implant şeklinde uygulanmaktadır. Anabolik ajan olarak genellikle östradiol-17 β , testosteron ve progesteron kombinasyon halinde, trenbolon asetat ve zeranol yalnız olarak kullanılmaktadır (19).

2.1. TESTOSTERON

Cinsiyet hormonları erkekte testosteron, kadında östrojen ve progesterondur. Cinsiyet hormonu erkeklerde testislerden kadında ise yumurtalıklardan salgılanır. Cinsiyet hormonlarının salgılanması hipofiz bezi ve hipotalamus bölgesi tarafından kontrol edilir. Cinsiyet hormonlarının harekete geçirilmesi için doğumdan itibaren uzun yıllar beklenir (21). Testosteron, vücutta protein sentezini artırır, protein ve aminoasitlerin yıkılmasını inhibe eder, azotlu maddeler yanında Ca, Na, Cl ve fosfat retensiyonuna da neden olur. Bu etkileri ile hayvanlarda canlı ağırlık artışını %25'e varan oranda artırabilirler. Canlı ağırlıktaki bu artış daha az yağ içeren daha iyi nitelikli et üretimini sağlamaktadır. Özellikle androjenik-anabolik etkili maddeler, eritropoetin sentezinin artmasına ve kemik iliğindeki kan yapıcı merkezin uyarılmasına yol açarak kan yapımını da artırır (22,23).



Şekil 2.1. Testosteron Yapısal Formülü (24)

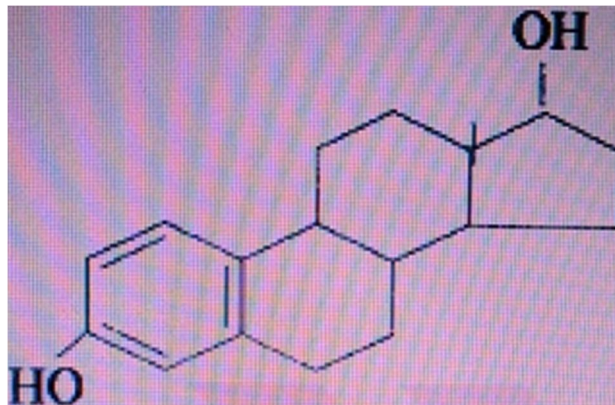
2.2. ÖSTRADİOL - 17 β

Östradiol, insanlarda doğal olarak bulunan ve seviyeleri yaş, cinsiyet, beslenme, egzersiz, kadınlarda gebelik ve menstrüal sıklusa bağlı olarak değişen hormondur. Bu hormon normal değerlerde vücutta belli fizyolojik fonksiyonların sağlanmasında önemli

işlev görür. Ancak yüksek miktarlarda alınması durumunda bazı olumsuz etkiler ortaya çıkar. (13)

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'na (IARC, International Agency for Research on Cancer) göre östradiolün insanlarda karsinojenik etkisine ilişkin yeterli kanıtlar bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda östradiol 17 β 'nin genotoksik özellikte olduğu bildirilmiştir. Östradiol, hormonal duyarlı dokularda hücre bölünmesini uyararak muhtemelen DNA'nın duplikasyonu sırasında hataların oluşmasına ve mutant hücrelerin çoğalmasına neden olmaktadır (19)

Yasal bekleme süresi gıda güvenliğinin sağlanması ve halk sağlığının korunması amacıyla anabolik ajanın uygulamasıyla hayvanın kesimi arasında geçen süredir. Çoğu hormonlar için kesim öncesi bekleme süresi 2-3 ay arasında değişir. Örneğin bu süre zeranol için 65 gün, östradiol 17 β ve progesteron kombinasyonu için 90 gündür (13).

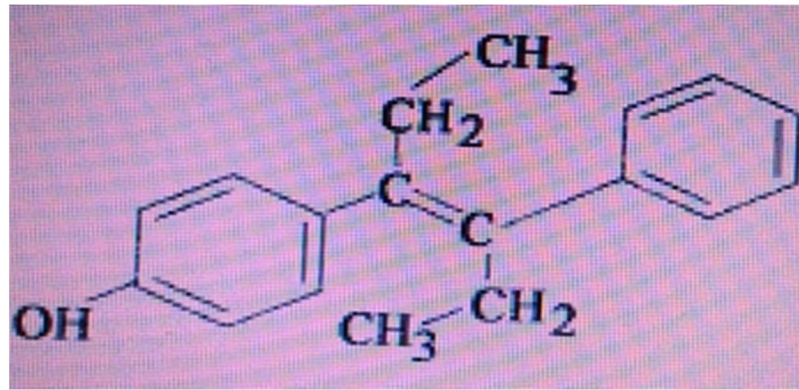


Şekil 2.2. 17 β - Östradiol Yapısal Formülü (25)

2.3. DİETİLSTİLBESTROL

Dietilstilbestrol (DES), etçi piliçlerde ABD'de ticari olarak kullanılan ve ilk östrojenik olarak üretilen sentetik hormonlardan biridir. DES ayrıca insan hekimliğinde de bir ilaç olarak kullanılmıştır. DES'in kansere neden olduğu anlaşıldıktan sonra 1959'da piliçlerde ve 1979'da sığırlarda kullanımı yasaklanmıştır (21). Ksenobiyotik östrojenik bir bileşik olan dietilstilbestrol (DES), karsinojenik olarak bilinen sentetik bir anabolizandır (26). DES, stilben (zenobiyotik) sınıfından olup, stilbenler anabolizan etkileri nedeniyle geçmişte basta ABD olmak üzere, birçok ülkede çok yaygın olarak kullanılmıştır (27, 28). DES'in en önemli etkisi, hayvanlarda toplam sindirilebilir yem

miktarını arttırmak suretiyle, büyüme hızlandırmasıdır (29). Yapılan bir çalışmada, her gün oral olarak 30 mg DES uygulanan sığırlarda, 56 gün sonra kontrol grubuna göre yağ miktarında azalma olduğu, protein miktarında ise oldukça yüksek artışlar meydana geldiği rapor edilmiştir (30). Kesimden 3 ay kadar önce 50- 60 mg dozunda, implant tarzında uygulanan DES'in genç tosun ve öküzlerde % 25'e varan canlı ağırlık artışı sağladığı bildirilmiştir (31). Halk sağlığı açısından tehlikesinden dolayı, implantların kulak tabanından başka bir yere konulmaması ve kesim anında kulağın ayrılarak imha edilmesi gerektiği bildirilmektedir (32).



Şekil 2.3. DES Yapısal Formülü (33)

2.4. ZERANOL

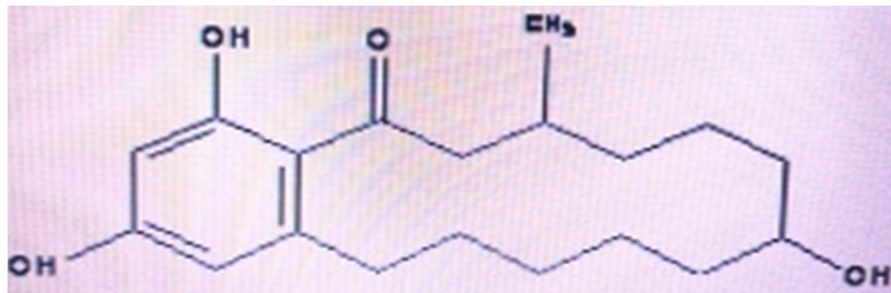
Zeranol (a-zearalanol), bir mikotoksin olan zearalenon'dan meydana gelen, steroid olmayan östrojenik etkili bir rezorsilik asid laktonudur (5, 34, 35). Zeranol, büyüme hızlandırmak, beslenme etkinliğini arttırmak, daha kaliteli et ve daha az yağ artışı sağlamak amacıyla yetiştiricilikte kullanılmaktadır (5, 32, 37). Zeranol, vücutta azotun tutulmasını ve protein ile amino asitlerin parçalanmasının azalmasını sağlayarak anabolizan etkisini göstermektedir (38). Ayrıca, sığırlarda stres azaltıcı olarak da uygulanmaktadır (36). Zeranol, koyunlarda 12 mg, danalarda 12, 24, 36 ve 48 mg dozlarında, sığırlarda ise genellikle 36 mg dozda kulak derisi altına uygulanarak kullanılmaktadır (5, 12, 35, 38). Uygulamayı takip eden 5-15. günlerde zeranol konsantrasyonu dokularda pik değerine ulaşmaktadır (12). Sığırlarda, implantasyondan 65 gün sonra % 96,3'ü emilerek vücuttan atılmakta (38) ve tüm dokular ile organlardaki düzeyi 2 ppb'nin altına inmektedir (35).

Zeranol genç boğalarda testosteron sekresyonunu değiştirmektedir. Zeranolün tetosteron sekresyonu ve testis sekresyonları üzerindeki inhibitör etkisi hayvanlar bir yaşına girmeden etkili olmaktadır. Zeranolun implante edildiği yaş, dozundan daha önemlidir. Bir yaşından büyük boğalarda yüksek dozda kullanıldığında bile testisler üzerine herhangi bir etkisi görülmemektedir (39).

Zeranol kalıntılarının, tüketici yönünden herhangi sakınca taşımayacak düzeye inmesi ve zeranol kalıntısı içeren gıdaların insan tüketimine sunulmaması için gereken süre, uygulama yolu, uygulama miktarı, vücuttan atılma hızı ve formülasyonuna göre değişmektedir. En düşük konsantrasyonlar kas ve yağ dokusunda, daha yüksek konsantrasyonlar karaciğer ve böbrekte, en yüksek konsantrasyonlar ise safra, idrar ve dışkıda bulunduğu ortaya konmuştur (40, 41). Yapılan bir çalışmada, 70 kg ağırlığındaki bir kişinin, zeranol uygulanmış hayvanın yenilebilir dokularında bulunan toplam 1,75 µg/kg zeranolü tolere edebileceği açıklanmıştır (42).

Erkeklerde zeranol kalıntılı gıdaların uzun süre kullanılmasının gonadalarda gelişmemeye, spermatogenezin inhibisyonuna ve iktidarsızlığa sebep olabileceği, kadınlarda ise erkekleşmeye neden olabilen androjenik etkinlik, menstrual siklusa bozukluklar oluşturabileceği ve ovaryum kistlerinin oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (43, 44).

