

TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN ET VE MAMÜLLERİNDE (PASTIRMA, SUCUK) DİETİLSİLBESTROL VE ZERANOL KALINTILARI

Diethylstilbestrol and zeranol residues in meat and meat (Patırma, Turkish fermented sausages) in Turkey

Ahmet AKILLI

ÖZET

300 adet siğır eti, 100 adet sucuk ve 100 adet pastırma numunesi, Dietilstilbestrol (Des) ve zeranol yönünden analize alınmış olup sucuk ve pastırma numunelerinin hiçbirisinde "Des" ve zeranol kalıntıları tespit edilemedi. beş et numunesinde ise sırasıyla 39.73, 53.69, 135.8, 170.8 ve 279.8 ppb düzeyinde zeranol kalıntısı tespit edildi. Diğer bir ifade ile tüm et numunelerinde zeranol bulunma oranı % 1.66 olarak belirlendi.

Araştırmanın ikinci bölümünde ise deneysel olarak hazırlanan sucuk numunelerine sırasıyla 10, 25, 50, 100 ppb miktarında "Des" ve zeranol standardı katılarak yapılan çalışmada olgunlaşmasını tamamlayan sucuk numunelerinin yapılan analizlerinde geri kazanım oranları "Des" için %59.23, zeranol için % 51.37 olarak bulundu. İçerisine hormon katılmadan hazırlanan, olgunlaşma ve kurumasını tamamlamış sucuk numunelerine yukarıdaki miktarlarda "Des" ve zeranol standartları katılarak bu sucuklar pozitif kontrol olarak ekstraksiyona tabi tutuldu. Analiz sonucunda geri kazanım oranları "Des" için % 60.97zeranol için % 55.26 olarak bulundu. İçerisine "Des" ve zeranol katılarak olgunlaşma işlemine tabi tutulan sucuk numuneleri ile standart katılmadan olgunlaşma işlemine tabi tutulan ve ekstraksiyon esnasında aynı miktarlarda standart katılarak analize alınan sucuk numunelerinden elde edilen sonuçların paralellik gösterdiği ve istatistiki yönden önemli bir farklılığın olmadığı tesbit edilmiştir. Bu sonuçlara göre "Des" ve Zeranol'ün sucukların olgunlaşması sırasında cereyan eden biyokimyasal olaylardan etkilenmediği ve miktar olarak önemli bir azalmanın söz konusu olmadığı kanaatine varılmıştır.

SUMMARY

In this study, 300 cattle meats, 100 Turkish fermented sausages and 100 pastırma samples were examined in terms of "Des" and zeranol. In the none of pastırma and Turkish fermented sausages samples, "Des" and zeranol residues were not found. In the five meat samples, however, levels of zeranol residues were determined as 39.73, 53.69, 135.8, 170.8, 279.8 ppb. In the second part of the study, 10, 25, 50, 100 ppb "Des" and zeranol, in turn, were added to the experimentally prepared Turkish fermented sausages samples. After ripening of the samples obtained in this way were analyzed by gas chromatographic method. Recovery rates were found as % 59.23 for "Des", % 51.37 for zeranol. On the other hand, ripened Turkish fermented sausages samples, prepared without adding hormones, were mixed with "Des" and zeranol in the same quantity, and these samples were extracted as positive control, recovery rates were found as % 60.97 for "Des", % 55.26 for zeranol.

It was found that the results obtained from the ripened Turkish fermented sausages samples prepared by adding "Des" and zeranol, along with the results obtained from the ripened Turkish fermented sausages samples without hormones, to which the same amount of standarts had been added during the extraction, were parallel and there were no significant difference between the results statistically.

It is concluded that "Des" and zeranol have not been affected from the biochemical processes during the ripening of Turkish fermented sausages and there is no considerable decrease in the quantity of "Des" and zeranol.

GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunu beslemek için besin maddelerine olan ihtiyacın her geçen gün büyük boyutlara ulaşması karşısında hayvansal üretimin en yüksek düzeye çıkarılmasının gereği herkes tarafından kabul edilmektedir. Dünya'nın birçok ülkesinde hayvanların besi performansını arttırmak için değişik kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Hormon ve benzeri maddelerin hayvanlarda et üretimini arttırmak amacıyla kullanılması yaygın hale gelmiştir. Büyüme hızlandırıcı çeşitli maddeler değişik hayvan tür, ırk, cinsiyet ve yaş dönemlerinde

denenmiş, faydalı bulunanlar sakıncaları ortaya çıkmadığı sürece kullanılmaya devam edilmiştir. Anaboliklerin kullanımı ile hayvancılıkta verimliliğin yükselmesi hayvan yetiştiriciliğinin ürün maliyetini azaltmış ve kâr oranını arttırmıştır. Avustralya'da et üretimi için yetiştirilen sığırların % 45 kadarı üzerinde anabolik hormonların kullanıldığı ve bu uygulamanın yılda 60 milyon dolar değerinde ekonomik katkı sağladığı bildirilmektedir (14). Diğer taraftan bu maddelerin hayvan vücudunun çeşitli organ ve dokularında birikerek kalıntı bırakması dikkatleri üzerine çekmiş ve kullanılan verim arttırıcı maddelerin, böyle hayvansal ürünleri yiyenlerin sağlığı üzerine olumsuz etkide bulunduğu ortaya atılması, bu konuda tartışmalara farklı görüş ve tereddütlere yol açmıştır. Anabolik hormonların hayvancılıkta besi amacıyla kullanılmalarına ait yasal düzenlemeler, Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), Kodeks Alimentarius Komitesi, Federal Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa Topluluğunun anabolik hormonlar konusunda kurduğu bilimsel çalışma grubunun konu ile ilgili görüş ve uygulamaları çerçevesinde ele alınmalıdır. Hormon veya hormon etkisine haiz maddelerin kullanılmasında henüz milletlerarası bir anlaşmaya varılmamıştır. Sadece stilben grubu anabolik hormonların kullanımı tüm ülkeler tarafından yasaklanmıştır. İmplantasyon yolu ile sığırlara verilen östradiol 17 B, testesteron, progesteron, zeranol, trenbolon asetat gibi anabolik maddelerin sığırların kesiminden önce vücuttan atıldığı belirlenmesi ile bunların tekniğine uygun şekilde kullanılmasına Amerika, Kanada ve Avustralya'nında aralarında bulunduğu birçok ülkede müsaade edilmektedir (1,7,12).

MATERYAL VE METOT

1. Materyal

a) Et numuneleri

Araştırmada kullanılan sığır eti numuneleri Ankara, Amasya, Burdur, Bursa, Çanakkale, Edirne, İzmir, Kırklareli, Konya ve Tokat illerindeki kombinalarda kesimi yapılan kasaplık sığırlardan temin edildi. Toplam 300 adet sığır eti numunesinde "Des" ve zeranol yönünden kalıntı analizleri yapıldı.

b) Sucuk ve Pastırma Numuneleri

Geleneksel et ürünlerimizden olan sucuk ve pastırmanın "Des" ve zeranol kalıntıları yönünden araştırılması amacıyla Ankara piyasasında satılmakta olan ürünlerle birlikte Ankara Et ve Balık Kurumunca üretilen ve satışa sunulan değişik üretim serilerine ait 100 adet Pastırma ve 100 adet sucuk deneye alındı.

c) Deneysel Sucuk Numunelerinin Hazırlanması

Toplumumuzca sevilerek tüketilen Türk fermente sucuklarının yapımı ve olgunlaştırılması süresince Des ve zeranol'ün miktarı olarak nasıl etkilendiklerinin araştırılması amacıyla deneysel bir çalışma yapıldı. Bu amaçla piyasadaki sucuk yapımında kullanılmak üzere siğir eti, kuyruk yağı ve katkı maddeleri satın alındı. Etlerin "Des" ve zeranol kalıntıları yönünden analizi yapıldı (16). "Des" ve zeranol yönünden menfi çıkan et numunelerinden Yıldırım (18), tarafından bildirilen sucuk yapım tekniğine ve katkı maddeleri oranlarına göre sucuk hamuru hazırlandı ve barsaklara 50 g.'lık porsiyonlar şeklinde dolduruldu.

d) Et Kontrol Numunelerinin Hazırlanışı

Kontrol olarak kullanılacak et numuneleri Ankara Et ve Balık Kurumundan temin edildi. Des ve zeranol kalıntıları yönünden analizleri yapıldı (16). Menfi çıkan et numuneleri, pozitif ve negatif kontrol olarak kullanıldı. Bu amaçla tetrahydrofuran solventi içerisinde ultrathoraks'da homojenize edilerek parçalanmış 10 g.'lık dört ayrı et numunesinin herbirine sırasıyla metanol içerisinde hazırlanan Des ve zeranol standartlarından (10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml) katılarak pozitif kontroller hazırlandı. Yine aynı şekilde standart katılmadan negatif kontroller hazırlandı ve metod kısmında belirtildiği gibi analize alındı (16).