FAO'nun 1987 yılında aldığı karara göre hayvanların yenilebilir dokularında kabul edilebilir zeranol miktarı 2 ppb, karaciğerde 10 ppb olarak açıklanmıştır. Kalıntıların bu düzeye inmesi için zeranol implantasyonunu takiben kuzularda 40 gün, sığırlarda 65 gün bekleme süresine gerek olduğu belirlenmiştir (45).

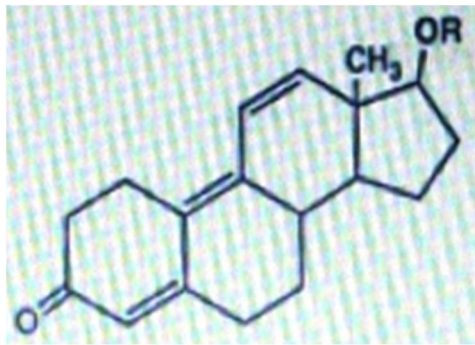


Şekil 2.4. Zeranol Yapısal Formülü (46)

2.5. TRENOLON ASETAT

Trenolon asetat (TBA), 19-nortestosteron türevi olan, androjenik yapıda, sentetik, anabolik bir bileşiktir (7, 10, 47). TBA, hem protein sentezini hem de degradasyonunu azaltmaktadır. Degradasyon, sentez oranından daha az olduğunda, net kas protein depolanması artmaktadır (10). TBA, ağız yoluyla alındığında karaciğerde %85 oranında metabolize edildiği için sığırlarda yalnız ya da östradiol ile birlikte 40-300 mg arasında kulaktan uygulanmaktadır (8, 48). Yapılan bir çalışmada, danalara 140 mg TBA uygulamasını takiben 70 gün sonra kaslarda 0,09, karaciğerde 0,38, böbrekte 0,28 ve yağ dokuda 0,48 ppb düzeyinde kalıntı saptanmıştır (35).

Yapılan çalışmalarda, trenolonun uygun kullanımı sonrasında genotoksik aktivite bulunmamıştır. Fakat artan konsantrasyonlardaki trenolonun syrian hamster embriyo hücreleri'nin kullanıldığı bir testte, hücre transformasyonuna yol açtığı bildirilmiştir (49).

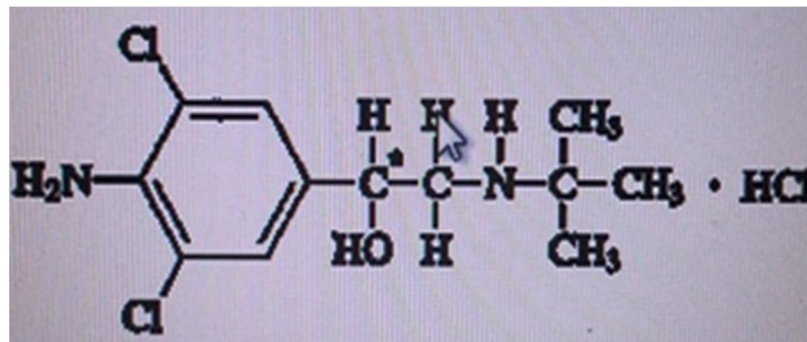


Şekil 2.5. Trenolon Yapısal Formülü (50)

2.6. KLENBUTEROL

Klenbuterol, β -agonistler sınıfından olan farmakolojik bir ilaçtır (6, 51, 52). Tedavi maksatlı kullanımı dışında β -agonistler, kesim hayvanlarında yüzde ağırlık ve performans artışını, büyümenin hızlanmasını, yağ depolanmasının ise azalmasını sağlamaktadırlar (53-57). β -agonistlerin kullanımı ile gıda alımında artış olmaksızın hayvanlarda karkas kompozisyonun değiştiği, karkasta yağsız et oranı % 10 dolayında arttığı, yağ oranının ise % 5-7 oranında azaldığı bildirilmiştir (35, 58). Mevcut etkilerini, adipöz dokudan kas dokuya besinlerin geçişini arttırmak suretiyle sağlamaktadır (6).

β -agonistler içinde klenbuterol en sık kullanılan anabolizandır (53, 59, 60). β -agonistler, hayvanın cinsine göre oral olarak 0,25-4 mg/kg gıda ile uygulandığında yüksek etkinlik göstermektedir (6). Klenbuterol, tavsiye edilen teröpatik dozun 5-10 katı kullanıldığında (>1 g/kg vücut ağırlığı/gün) anabolizan etkisini göstermektedir (59). Klenbuterol rezidülerinin karaciğerde birkaç hafta, gözde retinanın epitelyum pigmentlerinde birkaç ay boyunca tespit edilebildiği bildirilmiştir (61). İnsanlarda, klenbuterol uygulanmış sığırlardan üretilen et ve et ürünlerinin tüketiminden sonra çeşitli zehirlenme vakaları bildirilmiştir (28, 52, 62, 63).



Şekil 2.6. Klenbuterol Yapısal Formülü (64)

2.7. METİLTESTOSTERON

Metiltestosteron, doğal erkeklik hormonu olan testosteron ile benzer anabolik etkiler göstermektedir. Metiltestosteron sentetik steroid hormondur ve testosteron gibi, sığır yetiştiriciliğinde kilo alma amaçlı olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Metiltestosteron ABD ve Kanada'da düvelerde büyüme destekleyici yem katkısı olarak kullanılmaktadır. Yem ile alınabilecek günlük miktar hayvan başına 0,5 mg'dır. Metiltestosteron çok etkili bir sentetik gestagendir. Oral biyoaktivitesi, klormadinon asetat (CMA) veya medroksiprogesteron asetat (MPA)'a göre 10 ila 100 kat daha yüksektir. Eğer parenteral olarak verilirse hormonal aktivitesi, progesterondan 125 kat daha yüksektir. Güçlü lipofilik özelliklerinin bulunması nedeni ile kan plazmasına göre yağ dokuya 200 kat daha fazla yerleşmektedir (21).

2.8. HAYVANLARDA HORMON KULLANIMININ VERİM ÜZERİNE ETKİSİ

Üreticiler daha kısa sürede daha yüksek kilolara sahip hayvan üretmek amacıyla büyüme arttırıcı hormonlar kullanmaktadırlar. Hormon kullanımı sayesinde, 36 kg'lık bir buzağı, yaklaşık 14 ay gibi kısa bir sürede 520 kg'lık kesim ağırlığına ulaşabilmektedir. Ayrıca hayvan vücudunda yağ oranı az, et oranı ise daha fazla olmaktadır. Bunlara ilaveten daha yüksek kalite özelliklerine sahip et üretebilmenin mümkün olduğu ileri sürülmektedir. Anabolik hormonlar, yem ile karıştırmak veya kulaktan enjekte etmek yoluyla hayvan bünyesine verilmektedir (65)

Anabolik maddeler vücutta azotun tutulmasına, proteinler ve amino asitlerin parçalanmasının azalmasına yol açarak kas kitlesini artırırlar, vücutta, azot yanında, sodyum, potasyum, kükürt, fosfor ve klorun tutulmasına da sebep olurlar. Androjenik-anabolik maddeler kemiklerde özellikle uzunlamasına büyümeyi hızlandırır, böylece, genç-büyüme dönemindeki hayvanlarda boy uzamasına yol açarlar (21) Bu etkileri ile anabolik maddeler hayvanlarda canlı ağırlık kazancını %10-25, yemden yararlanmayı (birim canlı ağırlık artışı için daha az yem yemek) %5-10 arasında artırırlar, canlı ağırlıktaki artış daha az yağ içeren ama daha iyi nitelikli et hazırlanması şeklindedir (70)

Anabolik maddeler metabolizmayı kas kitlesi ve kemik şekillenmesini arttırıcı ama yağ depolarının harcanması yönünde değiştirirler, çünkü, kas ve kemik dokunun sentezi için gerekli enerji miktarı aynı ağırlıktaki yağın sentezi için gerekenden daha az ve karkastaki su oranı da vücut yağından daha yüksektir. Bunun sonucu, hormon uygulanan hayvanlarda hormon verilmeyenlere göre belli miktarda verilen yem daha fazla canlı ağırlık artışı sağlar (21).

Hormonlar, bu etkilerini protein sentezini arttırarak gerçekleştirmektedirler. Bunların bazılarının zararlı etkileri kanıtlandığı için kullanımlarına izin verilmemektedir (14)

Gıdaya ek olarak kullanılan tüm geliştirici hormonlar yatırım amaçlı kullanılan ineklerde daha fazla et üretilmesine olanak sağlamaktadır. Kanada Hayvan Sağlığı Enstitüsü bu hormonların etteki içerik miktarını ve hayvanların son ağırlığa gelmesi için verilecek olan besin miktarının azalmasına yardımcı olduğunu belirtmiştir. Ayrıca bu

yayınlara göre hormonlar et kalitesini, kullanılabilir et miktarını ve hayvandaki kalıtsal olan yağların değişimine sebebiyet vermektedir. Ekonomik yararlar göz ardı edildiğinde üretim maliyetleri artmaktadır. Örneğin Almanya’da bu hormonlar kullanılmadan üretilen yarım pound (0,227 kg) etin maliyeti 4,6 Dolar aynı miktardaki etin Kanada da üretim maliyeti 3,16 Dolar olduğu bildirilmiştir (65).

2.9. HAYVANSAL GIDALARDA HORMON KALINTISI OLUŞUMUNA NEDEN OLAN FAKTÖRLER

Hormonların hayvanlara uygulama şekli de kalıntı açısından önemlidir. Hormonlar yemlere karıştırılarak oral yolla, sıkıştırılmış tabletler halinde kulak derisi altına implantasyon şeklinde veya kas içine enjeksiyon şeklinde uygulanabilir. Yapılan çalışmalar, enjeksiyon veya implantasyon yerinde kalan materyalin, vücuda sürekli aktif bileşikler salgıladığı ve hormonal kalıntılar için bir kaynak olarak düşünülmesi gerektiğini göstermiştir. (13)

Kulak arkasına implantasyon MGA hariç Amerika’da çiftlik hayvanlarında hormon uygulanmasında önerilen tek yöntemdir. Hormon kalıntısı yönünden incelenen örneğin türü de önemlidir. Genellikle karaciğer, böbrek ve yağ dokuda daha çok kalıntıya rastlanırken enjeksiyon yeri dışındaki kas dokuda çok düşük miktarlarda kalıntı tespit edilir. Yine hormonların metabolize olmaları ve atılım yollarına göre, idrar ve dışkıda yüksek miktarlarda kalıntı oluşturmaları nedeniyle, canlı hayvanlarda hormon kullanılıp kullanılmadığının saptanmasında, biyolojik örneklerin RIA gibi duyarlılığı yüksek test yöntemleri ile analizi sonuçlarından yararlanılır (19)

Gıda değeri olan doku ve organlarda, istenmeyen veya zehirleyici etkileri bakımından önem taşıyan hormon veya kimyasal madde kalıntılarının, tüketiciler için güvenli bir düzey veya yoğunluğa inene kadar hormon uygulanan hayvanların kesilmemesi gerekmektedir. Belirtilen süre sonunda hayvanın yenilebilir doku ya da organlarındaki hormon veya kimyasal madde veya metabolit kalıntılarının tüketici sağlığı bakımından tehlike oluşturmayacak miktara veya düzeye indiği kabul edilir.(19)

Kesim öncesi bekletme süresi hayvanda kullanılması onanmış ilacın önerilen doz, hedef hayvan türü, uygulama yolu, doz aralığında kullanılması durumunda geçerlidir (66).

Kesim öncesi bekletme süresi sağlıklı-hedef hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarla belirlenir, bu süre hormon çeşidi, üretici firma, formülasyon (suda çözünabilir veya dağılılabılır toz, uzun-kısa etkili enjeksiyonluk çözelti gibi), ilacın vücuttaki hareketi, uygulama yolu ve hayvanın türü gibi çeşitli faktörlere göre genellikle birkaç gün ile birkaç hafta arasında değişir. Bu nedenle bir etken madde için birden çok kesim öncesi bekletme süresi bulunabilir (13, 66).

Çoğu hormonlar için kesim öncesi bekleme süresi 2-3 ay arasında değişir. Örneğin bu süre zeranol için 65 gün, östradiol 17 β ve progesteron kombinasyonu için 90 gündür. Hayvansal gıdalarda hormon kalıntı miktarı üzerine etkili bir başka faktör de implantasyon yerine olan uzaklıktır.(13).

İmplantasyon ve enjeksiyon yerinden uzaklaştıkça kalıntı miktarının da azaldığı görülmektedir. Vücuttan atılım periyodu geçmiş olsa dahi, enjeksiyon yerlerinde yüksek miktarda kalıntıya rastlanır. Kullanılan hormonun yapısı ve dozu kalıntı üzerine etkilidir. Bu çerçevede endojen ve eksojen anabolik bileşiklerin kalıntı bırakma özellikleri farklıdır.(19).

Steroidlerin organizmada daha hızlı parçalanmasına karşın, steroid olmayanlar vücutta daha uzun süre kalırlar. Ayrıca ester şeklinde verilen sentetik hormonların vücuttan atılma hızının serbest şekillere göre % 40-50 oranında daha fazla gecikebileceği saptanmıştır. Stilbenler olarak bilinen grubun yüksek oral aktiviteleri, gıdada kalıcı olmaları ve biyolojik degradasyonlarının düşük olması nedeniyle çevresel problemler de oluşturmaktadır. Anabolik ajanlara ilişkin doz, formülasyon, kombinasyon ve hayvan türüne göre genellikle 12-300 mg arasında değişir (13, 19).

2.10. HAYVANSAL GIDALARDA HORMON KALINTILARI VE HALK SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kızlarda erken ergenliğe ulaşılmasına neden olduğu, göğüs kanserinin riskini artırdığı, ayrıca uzunluk, ağırlık, diyet, egzersiz ve aile geçmişinin ergenlik yaşını etkileyeceği bulunmuştur. Bazı raporlara göre gıdalardaki steroid hormonların kızlardaki erken ergenliğe yol açtığı iddia edilmiştir (15).

Avrupa Birliği ülkelerinde yapılmış olan bir çalışmada, marketlerden alınan sığır eti örneklerinin ABD'den alınan örneklerden 10 kat daha fazla testosteron içerdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, kırmızı etlerde östradiol hormonu seviyesi yumurta ve sütten daha düşük olarak tespit edilmiştir (67).

Östrojenle tedavi edilen kadınlarda safra taşları görölmekte ve bu taşların oluşum oranı aynı yaştaki erkeklere oranla daha fazladır. Doğal ve sentetik östrojenlerin bu oluşumu hızlandırdığı bildirilmiştir (68). Progesteron toplam vücut yağını, pankreastan insülin ve glukagon salınmasını hızlandırarak artırır. Ayrıca karaciğerin büyümesine neden olduğu bildirilmiştir (69).

Gelişme ağındaki kız çocuklarında erken ergenliğin büyüme hormonu bulunan etleri yemekle ilişkili olabileceğine yönelik geniş epidemiyolojik çalışmalar bulunmamaktadır. Porto Riko'da sekiz yaş veya daha küçük kız çocuklarının erken ergenliğe ulaşmasının artması ile ilgili endişelerin başladığı 1980'lerin başında, ABD Hastalık Kontrol Merkezi tavuk ve dana etlerinde steroid hormon kalıntısına yönelik bir araştırma başlatmıştır. Araştırma sonucunda yerel marketlerin birinde satılan tavuk numunesinde normalden fazla östrojen kalıntısına rastlamıştır. Ayrıca erken ergenliğe ulaşan bazı kızların kanlarında da zeranol kalıntısı olduğuna yönelik sonuçlar elde etmiştir (15).

Bununla beraber bu sonuçlar diğer referans laboratuvarlar tarafından doğrulanmamıştır. Hastalık Kontrol Merkezinin daha ileri araştırmalarında 1985 yılında Porto Riko'dan temin edilen 200'e yakın dana ve tavuk eti ile süt örneklerinde DES, zeranol veya östrojen kalıntısı bulunmadığı bildirilmiştir (15).

İtalya'da yapılan diğer bir araştırmada okul kantinlerinde satılan dana ve tavuk etlerindeki steroid hormonların çok küçük kız ve erkek çocuklarının göğüslerinin büyümesine neden olduğu ileri sürölmüşe de alınan örneklerde bu tür hormonların varlığına rastlanmamıştır (41).

Yapılan araştırmalar, hormonların anabolik amaçla kullanılmasını takiben hayvanların belli bir süre (zeranol için 70 gün, trenbolon asetat için 60-65 gün, testosteron, progesteron ve östrojen için 60 gün) geçtikten sonra kesilmeleri ile elde edilen etlerin tüketilmesi sonucu halk sağlığı bakımından hiçbir problem kalmadığını göstermektedir.

Kontrollü bir şekilde östradiol kullanılmış hayvanlardan elde edilen etten 500 g miktarda yenilmesi ile vücuda girecek östrojen miktarı erkeklerde günlük olarak salgılanan hormon miktarının 1/15000 ve dişilerdekinin de birkaç milyonda biri kadar olduğu bildirilmiştir (70).

Kontrollü bir şekilde progesteron uygulanmış hayvanlardan elde edilen 500 g ette bulunan miktarın ise, ergenlik öncesi çocuklarda günlük olarak salgılanan hormon miktarından 500 kez daha az olduğu ifade edilmiştir (70). Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü ile Gıda ve Tarım Örgütü Ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA) bu tür hormonların uygulandığı hayvanlardan elde edilen etin hormonal etkiye yol açmayacağı böylece zehirli de olmayacağı ve halk sağlığı için herhangi bir sakınca doğurmayacağı sonucuna varmıştır (24).

Sığırların hipofizinden elde edilen ve protein yapıdaki hormon olan sığır büyüme hormonu (bGH) veya sığır somatotropininin (bST) uygulandığı hayvanlardan elde edilen sütün kompozisyonunda, aromasında ve işleme aşamalarında olumsuz bir etkiye rastlanmadığı ve bunun güvenle kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca bST insülin gibi protein yapısında olduğu ve ağızdan alındığında etkili olmadığı etkisini gösterebilmesi için enjeksiyonla verilmesi gerektiği belirtilmiştir. ABD’de 22.000’den fazla ineğe bST uygulanmakta olduğu ve yapılan çalışmalarda insanlarda bir yan etkiyle karşılaşılmadığı ifade edilmiştir (71).

Başka bir görüşe göre, besinlerle alınan hormonlar karaciğerde metabolize olmadıklarından, etteki rezidülerinin tüketiciler için risk oluşturduğu bildirilmiştir. Özellikle gelişme çağındaki çocuklar fizyolojik olarak yetişkinlere oranla düşük seviyede hormona sahip olduklarından bu grup için risk daha büyüktür (66).

Besinlerle alınan hormonların, kanserojenik, genotoksik, sinirsel komplikasyonlar ve damar sertliği gibi zararlı etkileri de bulunmaktadır. Sentetik hormonlardan DES, güçlü östrojenik etkiye sahiptir. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda prostat kanseriyle testosteron hormonu arasında ilişkinin olduğu belirtilmiştir. Trenbolen ve zeranol insanlarda doğal olarak bulunmayan hormonlar olmasına bağlı olarak toksik etkilerinin olabileceği bildirilmektedir. Çevresel kaynaklardan muhtemel bir zeranol alınımına

bağlı olarak İtalya'da ve Porto Riko'da gelişme çağındaki birer okul çocuğunda sırasıyla göğüslerinde büyüme ve erken cinsel gelişim vakası bildirilmiştir (66).

Çoğu zaman zeranolun etkisi hiper östrojenizmin etkilerinden ayrılamayabilir. Hiperöstrejenizm olarak adlandırılan sendromun sonuçları anormal reproduktif davranışlar olarak ortaya çıkmaktadır. Uzun süren östrus, anöstrus, infertilite, artan meme büyüklüğü yada meme gelişmesine neden olmaktadır. Bunun yanında zeranolun alınımının ölü doğumlar, mastitis, vulvovaginitis, rektal yada vaginal prolapslar gibi sekonder komplikasyonlara da sebep olabileceği bildirilmiştir (12, 19).

Etlerdeki androjenik hormon kalıntılarının (testosteron, trenbolan asetat gibi) kadınlarda virtilizasyona (erkekleşme), menstrual siklus bozukluklarına, östrojenik hormon kalıntılarının erkeklerde feminizasyon (dişileşme), iktidarsızlık ve infertiliteye neden olabildiği bildirilmiştir (66).