e) Pastırma Kontrol Numunelerinin Hazırlanışı

Kontrol olarak kullanılacak pastırma numuneleri Ankara Et ve Balık Kurumundan temin edildi. "Des" ve zeranol kalıntıları yönünden analizleri yapıldı (3). Menfi çıkan pastırma numuneleri pozitif ve negatif kontrol olarak kullanıldı. Bu amaçla blender'de parçalanarak 160 ml. dietilether içerisine alınan 30 g.'lık dört ayrı pastırma numunesinin herbirine sırasıyla "Des" ve zeranol standartlarından (10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml) katılarak pozitif

kontroller hazırlandı. Yine aynı şekilde standart katılmadan negatif kontroller hazırlandı ve metod kısmında belirtildiği gibi analize alındı (3).

f) Sucuk Kontrol Numunelerinin Hazırlanışı

50 g. olarak hazırlanan sucuk numuneleri gruplara ayrıldı, her biri sekiz adet 50 g. sucuk porsiyonlarından oluşan ilk dört grup deneysel çalışmada kullanılmak üzere ayrıldı. Herbiri sekiz adet 50 g. sucuk porsiyonlarından oluşan ikinci dört grup numuneler pozitif kontrol olarak, sekiz adet 50 g. sucuk porsiyonlarından oluşan son grup numuneler ise negatif kontrol olarak ayrıldı. Deneysel çalışmada birinci gruptaki sekiz ayrı sucuk numunesinin herbirine mikroenjektör ile 100 µg/ml. "Des" ve zeranol bulunan standart solusyondan 1 ml. ikinci gruptaki numunelere 50 µg/ml. Des ve zeranol bulunan standart solusyondan 1 ml. üçüncü gruptaki numunelere 25 µg/ml. Des ve zeranol bulunan standart solusyondan 1 ml., dördüncü gruptaki numunelere 10 µg/ml. Des ve zeranol bulunan standart solusyondan 1 ml. numunelerin her tarafına eşit ve homojen bir şekilde enjekte edilerek sucuklar olgunlaşma ve kurutma işlemine tabi tutuldu(18). Yine aynı şekilde kontrol grubu olarak ayrılan diğer gruptaki sucuk numuneleri de aynı şartlarda olgunlaşma ve kurumaya terk edildi. Olgunlaşmasını tamamlayan ve pozitif kontrol olarak ayrılan sucuk numuneleri blender'de parçalanılarak 160 ml. dietilether içine alındı ve her gruba sırasıyla "Des" ve zeranol standart solusyonlarından (10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml) katılarak pozitifkontroller hazırlandı. Olgunlaşmasını tamamlayan son gruptaki numunelerde aynı şekilde standart katılmadan homojenize edilerek dietilether içine alındı ve negatif kontrol grubu olarak ayrıldı. Numunelerin tamamı metod kısmında belirtildiği gibi analize alındı (3).

2. Metot

a) Et Numuneleri İçin Ekstraksiyon İşlemi

Çalışmada Abraham ve Stan (16), tarafından et numunelerinde "Des ve zeranol"ün analizi için geliştirilen metod uygulandı. Analize hazırlanmış 10 g. numune tetrahydrofuran ile ekstrakte edildi. Rotary evaporatör balonuna alınan et ekstraktı 40°C'de kuruyuncuya değin uçuruldu. Üzerine 25 ml. asetonitril

ilave edilerek örnek, asetonitrile alındı. Yağların uzaklaştırılması için örnek-asetonitril karışımı iki kez 25 ml. n-hexan ile ayırma hunisinde ekstrakte edildi. Hekzan fazı atıldı. Asetonitril kuruyuncaya kadar 40°C'de rotary evaporatörde uçuruldu. Kuru kalıntı 50 ml. benzen ile üç seferde yıkanarak benzen içine alındı.

b) Et numuneleri için temizleme ve elüsyon işlemi

Benzol içine alınan et ekstraktı önceden hazırlanan slika-gel kolonundan geçirildi (16). Kolon 50 ml. etilasetat ile elüe edildi. Elüat rotary evaporatörde kuru kalıntıya kadar uçurularak gaz kromatografik analiz için derivatizasyon işlemine hazır hale getirildi.