Kesimden önce veya sonra hayvanların çeşitli doku ve vücut sıvılarından yapılan analizler sonucu bulunan kalıntı varlığı ve miktarı uygulanan anabolik ajanın yapısı, dozu, uygulama şekli ve yeri ile yasal bekleme süresi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Yasal bekleme süresi gıda güvenliğinin sağlanması ve halk sağlığının korunması amacıyla anabolik ajanın uygulamasıyla hayvanın kesimi arasında geçen süredir (13).

Çoğu hormonlar için kesim öncesi bekleme süresi 2-3 ay arasında değişir. Örneğin bu süre zeranol için 65 gün, östradiol 17 β ve progesteron kombinasyonu için 90 gündür (19).

Hayvansal besinlerde hormon kalıntı miktarı üzerine etkili bir başka faktör de implantasyon yerine olan uzaklıktır. İmplantasyon ve enjeksiyon yerinden uzaklaştıkça kalıntı miktarının da azaldığı görülmektedir. Vücuttan atılım periyodu geçmiş olsa dahi, enjeksiyon yerinde yüksek miktarda kalıntıya rastlanır. Kullanılan hormonun yapısı ve dozu kalıntı üzerine etkilidir. Bu çerçevede endojen ve eksojen anabolik bileşiklerin kalıntı bırakma özellikleri farklıdır. Steroidlerin organizmada daha hızlı parçalanmasına karşın, steroid olmayanlar vücutta daha uzun süre kalırlar. Hormon kalıntısı yönünden incelenen örneğin türü de önemlidir. Karaciğer, böbrek ve yağ

dokuda daha çok kalıntıya rastlanırken enjeksiyon yeri dışında kalan kas dokusunda düşük miktarda kalıntı tespit edilmektedir (13, 19)

FAO raporlarına göre hormon uygulaması yapılmış, kastre edilmiş sığır etlerinde östrojen seviyesinin kesimden 15 gün sonra 9,7 pg/g olduğu kesimden 61 gün sonra ise 7,3 pg/g olduğu belirtilmiştir. Düvelerde ise kesimden 30 gün sonra östrojen seviyesinin 33 pg/g, 61. günde ise 11 pg/g olduğu bildirilmiştir (13).

Polonya'da 2000-2001 yıllarında yapılan bir çalışmada, 5 inekte serum testosteron düzeyinin izin verilen maksimum düzeyin (EC – 0,5 mg/l) üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen 2 boğa ve 4 ineğin kanında yüksek düzeyde (> 0,04 mg/l) östradiol-17 β saptanmıştır. 1990-1998 yılları arasında yapılan bir çalışmada incelenen 4857 sığır idrarından sadece birinde zeranola, analiz edilen 1075 kanatlı etinden dördünde stilbene, birinde trenbolona rastlanmıştır (80). 1992-1998 yılları arasında yapılan bir başka çalışmada, incelenen 2051 sığırdan 20 inekte serum testosteron düzeyinin maksimum seviyenin üzerinde olduğu ve 1'inde östradiol-17 β seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (72).

Hormonlu et tüketimiyle alınabilecek hormon miktarı ile insanlarda günlük olarak üretilen miktar kıyaslanmıştır. Buna göre, bir günde erkekte ortalama olarak 48 μ g, hamile bir kadında da 37,8 mg östradiol-17 β üretilmekte ve bu da kontrollü koşullar altında hormon uygulanmış hayvan etinin 500 g'lık porsiyonundaki miktarın yaklaşık 15.000 ila birkaç milyon katına karşılık gelmektedir (13, 19).

Kasaplık hayvan yetiştiriciliğinde çeşitli amaçlar için kullanılan anabolizan maddelerin kalıntı bırakma özelliği sağlık açısından birçok sakıncalar oluşturmaktadır (26). Besicilikte hormon kullanımı verimliliğe katkıda bulunmasına rağmen Avrupa Ülkeleri ve ABD arasında bir görüş ayrılığı mevcuttur. Avrupa Birliği, anabolik hormonların kasaplık hayvan yetiştiriciliğinde büyüme hızlandırıcı olarak kullanımını yasaklamıştır. FDA ise doğal kökenli bazı hormonların (östradiol ve testesteron) hayvan yetiştiriciliğinde kullanımına izin vermiştir (31).

Hormon uygulanmış sığır etindeki kalıntı miktarıyla bazı gıdalardaki östrojen miktarları da karşılaştırılmış ve örneğin 1 g soya yağının, 1 g etten bir milyon kat daha fazla

östrojen içerdiği saptanmıştır. Gıdaların işleme süreçlerinde, içerdikleri anabolik ajanların inaktif olmadıkları bildirilmektedir (13, 19)

Hormon kalıntısı çalışmalarında karşılaşılan temel problemler arasında, hayvanın doğal olarak kendi ürettiği hormonları ve seviyelerini ayırt etmek ve her hayvan cinsinin farklı hormon seviyesine sahip olması gibi hususlar başta gelmektedir. Hormonun insana ulaşma yolu hep etteki kalıntı miktarı olarak düşünülmekte ve diğer yollar unutulmaktadır. Oysaki gözden kaçan başka bir bulaşma yolu da mevcuttur. Gözden kaçan bu yol, önemli miktarda hormonun dışkı yoluyla hayvandan atılmasıdır (20).

Ülkemizde, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlı Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ'ine göre, stilbenler, stilben türevleri, antitiroidal etkili maddeler, anabolizan amaçla kullanıma uygun steroidler, zeranol de dahil olmak üzere rezorsilik asit laktonlar ile β agonist maddelerin anabolik etki amacıyla uygulanması yasaklanmıştır (17).

Hormon kalıntısı içeren hayvan dışkısının çevreye, bitkilere, toprağa ve suya bulaşması muhtemeldir. Hormonlar, buralardan direk yada dolaylı olarak gıdalara bulaşarak insan tüketimine tekrar ulaşabilmektedir (20).

Büyüme hızlandırıcı maddelerin sahada kullanımına genel olarak üç yönden bakmak gerekir: üretici, hayvan ve tüketici. İşletme yönünden ekonomik, hayvan yönünden onun biyolojik fonksiyonlarını bozmayan, tüketici yönünden insan sağlığına olumsuz etkide bulunmayan bir maddenin büyüme hızlandırıcı olarak kullanılması idealdir. Bu üç şarttan birisini karşılamayan maddenin kullanılması ise uygun değildir (32).

Hormon kalıntılarının tüketici yönünden herhangi bir sakınca taşımayacak düzeye inmesi ve hormon kalıntısı içeren gıdaların insan tüketimine sunulmaması için gerekli olan süre, uygulama yolu, uygulama miktarı, hayvan vücudundan atılma hızı ve hormon formülasyonuna göre değişmektedir. En düşük konsantrasyonlar kas ve yağ dokusunda, daha yüksek konsantrasyonlar karaciğer ve böbrekte, en yüksek konsantrasyonlar ise safrada bulunmaktadır (27).

Östradiol - 17β kanserojen etkiye sahiptir. Özellikle tümör oluşumu ve ilerlemesine sebep olmaktadır. Ayrıca sayısal olarak risk tahmini henüz mümkün değildir. Mevcut

veriler progesteron, testesteron, zeranol, trenbolon asetat ve melengesterol asetat için sayısal bir risk yaklaşımı yapmayı yeterli kılmamaktadır. Potansiyel olarak bağışıklıkta zayıflatma, sinirsel, immunotoksik, genotoksik ve karsinojenik etkiler tüm bu altı hormon için göz önüne alınmıştır. Özellikle ergenlik dönemi altındaki yaşlardaki çocuklar, büyük risk grubunu oluşturmaktadır. Bu risk ile ilgili sayısal veriler yine mevcut değildir (15)

Hormon özellikleri ile hastalıklar arasında ilişki göz önüne alındığında, kabul edilebilir bir seviyeden veya kabul edilebilir günlük alım miktarından bu altı hormon için de söz edilemez. Bu yaklaşımdan, şu anki metotlar ile tespit edilebilecek olan en düşük hormon kalıntı seviyesinin dahi kanserojen etki göstereceği anlaşılmaktadır (15).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için numune olarak analizi yapılan sığır etleri Kocaeli ilindeki , kasap ve marketlerden toplanmıştır. 200 adet numune 2014 yılının Temmuz ayı ile 2015 yılının Ocak ayı arasında 250-400 gr aralığında özellikle yağsız olarak alınmıştır. Toplanan numuneler analizleri yapılmaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Numunelerin tamamında DES (R-Biopharm, R 2701), östradiol 17 β (R-Biopharm, R 2301), trenbolon (R-Biopharm, R 2601) ve zeranol (R-Biopharm, R 3301) ridascreen test kitlerinde belirtilen ekstraksiyon işlemleri ayrı ayrı yapılmıştır. İlgili anabolizan madde tayini'nde kalıntı miktarları bildirilen test prosedürlerine göre yapılarak ELISA yöntemi ile (Bio-tek Instruments ELX 800 Okuyucu, Bio-tek Instruments ELX 50 Yıkayıcı) tespit edilmiştir.



Resim 3.1. BioTek™ ELx800™ Absorbance Microplate Readers



Resim 3.2. BioTek™ ELx50™ Microplate Strip Washer

3.1. DES ANALİZ PROSEDÜRÜ

3.1.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon

Alınan numune örneği parçalanıp yağlı kısımları temizlendikten sonra 5 g örnek cam bir kap içine alınarak 10 ml, 67 mM PBS (pH 7.2) ile 5 dk. çalkalanarak iyice homojenize edildi. Homojenize edilen bu örnekten 3 g santrifüj tüpüne alınıp üzerine 8 ml tert.-bütülmeterler ilave edilerek 20 dk. iyice çalkalandı. Oda ısısında (20-25 °C) 10 dk. 3000 g de santrifüj edildi. Eter süpernatantı başka bir tüpe alındı. Ekstraksiyon işlemi tekrar 8 ml tert.-bütülmeterler eklenerek tekrarlandı. Eter fazları birleştirilip eter fazları uçuruldu. Kalıntıya 1 ml % 70'lik metanol ilave edilip, iyice çalkalanarak çözüldürüldü. Metanolik solusyona 3 ml eter ilave edildi ve 15 saniye karıştırılarak homojenize edildi. Kısa süre santrifüj edildikten sonra eter süpernatantı ayrılıp atıldı. Metanolik solusyon uçuruldu, kalıntı 1 ml diklormetan içinde çözüldürüldü ve 3 ml 1 N NaOH ile ekstrakte edildi. Bu ekstrakt 300 µl 6 M fosforik asit ile nötralize edildi ve RIDA C18 kolondan geçirildi. Daha sonra RIDA C 18 kolondan % 100'lük metanolden 3 ml ve 2 ml metanol/20 mM tris-HCl (20/80 v/v) (pH 8,5) geçirildi. Bu işlemten sonra, daha önce hazırlanan 300 µl 6 M fosforik asit ile nötralize edilen ekstrat (yaklaşık 3,5

ml) kolondan saniyede 1 damla akacak şekilde geçirildi. Kolondan tekrar önce 2 ml metanol/20 mM tris-HCl (20/80 v/v) (pH 8,5) sonra 3 ml % 40'lık metanol geçirildi. Tüm sıvı içerik basınçla kolondan uzaklaştırıldı ve 3 dk. süre ile kolondan hava geçirilerek kurutuldu. Bu işlemi takiben kolonun altına temiz bir tüp yerleştirilip, kolonun üzerinden 1 ml % 80'lik metanol geçirildi. Bu metanolik süzüntü 1:2 (1+1) oranında % 80'lik metanol ile dilüe edildi. Daha sonra bu solüsyon 1:2 (1+1) oranında distile su ile dilüe edildi. Bu sıvının 20 µl si test için kullanıldı.

3.1.2. ELISA Test Prosedürü

Tüm reaktifler oda ısısına getirildi. DES enzim konjugatı ve Anti-DES antikoruna hazırlanarak ilk 6 kuyucuğa sırayla standartlardan 20 µl pipetlendi. 7. kuyucuktan itibaren hazırlanan numunelerden 20 µl eklendi. Tüm kuyucukların üzerine 50 µl dilüe edilmiş anti-DES antikoruna ilave edildi. Hafifçe karıştırılarak bir gece oda ısısında (20-25 °C) inkube edildi. Daha sonra kuyucuklar 3 defa yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ertesi gün teste devam etmeden önce kit reaktifleri yarım saat süre ile oda ısısına (20-25 °C) getirildi. Tüm kuyucukların üzerlerine 50 µl dilüe edilmiş enzim konjugat pipetlendi. Pleyt hafifçe çalkalanıp üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 1 saat oda ısısında (20-25 °C) inkubasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklar 3 defa yıkama solüsyonu ile yıkandı. Kuyucuklar ters çevrilerek kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu. Tüm kuyucukların üzerine 50 µl substrat ve 50 µl kromojen pipetlendi. Daha sonra hafifçe karıştırılıp alüminyum folyo ile kapatılarak 30 dk. oda ısısında (20-25 °C) karanlıkta inkube edildi. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuga 100 mikrolitre durdurucu solüsyonu ilave edildi ve en geç 30 dk. içerisinde 450 nm ELX 800(Biotek) ELISA okuyucusunda okunarak RIDAWIN ile değerlendirildi. Dilüsyon faktörü 4 olarak belirlendi.



Resim 3.3. RIDASCREEN® DES kantitatif analizi için yarışmalı ELISA kiti

3.2. ÖSTRADIÖL - 17 β ANALİZ PROSEDÜRÜ

3.2.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon

Alınan numune örneği parçalanıp yağlı kısımları temizlendikten sonra 10 g örnek cam bir kap içine alınarak 10 ml 67 mM PBS buffer ile 5 dk. çalkalanarak iyice homojenize edildi. Homojenize edilen bu örnekten 2 g santrifüj tüpüne alınıp üzerine 5 ml tert.-bütülmeterler ilave edilip 30-60 dk. çalkalayıcıda çalkalandı. Daha sonra 10-15°C de 10 dk. 3000 g de santrifüj edildi. Süpernatant başka bir santrifüj tüpüne alındı. Ekstraksiyon işlemi tekrar 5 ml tert.-bütülmeterler eklenip tekrarlandı. Eter fazları birleştirildi ve bu birleştirilen eter fazları kuruyuncaya kadar uçuruldu. Bu kalıntıya 1 ml % 80'lik metanol ilave edildi ve iyice çalkalanarak çözüldürüldü. Metanolik solusyona 2 ml 20 mM PBS buffer ilave edildi ve RIDA C 18 kolondan % 100'lük metanolden 3 ml geçirildi. Daha sonra 2 ml 20 mM PBS buffer geçirildi. Bu işlemden sonra numune (=3 ml) kolondan sn de 1 damla akacak şekilde geçirildi. Numuneden sonra 2 ml % 40'lik metanol geçirildi. Tüm içerik kolondan uzaklaştırıldı ve 3 dk. süre ile kolondan basınçlı hava geçirildi. Kolonun altına temiz bir tüp yerleştirildi ve kolonun üzerinden 1 ml % 80'lik metanol geçirildi. Bu metanolik süzöntü uçurulup

kalan kuru kısım 1 ml sample buffer ile tekrar çözündürüldü. Bu sıvının 20 µl si test için kullanıldı.

3.2.2. ELISA Test Prosedürü

Tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Östradiol 17 β enzim konjugatı ve Anti-Östradiol 17 β antikor hazırlandı. İlk 6 kuyucuğa sırayla standartlardan 20 µl pipetlendi. 7. kuyucuktan itibaren hazırlanan numunelerden 20 µl pipetlendi. Tüm kuyucukların üzerlerine 50 µl dilüe edilmiş enzim konjugat eklendi. Tüm kuyucukların üzerine 50 µl dilüe edilmiş anti-17 β-Östradiol antikor ilave edildi. Pleyt hafifçe çalkalanıp üzeri alimünyum folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon süresi sonunda kuyucuklar 3 defa distile su ile yıkandı. Kuyucuklar ters çevrilerek kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu. Tüm kuyucukların üzerine 50 µl substrat ve 50 µl kromojen eklendi. Hafifçe karıştırılıp alüminyum folyo ile kapatılarak 30 dk. oda ısısında karanlıkta inkube edildi. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuga 100 mikrolitre durdurucu solusyonu ilave edilip en geç 60 dk. içerisinde 450 nm ELX 800 (Biotek) ELISA okuyucusunda okunarak RIDAWIN ile değerlendirildi. Dilüsyon faktörü 1 olarak belirlendi.



Resim 3.4. RIDASCREEN® 17β-Östradiol analizi için yarışmalı ELISA kiti.

3.3. ZERANOL ANALİZ PROSEDÜRÜ

3.3.1. Numunelerin Hazırlanması ve Ekstraksiyon

Alınan numune örneği parçalanıp yağlı kısımları temizlendikten sonra 1 g örnek cam bir kap içine alınıp 1 ml 20 mM PBS buffer ile 5 dk. çalkalanarak iyice homojenize edildi. Homojenize edilen bu örneğe 10 ml tert.-bütilmetileter ilave edilip 30-60 dk. çalkalayıcıda çalkalandı. 10-15°C de 10 dk. 3000 g de santrifüj edildi. Üst fazı başka bir vialle alıp azot altında uçuruldu. Kalıntı 1ml kloroform ile çözüldü. 3ml 1M NaOH eklenerek 30 sn vortekslenip 10 dk santrifüj edildi. NaOH fazı içinde 250µl %96'lık asetik asit bulunan başka bir satrifüj tüpüne alındı. Üzerine 5ml tert.-butilmetileter eklenerek 30 sn vortekslendi. Daha sonra 10 dk 3000 g de santrifüj edilip -25°C'de 60 dk. donduruldu. Üst fazı bir santrifüj tüpüne alınıp azot altında uçurulup kalıntı 2ml örnek seyreltme tamponu ile çözüldü.

3.3.2. ELISA Test Prosedürü

Tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş antikor enjekte edildi. Pleyt hafifçe çalkalanarak üzeri alimünyum folyo ile kapatılıp 30 dk. oda ısısında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 250 µl distile su ile 3 kez kuyucuklar yıkandı. Daha sonra ilk 6 kuyucuğa sırayla standartlardan 20 µl pipetlendi. 7. kuyucuktan itibaren hazırlanan numuneler 20 µl pipetlendi. Tüm kuyucukların üzerine 100 µl seyreltilmiş konjugat ilave edildi. Hafifçe çalkalanıp 30 dk. oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar 3 defa yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama tamamlandıktan sonra bütün kuyucuklara 100 mikrolitre kırmızı kromojen eklendi ve 15 dk oda ısısında ışık görmeyen bir yerde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuga 100 mikrolitre durdurucu solüsyonu ilave edilip en geç 60 dk. içerisinde 450 nm ELX 800 ELISA okuyucusunda okunarak RIDAWIN ile değerlendirildi. Dilüsyon faktörü 2 olarak belirlendi.

3.4.2. ELISA Test Prosedürü

Tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Daha sonra ilk 6 kuyucuğa sırayla standartlardan 20 μ l pipetlendi. 7. Kuyucuktan itibaren hazırlanan numuneler 20 μ l pipetlendi. Tüm kuyucukların üzerine 50 μ l seyreltilmiş konjugat ilave edildi. Ardından 50 μ l seyreltilmiş anti trenbolon antikoru eklendi. Kuyucuklar hafifce sallandıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında mikroplyetler boşaltılarak 250 μ l distile su ile 3 kez yıkandı. Bu işlemden sonra her bir kuyucuğa 50 μ l substrat ve 50 μ l kromojen eklendikten sonra 30 dk. oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuga 100 mikrolitre durdurucu solusyon ilave edilerek en geç 60 dk. içerisinde 450 nm ELX 800 ELISA okuyucusunda okunarak RIDAWIN ile değerlendirildi. Dilüsyon faktörü 2 olarak belirlendi.



Resim 3.6. RIDASCREEN® Trenbolon kantitatif analizi için yarışmalı ELISA kiti.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Kocaeli bölgesinde toplanan 200 adet sığır etinden anabolizan madde tespiti ELISA ile yapılmıştır. Analizde izleme metodu teşhis seviyesi, 1 ppb olarak belirlenmiştir. Bir ppb (1000 ppt)'den küçük olan veriler negatif olarak değerlendirilmiştir. Sığır etlerinde DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol varlığının tespitine yönelik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, 200 örneğin tamamında DES 84,06-178,56 ppt, trenbolon 49,87-162,43 ppt, östradiol 17 β 49,87-334,75 ppt, zeranol 100,94-614,06 ppt aralığında tespit edilmiştir. Çalışmada analiz edilen tüm örnekler aranan hormonlar açısından negatif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan Sığır Eti Numunelerinde Anabolizan Madde Varlığı Sonuçları.