c) Sucuk ve Pastırma Örnekleri İçin Ekstraksiyon İşlemleri

Çalışmada Dürbeck ve Büker (3), tarafından et mamüllerindeki "Des" kalıntılarının tayini için geliştirilen metod uygulandı. Analize hazırlanmış 30 g. numune blender'den geçirilerek kıyma halinde getirildi. 250 ml.'lik bir beher içerisine alındı 160 ml. dietilether ile ekstrakte edildi. Ekstrakt çok katlı filtre kağıdından süzülerek temiz bir behere alındı.

d) Sucuk ve Pastırma Numuneleri İçin Temizleme (Elüasyon) İşlemi

Elde edilen ether ekstraktı bir ayırma hunisine alındı. Üzerine 30 ml. 2 M NaOH ilave edildi. Fazların ayrılması için çalkalandı. Alt kısımdaki NaOH fazı alındı, ether fazı tekrar 30 ml, 2M NaOH ile ekstrakte edildi. Toplanan NaOH fazları iki kez 20'şer ml. n-heksan ile bir ayırma hunisinde çalkalanarak yağlı kısımlar n-heksana geçirildi, heksan fazı atıldı. Sulu alkalik çözelti 15 ml. konsantre HCl ile soğukta nötralize edildi. pH, 1M HCl ile 7-7.5'a ayarlandı. Hidrolize edilmiş çözelti sonra iki kez 30'ar ml. diclormetan ile ekstrakte edildi. Dichlormetan fazı 40°C'de rotary evaporatörde kuruluğa değin uçuruldu. Evapore edilen balondaki kalıntı tekrar diclormetan ile yıkanarak konik bir santrifüj tüpüne alındı ve örnek gas kromatografik analiz için türevleme işlemine hazır hale getirildi.

e) Numunelerin Gas Kromatografi İçin Türevleme İşlemi

Gas Kromatografik analize hazır hale getirilmek için et, sucuk ve pastırma

numuneleri teflon septumlu derivatizasyon vialine alındı. Nitrojen basıncı altında 40°C'de kuru kalıntıya değin evapore edildi. Evapore edilen örneğe 100 ul. derivatizasyon reagenti (%1 TMCS ve %99 BSTFA) ilave edildi ve vorteks mikserde karıştırılarak 60°C de 40 dakika etüvde tutuldu. Etüvden çıkarılan vial oda derecesinde soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra 40°C de nitrojen basıncı altında evapore edildi. 100 ul. isoocetan ile sulandırılarak vorteks mikserde karıştırılarak gaz kromatografik analize hazırlandı (17).

f) Gaz Kromatografik Analiz İşlemi

Gaz kromatografi şartları: Enjektör bölümünün ısısı 230°C, dedektör (FID) bölümünün ısısı 260°C, kolon başlangıç ısısı 90°C, başlangıç ısısında kolonun tutulma süresi 1 dak., kolon ısısı artış oranı 20°C/dak., kolon final ısısı 250°C, taşıyıcı gaz (N₂) akış hızı 1 ml./dak. bu konumda oluşturulan gas kromatografi şartlarında analize geçmeden önce alet bir süre stabilize edildi. Bu çalışmada 0.25 mm. iç çaplı, 25 m. uzunlukta SE-52 likit fazla kaplı fused silika kapıllar kolon kullanıldı.

g) Sonuçların Hesaplanması

Bilinen karışım ve numunelerin kromatogramları alınarak pik alanlarına göre hazırlanan 10-200 ppb sınırındaki standart eğriden, deneye alınan numunelere ait olan alanlara karşılık gelen konsantrasyonlar nanogram olarak bulundu. Düzeltme faktörü ve analize alınan numune miktarı dikkate alınarak aşağıdaki formüllere göre % geri kazanım ve dokudaki hormon kalıntı miktarları hesaplandı (2,4).

$$\% \text{ geri kazanım} = \frac{\text{Deney Numunesinin Pik alanı} \times 100}{\text{Standartın Pik alanı}}$$
$$\text{Dokudaki Hormon miktarı (ppb)} = \frac{\text{Bulunan hormon kalıntı miktarı (ng)}}{\text{Analize alınan doku miktarı (g)}} \times \text{Geri kazanım için düzeltme faktörü}$$

BULGULAR

300 adet siğır eti, 100 adet sucuk ve 100 adet pastırma numunesi "Des" ve zeranol yönünden analize alınmış olup sucuk ve pastırma numunelerinin hiçbirinde "Des" ve zeranol kalıntıları tesbit edilmemiştir. 261, 262, 283, 284 ve 287 kod nolu et numunelerinde ise sırasıyla 39, 73 ppb, 53.69 ppb, 135.8 ppb, 170.8 ppb, 279.8 ppb düzeylerinde zeranol kalıntısı tesbit edildi. Diğer bir ifade ile tüm et numunelerinde zeranol bulunma oranı %1.66 olarak belirlendi.