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADİOL	ZERANOL
1	178,56	88,08	158,10	504,48
2	150,21	73,78	109,93	379,28
3	161,34	79,59	129,81	415,04
4	163,64	57,88	87,77	547,95
5	167,31	94,54	85,41	480,04
6	137,05	74,21	98,49	450,81
7	100,69	88,52	92,96	356,20
8	97,47	79,23	79,37	472,13
9	100,61	49,87	82,01	478,56
10	101,23	54,63	91,70	550,21
11	91,57	78,56	96,98	461,34

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
12	87,36	50,21	94,72	483,64
13	93,33	61,34	85,66	567,31
14	94,25	83,64	97,86	587,05
15	104,44	67,31	83,77	400,69
16	103,30	87,05	94,97	497,47
17	108,58	100,69	100,38	200,61
18	100,00	97,47	90,06	601,23
19	107,13	100,61	101,64	491,57
20	91,87	101,23	126,25	487,36
21	99,08	91,57	148,08	493,33
22	87,38	87,36	145,13	494,25
23	86,96	93,33	177,29	304,44
24	101,53	94,25	219,27	303,30
25	101,19	104,42	229,79	408,58
26	89,94	103,31	238,05	200,00
27	91,65	108,51	260,77	407,13
28	87,38	100,00	220,94	391,87
29	84,06	102,13	216,52	499,08
30	90,45	91,87	92,92	487,38
31	111,51	99,08	145,13	286,96
32	115,43	87,38	172,57	201,53
33	112,96	86,96	291,74	301,19
34	93,95	101,53	334,51	289,94
35	100,94	101,19	113,26	191,65
36	93,27	89,94	115,81	387,38
37	113,55	91,65	98,88	384,06
38	103,20	87,38	106,35	490,45

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
39	125,33	84,06	111,14	356,51
40	122,74	90,45	98,17	472,43
41	125,69	120,51	117,35	342,96
42	121,59	115,43	112,41	293,95
43	130,16	112,96	119,75	400,94
44	126,84	93,95	124,96	393,27
45	105,89	100,84	115,09	313,55
46	110,42	93,27	108,74	373,20
47	103,84	112,55	103,67	450,33
48	99,26	103,20	95,49	422,74
49	106,58	125,33	74,27	325,69
50	114,05	122,74	86,74	521,59
51	105,53	125,69	86,21	530,16
52	109,37	121,59	107,03	526,84
53	121,71	130,16	96,02	405,89
54	114,06	122,84	107,03	410,42
55	121,71	105,89	96,02	303,84
56	129,72	110,42	282,03	499,26
57	113,46	103,84	334,75	406,58
58	120,64	99,26	96,25	514,05
59	111,63	106,58	100,53	505,53
60	112,43	114,05	99,34	409,37
61	110,09	105,53	86,34	412,17
62	99,76	109,37	104,91	614,06
63	103,67	121,71	114,59	521,71
64	106,76	114,06	281,83	529,72

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
65	105,78	121,71	96,15	413,46
66	105,45	129,72	103,98	520,64
67	98,34	112,46	98,81	511,63
68	102,76	120,64	81,22	512,43
69	101,55	111,63	83,36	510,09
70	109,88	103,67	87,97	405,78
71	108,79	106,76	92,59	405,45
72	170,56	105,78	81,55	498,34
73	151,22	105,45	87,08	502,76
74	152,34	98,34	72,78	501,55
75	173,64	102,76	78,59	500,89
76	160,31	101,55	67,88	412,22
77	170,05	100,89	93,54	310,43
78	106,69	112,22	75,21	409,88
79	96,47	110,43	88,52	208,79
80	100,88	109,88	79,23	470,56
81	104,23	108,79	49,87	503,48
82	96,57	70,56	54,63	377,28
83	88,36	51,22	75,56	425,04
84	94,43	52,34	55,21	546,95
85	94,25	73,64	63,34	480,08
86	105,44	60,31	83,64	450,82
87	101,30	80,05	67,31	386,20
88	106,58	106,69	87,05	472,41
89	101,00	96,47	110,69	478,56
90	106,13	100,88	87,47	552,21

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADİOL	ZERANOL
91	92,87	104,23	100,61	461,34
92	120,52	120,64	122,64	204,37
93	130,60	121,63	124,63	202,71
94	99,08	96,57	101,23	483,64
95	86,38	88,36	92,57	547,31
96	86,96	94,43	88,36	567,05
97	101,54	94,25	93,34	400,89
98	101,20	105,44	94,25	487,47
99	89,78	101,30	114,42	510,61
100	93,65	106,58	103,31	521,23
101	88,38	101,00	107,51	591,57
102	85,06	106,13	108,00	587,36
103	92,45	92,87	102,13	593,33
104	121,51	99,08	93,87	594,25
105	114,43	86,38	99,08	504,44
106	112,50	102,55	132,55	111,74
107	100,80	120,89	110,89	106,20
108	104,30	114,34	105,35	103,30
109	113,96	86,96	87,38	503,30
110	94,95	101,54	86,97	508,58
111	100,84	101,20	101,53	600,00
112	95,27	89,78	101,19	500,13
113	113,55	93,65	89,94	594,87
114	103,22	88,38	92,65	499,08
115	125,44	115,44	89,38	488,38
116	122,62	121,62	85,06	476,96

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
117	125,69	125,69	90,45	511,25
118	121,39	122,39	120,51	501,19
119	104,89	104,89	93,95	487,37
120	120,42	120,42	100,84	424,00
121	102,84	102,84	93,27	490,45
122	102,60	103,65	100,65	108,25
123	106,70	107,76	104,76	108,84
124	99,26	99,26	112,55	411,51
125	108,58	108,58	103,20	415,43
126	112,05	112,05	115,33	512,96
127	106,53	106,53	123,74	543,95
128	107,37	107,37	125,69	500,94
129	123,71	123,71	120,59	493,27
130	115,08	120,06	132,16	413,55
131	122,71	122,30	122,84	403,20
132	119,72	128,70	104,89	425,33
133	112,44	110,40	110,46	422,74
134	118,64	120,64	110,64	325,69
135	130,62	131,60	111,63	321,59
136	112,42	112,43	110,43	230,16
137	110,04	110,08	120,09	226,84
138	102,03	101,20	99,76	205,89
139	103,67	103,60	103,67	210,42
140	103,52	103,76	113,76	203,84
141	104,88	105,60	105,78	299,26
142	104,20	105,25	105,25	206,58

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
143	98,02	98,52	98,34	214,05
144	102,54	102,76	104,76	205,53
145	130,50	120,60	111,55	209,37
146	100,60	100,89	100,79	212,71
147	102,32	103,25	112,32	214,06
148	110,20	110,43	120,43	321,71
149	108,77	109,77	119,77	329,72
150	106,47	108,79	118,79	313,46
151	120,42	120,40	124,42	320,64
152	105,22	102,84	100,84	411,63
153	136,54	103,98	102,98	115,43
154	130,42	105,78	115,78	112,96
155	130,16	130,16	115,43	489,95
156	122,84	122,84	112,96	452,65
157	104,52	106,53	104,53	403,67
158	103,36	105,37	115,37	406,76
159	122,70	123,71	123,76	405,78
160	114,06	118,06	128,06	405,45
161	122,70	120,71	130,71	498,34
162	126,72	128,72	118,72	502,76
163	110,40	110,46	120,46	501,55
164	120,40	120,64	122,64	500,89
165	130,60	131,63	131,43	312,22
166	160,42	162,43	132,43	287,37
167	150,04	150,08	120,08	224,00
168	149,02	132,33	122,33	290,45

Numune Sayısı	Miktar (ppt)			
	DES	TRENBOLON	ÖSTRADIÖL	ZERANOL
169	140,62	103,67	133,67	111,51
170	125,54	105,67	115,67	193,95
171	120,30	102,65	104,65	100,94
172	110,20	102,76	100,76	193,27
173	113,55	112,50	103,55	113,54
174	100,65	100,89	120,89	103,20
175	108,78	108,60	106,79	125,33
176	124,40	124,42	104,42	122,74
177	102,84	100,64	102,84	325,69
178	100,20	100,60	110,22	321,59
179	108,40	108,58	118,58	230,16
180	100,22	100,32	110,22	512,43
181	108,42	108,58	107,58	510,09
182	118,02	118,05	110,05	559,76
183	118,30	118,05	128,05	226,84
184	106,50	106,53	103,53	205,75
185	105,30	105,37	115,37	210,43
186	123,60	123,71	132,71	203,84
187	118,04	118,21	108,06	299,26
188	120,50	120,71	121,71	206,58
189	128,52	122,72	112,72	214,05
190	110,46	100,46	120,46	201,53
191	162,40	92,43	82,43	210,05
192	152,00	82,08	92,08	221,71
193	132,30	122,33	112,33	229,72
194	100,89	112,43	77,27	329,76

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hayvanlarda kullanılan anabolik maddeler, hayvansal gıdalarla alındığında insanlarda genotoksik etki (13,19), menstrüal siklus bozukluğu, ovaryum kistleri, erken ergenlik (15,43,44), kız ve erkek çocukların göğüslerinde büyüme (41), hayvanlarda ölü doğum, mastitis, vulvo vajinitis (12,19) gibi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Bu çalışmada, benzer çalışmalarda da (74,75) kullanılan ELISA yöntemi sığır etlerinden DES, östradiol 17 β , trenbolon ve zeranol düzeylerinin tespiti amacıyla kullanılmıştır. Bu sayede Kocaeli bölgesinde analizi yapılan sığır etlerinden elde edilen sonuçlar çerçevesinde halk sağlığı açısından bir risk değerlendirilmesi yapılmıştır.

Östradiol 17 β , insanlarda doğal olarak bulunan ve seviyeleri yaş, cinsiyet, beslenme, egzersiz, kadınlarda gebelik ve menstrüal siklus gibi etkenlere bağlı olarak değişen bir hormondur. Çalışmamızda 200 örnek içerisinde Östradiol seviyesi 49,87 ppt ile 334,75 ppt arasında bulunmuştur. Erzurum yöresinde 150 adet et örneği üzerinde yapılan çalışmada bulunan östradiol 17 β miktarlarının sadece dördünün 0,5 μ g/kg düzeyi aştığı belirtilmiştir (75). Bursa bölgesinde yapılan çalışmada ise 29 örneğin hiç birisinde östradiol 17 β tespit edilememiştir (77). Kocaeli bölgesinde yaptığımız çalışmada tespit edilen östradiol 17 β miktarı 1000 ppt olan pozitif tespit düzeyinin altındadır.

DES ABD’de etçi piliçlerde ticari olarak kullanılmış ve ilk östrojenik olarak üretilen sentetik hormonlardan biridir. DES’in kansere neden olduğu anlaşıldıktan sonra 1959’da piliçlerde ve 1979’da sığırlarda kullanımı yasaklanmıştır (21). 200 örnek üzerinde yaptığımız çalışmamızda bulunan DES düzeyleri 84,06 ppt ile 178,56 ppt arasındadır. İstanbul’da 30’u et örneği, 31’i et ürünü üzerine yapılan çalışmada toplam 61 örneğin 21’inde (% 25) DES tespit edilmiştir (76). Sever ve ark. Erzurum bölgesinde yaptıkları çalışmada 153 adet et örneğinin % 89.3’ünde DES tespit etmiştir (75). Oruç ve ark. Bursa bölgesinde 80 numune üzerinde yaptıkları analizlerin 11’inde DES tespit etmiştir. Çalışmada DES kalıntı miktarları 51,2 ng/kg ile 161,0 ng/kg arasında

değişmekte ve ortalama $102,13 \pm 11,32$ ng/kg'dır. Kocaeli bölgesinde yapığımız çalışmada tespit edilen DES miktarı 1000 ppt olan pozitif tespit düzeyinin altındadır.

Zeranol steroid olmayan östrojenik etkili rezorsilik asit laktonu olup büyümeyi hızlandırıcı, beslenme etkinliğini artırıcı ve daha kaliteli az yağlı ağırlık artışı sağlamak gibi sebeplerle yetiştiricilikte kullanılmaktadır. Kocaeli bölgesinde yapılan çalışmamızdaki 200 örnekte zeranol miktarı 100,94 ppt ile 614,06 ppt arasında tespit edilmiştir. Erzurum yöresinde yapılan bir araştırmada 16 et örneğinin 8'inde zeranol miktarının 0.5 ng/kg'dan yüksek olduğu belirtilmiştir (75). İstanbul'da 30'u et örneği 30'u et ürünü olmak üzere toplam 60 örnekte yapılan bir çalışmada örneklerin tamamında (%100) zeranol tespit edildiği bildirilmiştir (76). Bursa'da yapılan diğer bir çalışmada 81 sığır örneğinin ikisinde 456,7 ng/kg ve 1501,3 ng/kg olarak saptanmıştır (77). Kocaeli bölgesindeki çalışmamızda tespit edilen zeranol düzeylerinin pozitif tespit limiti olan 1000 ppt'nin altında olduğu tespit edilmiştir. Bulunan sonuçlar Codex Alimentarius'ta belirtilen maksimum kalıntı limiti olan 2 µg/kg'ın altındadır(78).

TBA, ağız yoluyla alındığında karaciğerde %85 oranında metabolize edildiği için sığırlarda yalnız ya da östradiol ile birlikte 40-300 mg arasında kulaktan implant uygulanmaktadır (8, 48). Trenbolon için yasaklanan limitlerin kas dokusu için 2000 ppt, karaciğer için 10000 ppt olduğu bildirilmiştir (7, 78). Kocaeli bölgesinde yapılan çalışmamızdaki 200 örnekte trenbolon miktarı 49,87 ppt ile 162,43 ppt arasında tespit edilmiştir. İstanbul bölgesinde 60 et ve et ürünü üzerinde yapılan bir çalışmada 48 üründe 1000 ppt'nin altında trenbolon tespit edilmiştir (76).

Ulusal Kalıntı İzleme Planı, hayvan türlerine göre belirlenen madde ve ürün grupları ile bu maddelerin kalıntılarının varlığının tespiti için alınacak önlemleri içerir. Bu programların uygulamasında AB mevzuatı (96/23/EC ve 96/22/EC sayılı Konsey Direktifleri ile 98/179/EC sayılı Konsey Kararı) ile uyumlaştırılması tamamlanmış Türk mevzuatı dikkate alınmaktadır (79). Bu kapsamda, ulusal kalıntı kontrolü "Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler İle Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik" (RG: 17.12.2011, No.28145) ve bu yönetmeliğe bağlı "2013/09 sayılı Canlı Hayvan ve Hayvansal Ürünlerde Kalıntı İzleme Genelgesi"nde belirtilen kurallara göre hazırlanan ulusal kalıntı izleme planı çerçevesinde yürütülmektedir (79).

Sonuç olarak, bu çalışma ile Kocaeli bölgesinde toplanan 200 adet sığır eti numunenin hiçbirisinde DES, Östradiol 17 β , Trenbolon ve Zeranol teşhis seviyesinin üzerinde tespit edilememiştir. Bu sonuçlar ışığında çalışmanın yapıldığı Kocaeli bölgesinde market ve kasaplarda satışa sunulan sığır etlerinin ait olduğu hayvanlarda büyütme faktörü olarak hormon kullanımının yaygın olmadığı düşünülmektedir. Bulunan değerlerin teşhis limitlerinin altında olması; gerçekten hormon kullanılmadığı, her ne kadar yasal olmasa da belirli bir süre bekletildikten sonra hayvanların kesime gönderiliyor olması olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. (4 Baskı), Cilt 3, Ankara, 1990:2626-2647.
2. Kaya S. Gelişmeyi Hızlandırıcı Maddeler, In: Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri, Şanlı Y, Kaya S, (Eds), Medisan Yayınevi, Ankara, 1991:s 544-550.
3. Şener S. Anabolik Ajanlar. Türkiye’de Veteriner İlaçların Üretimi, Pazarlanması, Güvenli Kullanımı Ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu, s 62-65, 1994, Ankara
4. Kaya S, Yarsan E. Gıda Kirliliği, In: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, (2. Baskı), Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, (Eds), Medisan Yayın Evi, Ankara, 2002: s777-842.
5. Daglıoğlu G, Aksoy, A. Hayvansal Üretimde Zeranol. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi 1995; 1: 103-108.
6. Degroodt JM, Bukonski BW, Beernaert H, Courtheyn D. Clenbuterol residue analysis by HPL- HPTLC in urine and animal tissues. Z. Lebensm. Unters. 1989; 189: 128-131.
7. European Commission, unitB3-management of scientific committees II: Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health: Assessment of potential risks to human health from hormon residues in bovine meat and meat products. 30 April 1999. <http://www.europa.eu.int>
8. Hohls FW, Stan HJ. Nachweis von trenbolonrückständen in fleisch durch dünnschichtchromatographie und fluorimetrie. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1978; 167: 252-255.
9. Luno M, Beltran J.A, Jaime I, Roncales P. Textural assessment of clenbuterol treatment in beef. Meat Science. 1999; 51: 297-303.
10. Apple JK, Dikeman ME, Simms DD. Effects of synthetic hormone implants, singularly or in combinations, on performance carcass traits, and longissimus muscle palatability of Holstein steers. J Anim Sci 1991; 69: 4437-4448.

11. Cranwell CD, Unruh JA, Brethour JR, Simms DD, Campbell RE. Influence of steroid implants and concentrate feeding on performance and carcass composition of cull beef cows. *J Anim Sci.* 1996; 74:1770-1776
12. Foutz CP, Dolezal HG, Gardner TL, et al. Anabolic implant effect on steer performance, carcass traits, subprimal yields and longissimus muscle properties. *J Anim Sci* 1997; 75: 1256-1265
13. Erol İ. (ed) Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara 2007.
14. Ersoy E, Agthe O, Ergun H, Sel T, Güldür T. The determination of diethylstilbestrol in the faeces and tissues of chickens treated with des and in the faeces and tissue samples of calves, lambs and chickens collected from various areas of Turkey. *Ankara Üniv. Veteriner Fak. Derg.*, 1992; 39:215-231.
15. Gandhi R, Snedeker SM. Consumer concerns about hormones in food. <http://envirocancer.cornell.edu/Factsheet/Diet/fs37.hormones.cfm> 2003.
16. Refsdal AO. To treat or not to treat: a proper use of hormones and antibiotics. *Anim Reprod Sci*, 60-61: 109-119
17. Türk Gıda Kodeksi. Gıda değeri olan hayvanlara uygulanması yasaklanan ve belli şartlara bağlanan hormon ve benzeri maddeler hakkında tebliğ, T.C. Resmi Gazete, 19 Haziran 2003, sayı: 25143.
18. Anderson PT, Crooker BA, Pullen MM. Animal Products: Contributors to a Safe Food Supply. <http://www.extension.umn.edu/distribution/nutrition/DJ5513.hotmail> (Erişim Tarihi 12.02.2015)
19. Doyle ME. Human safety of hormone implants used to growth promotor in cattle. A review of scientific literature. FRI Briefings, Food Research Institute, UW-Madison 2000.
20. Preston RL. Hormone containing growth promoting implants in farmed livestock. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1999; 38(2): 123-138.
21. Kaya S, Pirinçci İ. Gelişmeyi Hızlandırıcı Maddeler. *Veteriner Farmakoloji* (4. Baskı), Cilt 2, Kaya S. (Edt), Medisan Yayın Serisi: 65, Ankara, 2007.

22. O'Mary CC, Pope AL, Wilson GD, Bray RW, Casida LE. The effects of diethylstilbestrol, testosterone and progesterone on growth and fattening and certain carcass characteristics of weatern lambs. *J Anim Sci* 1952; 11:656-673.
23. Kaya S, Baydan E. Veteriner İlaçları ve Yol Açabilecekleri Başlıca Sorunlar. *Ankara Vet.Hek.Dern.Derg*, 1996; 9: 11-21.
24. FAO. Veterinary drug; Testosterone. <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-1-testosterone.pdf>, (1.07.2015).
25. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta, *Endocrinology* 1997; 03-01.
26. Sawaya W, Lone KP, Hasain A, Dashti B, Al-Zenk S. Screening for estrogenic steroids in sheep and chicken by the application of enzyme-linked immunosorbant assay and a comparsion with analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* 1998; 63 (4): 563-569.
27. Şenel S. Hayvan Besleme. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları Rektörlük No : 3210, İstanbul, 1993: 168- 175.
28. Van Peteghem CH, Van Haver GM. Chromatographic purification and radioimmunoassay of diethylstilbestrol residuesin meat. *Analytica Chimica Acta*. 1986; 182: 293-298.
29. Stan J, Stan H, Abraham B. Determination of residues of anabolic drugs in meat by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr* 1980; 195: 231-241.
30. Patterson RLS, Salter LJ. Anabolic agents and meat quality. *Meat Science*. 1985; 14:191-220.
31. Şener S. Anabolik ajanlar- hayvansal ürünlerde kalıntı- TÜBİTAK, VHAG özel ihtisas komisyonu Raporu. Ankara, 1994: 114-137.
32. Ozan K, Ünsal A. Veteriner Farmakoloji Hormonlar ve Vitaminler. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Masaüstü Yayıncılık Ünitesi. 1998: 39-43.
33. Sai N, Yuntang W, Huang G, Gao Z. Molecular imprinted opal closest-packing photonic crystals for the detection of trace 17 β –estradiol in aqueous solution. *Talanta*, 2015; 144:157-162.

34. Daxenberger A, Lange IG, Meyer HHD. Detection of anabolic residues in misplaced implantation sites in cattle. *Journal of AOAC International* 2000; 83(4): 809-819.
35. Durmaz F. Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Medisan yayım serisi No: 28, cilt 2 (I.Baskı) , Ankara, 1997: 266-269.
36. Jodlbauer J, Zöllner P, Lindner W. Determination of zeranol, taleranol, zearalenone, alf- and beta zearalenon in urine and tissue by high-performance liquid chromatographytandem mass spectrometry. *Chromatographia*. 2000; 51(11/12): 681-687.
37. Xiong YL, Moody WG, Blanchard SP, Liu G, Burriss WR. Postmortem proteolytic and organoleptic changes in hot-boned muscle from grass and grain-fed and zeranol-implanted cattle. *Food Research International*. 1996; 29(1): 27-34.
38. Aksoy A, Dagoglu G. Zeranol ve nandrolon'un (19-nortestosteron hekzafenilpropiyonat) Akkaraman ırkı erkek kuzularda, canlı ağırlık artışı, FSH, LH, total testosteron ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg* 1998; 9 (1-2): 17-28.
39. Saraç B. Dietilstilbestrol ve Zeranol Kalıntılarının Gaz Kromatografi Yöntemiyle, Deneysel Olarak Tavşanlar ile Mezbahalarda Kesilen Hayvanların Doku ve Organlarında Araştırılması, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 1997.
40. Heitzman RJ. The absorption, distribution and excretion of anabolic agents. *J Anim Sci* 1983; 57 (1): 76-85.
41. Fara GM, Del Corvo G, Bernuzzi S, et al. Epidemic of breast enlargement in an Italian school. *Lancet* 1979; 2: 295-297.
42. Gülbahar MY. Zeranol İmplant Edilen Kuzuların Bazı İç Salgı Bezleri İle Genital Organlarındaki Patolojik Bozukluklar, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1996.
43. Kaya S. Hayvansal üretimde gelişmeyi hızlandırıcı maddeler ve sakıncaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1984; 31(3): 410-423.

44. Cordle MK. USDA regulation of residues in meat poultryproducts. *J Anim Sci* 1988; 66: 413-433.
45. FAO/WHO. Food additives. Thirty Second Meeting, 15-23 june Roma, 1987.
46. FAO. Veterinary drug. Zeranol. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/vetdrug/41-1-zeranol.pdf> (04.07.2015).
47. Hsu S, Hsu H, Eckerlin RH, Henion JD. Identification and quantitation of trenbolone in bovine tissue by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr* 1988; 424: 219-229.
48. Laitem L, Gaspar P, Bellon I. Detection of trenbolone residues in meat and organs of slaughtered animals by thin-layer chromatography. *J Chromatogr* 1978; 147: 538-539.
49. Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC. Effects of testosterone, testosterone propionate, 17 beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. *Carcinogenesis* 1995; 16(6): 1329-33
50. FAO. Food and Nutrition Paper. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. www.fao.org/3/a-t0292e.pdf (04.07.2015).
51. Berge P, Culioli J, OualiA. Performance, muscle composition and meat texture in veal calves administered a Beta-agonist (clenbuterol). *Meat Science*. 1993; 33: 191-206.
52. Smith DJ. Stereochemical composition of clenbuterol residues in edible tissues of swine. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 6036-6043.
53. Delahaut P, Dubois M, Pri-bar I, et al. Development of a specific radioimmunoassay for the detection of clenbuterol residues in treated cattle. *Food Additives and Contaminants*. 1991; 8(1): 43-53.
54. Garssen GJ, Geesink GH, Hoving-Bolink AH, Verplanke JC. Effects of dietary clenbuterol and salbutamol on meat quality in veal calves. *Meat Science*. 1995; 40: 337-350.
55. Luno M, Beltran J.A, Jaime I, Roncales P. Textural assessment of clenbuterol treatment in beef. *Meat Science*. 1999; 51: 297-303.

56. Malucelli A, Rizzo A, Mayer H.H.D. Purification of clenbuterol, salbutamol and terbutaline by immunoaffinity chromatography. *Archieve für Lebensmittelhygiene*. 1995; 46: 99-124.
57. Wilson RT, Groneck JM, Holland KT, Henry AC. Determination of clenbuterol in cattle, sheep and swine tissues by electron ionization gas chromatography/ mass spectrometry. *Journal of AOAC International*. 1994; 77 (4):917-924.
58. Simmons NJ, Young OA, Dobbie PM, et al. Post-mortem calpain-system kinetics in lamb: Effects of clenbuterol and preslaughter exercise. *Meat Science*. 1997; 47 (1/2):135-146.
59. Degand G, Bernes-Duyckaerta A, Maghuin-Rogister G. Determination of clenbuterol tissues and urine by enzyme immuno assay. *J. Agric. Food Chem*. 1992; 40:70-75.
60. Geesink GH, Smulders FJM, Van Laack HLJM, et al. Effects on meat quality of the use of clenbuterol in veal calves. *J. Anim. Sci*. 1993; 71:1161- 1170.
61. Gleixner A, Meyer H.D. Hair analysis for monitoring the use of growth promotors in meat production. *Fleischwirts*. 1996; 76 (6) : 637-638.
62. Brambilla G, Cenci T, Franconi F, et al. Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy. *Toxicology Letters*. 2000; 114: 47-53.
63. Brambilla G, Loizzo A, Strozzi M, Fontana L, Guarino A, Soprano V: Foodpoisoning Following Consumption of Clenbuterol. *J. Am. Med. Assoc. (JAMA)* .1997; 278 (8):635.
64. FAO. Food and Nutrition Paper. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Clenbuterol. <http://www.fao.org/docrep/w4601e/w4601e06.htm> (04.07.2015).
65. Canadian Animal Health Institute 2005. <http://www.extension.umn.edu/distribution/nutrition/DJ5513.html>
66. Doyle M.E. Veterinary drug residues in processed meats. Potential health risk. A review of scientific literature. FRI Briefings, Food Research Institute, UW-Madison, 2006.

67. United States Department of Agriculture. 1999. A Primer on Beef Hormones. Washington,DC. <http://www.fas.usda.gov/itp/policy/hormone2.html>. (28.01.2015).
68. Ergun H. Hormon ve hormon benzeri anabolik ajanlar. Ankara Üniv Veteriner Fak Derg 1988; 35: 353-363.
69. Adlercrevtz H. Ve Tenhunen R. Some aspects of the interaction between natural and synthetic female sex hormones and the liver. J. Am. Med.1970; 49:630-648.
70. Kaya S, Pirinççi İ. Gelişmeyi hızlandırıcılar ve yem katkı maddeleri. Alınmıştır: Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji. Ed: S. Kaya, İ. Pirinççi, A.Bilgili. Medisan Yayın Serisi: 54. Ankara. 2002.
71. Anderson PT, Crooker BA, Pullen MM. Animal Products: Contributors to a Safe Food Supply 1991.
72. Woźniak B. Hormone residues control in slaughtered animals in Poland in 2000-2001. Bull. Vet. Ins. Pulawy. 2002; 46:331-335.
73. Şanlı Y. Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri(3. Baskı), Özkan matbaacılık, Ankara, 1999: 578-585.
74. Uzunov R, Hajrula-Musuu Z, Dimitrievska-Stojkovic E, Stojanovska-Dimzoska B, Sekulovskı P, Stojkovskı V. Use of ELISA for preliminary screening of 19 nortestosterone anabolic steroid in cattle meat in Republic of Macedonia, Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.: 2013; 19(1): 173-177.
75. Sever E, Okumuş B, İnce S. Erzurum yöresinde satışı sunulan kırmızı etlerde 17 β-östradiol, dietilstilbestrol ve zeranol kalıntılarının araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18 (2): 267-272.
76. Nazlı B, Çolak H, Aydın A, Hampikyan H. İstanbul'da satışı sunulan et ve et ürünlerinde bazı anabolizan madde kalıntılarının varlığı üzerine bir çalışma,; Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 691-699.
77. Oruç H, Cengiz M, Bağdaş D, Uzunoğlu İ. "Sığır Etlerinde Zeranol, Dietilstilbestrol, Klenbuterol, 17β-Östradiol ve Testosteron Kalıntıları" Uludag Univ J Fac Vet Med 2007; 26, 1-2: 11-15.
78. Codex Alimentarius. Residues of Veterinary Drugs in Foods. Vol. 3, FAO, Rome and WHO, Geneva, 1996.

79. Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü. Ulusal kalıntı İzleme Planı – 2015.
www.tarim.gov.tr/Konular/Gida-Ve-Yem-Hizmetleri/Gida-Hizmetleri/Kalinti-Izleme (26.08.2015).
80. Woźniak B. Pozostałości anaboliów u zwierząt rzeźnych w Polsce w świetle badań monitoringowych. Kongres 2000, s 196-197 Warszawa 26-28.04.2000, Materiały Kongresu.

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı:	Salih Engin ŞEVİK
Uyruğu:	T.C.
Doğum tarihi ve yeri:	31/ 03 / 1983-Amasya
Medeni durumu:	Evli
Tel:	0531 431 09 43
Faks:	
E-mail:	engin_83vet@hotmail.com
Yazışma adresi:	Narlı Mah. Kartal Sk. Gül Apt. No:1/3 Narlıdere/İZMİR

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	A.Ü. Veteriner Fak.-ANKARA	2006
Lise	Hoca Ahmet Yesevi Lisesi –ESKİŞEHİR	2000

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Görev	Kurum
2008- Halen	Gıda Kontrol Subayı	Türk Silahlı Kuvvetleri
2007-2008	Laboratuvar Subayı	Türk Silahlı Kuvvetleri

YABANCI DİL

İngilizce