Araştırmanın ikinci bölümünde ise dört grup olarak deneye alınan ve her gruptaki test numunelerine sırasıyla 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb miktarlarında "Des" ve zeranol katılarak yapılan deneysel çalışmada olgunlaşan ve kurumasını tamamlayan sucuk numunelerinin yapılan analizlerinde tesbit edilen "Des" ve zeranol düzeyleri bunların ortalama değerleri ve standart sapma değerleri Tablo 1 ve Tablo 2 de görülmektedir. Diğer taraftan içerisine "Des" ve zeranol katılmadan olgunlaşma ve kurutma işlemine tabi tutulan ve pozitif kontrol grubu olarak ayrılan sucuk numunelerinde 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb miktarlarında "Des" ve zeranol standartı katılarak, analize alınanlardan elde edilen "Des" ve zeranol düzeyleri, bunların ortalama değerleri ve standart sapma değerleri Tablo 3 ve Tablo 4 de, Des ve zeranol için hazırlanan standart kalibrasyon eğrileri de Şekil 1 ve Şekil 2'de görülmektedir.

Tablo 1: Deneysel olarak içerisinde çeşitli miktarlarda Des katılarak hazırlanan sucukların olgunlaşma ve kurumayı müteakip yapılan analizlerinde tesbit edilen "Des" miktarları (ppb)

Katılan Des Miktarı	Elde Edilen Des Miktarı	Geri Kazanım (%)
10	8.17	81.7
10	8.27	82.7
10	7.75	77.5
10	5.16	51.6
10	6.38	63.8
10	6.24	62.4
10	6.28	62.8
10	8.92	89.2
25	17.30	69.20
25	15.82	63.28
25	16.87	67.48
25	12.61	50.44
25	14.47	57.88
25	12.47	49.88
25	17.34	69.36
25	14.02	56.08
50	28.53	57.06
50	26.81	53.62
50	20.08	40.16
50	23.93	47.86
50	18.82	37.64
50	22.86	45.72
50	24.60	49.20
50	27.91	55.82
100	55.90	55.90
100	53.41	53.41
100	54.64	54.64
100	55.55	55.55
100	57.43	57.43
100	41.09	41.09
100	65.21	65.21
100	70.04	70.04

Analize alınan örnek sayısı (n) : 32
Ortalama Geri kazanım : %59.23
Standart Sapma : %+-12.32

Tablo 2: Deneysel olarak içerisinde çeşitli miktarlarda Zeranol katılarak hazırlanan sucukların olgunlaşma ve kurumayı müteakip yapılan analizlerinde tesbit edilen Zeranol miktarları (ppb)

Katılan Zeranol Miktarı	Elde Edilen zeranol miktarı	Geri Kazanım (%)
10	5.97	59.70
10	5.07	50.70
10	4.22	42.20
10	5.71	57.11
10	6.38	63.80
10	4.37	43.70
10	6.70	67.00
10	4.98	49.80
25	11.21	44.84
25	9.74	38.96
25	12.90	51.60
25	11.36	45.44
25	7.92	31.68
25	14.94	59.76
25	16.60	66.40
25	16.25	65.00
50	24.17	48.34
50	28.35	56.70
50	20.50	41.00
50	19.98	39.96
50	17.83	35.66
50	25.00	50.00
50	29.41	58.82
50	31.84	63.68
100	52.40	52.40
100	44.66	44.66
100	60.93	60.93
100	59.39	59.39
100	43.59	43.59
100	39.11	39.11
100	46.28	46.28
100	65.90	65.90

Analize alınan örnek sayısı (n) : 32
Ortalama Geri kazanım : %51.37
Standart Sapma : %+-10.04

Tablo 3: Pozitif kontrol olarak hazırlanan ve içerisinde değişik miktarlarda Des katılarak analize alınan sucuklardan elde edilen geri kazanım (%)

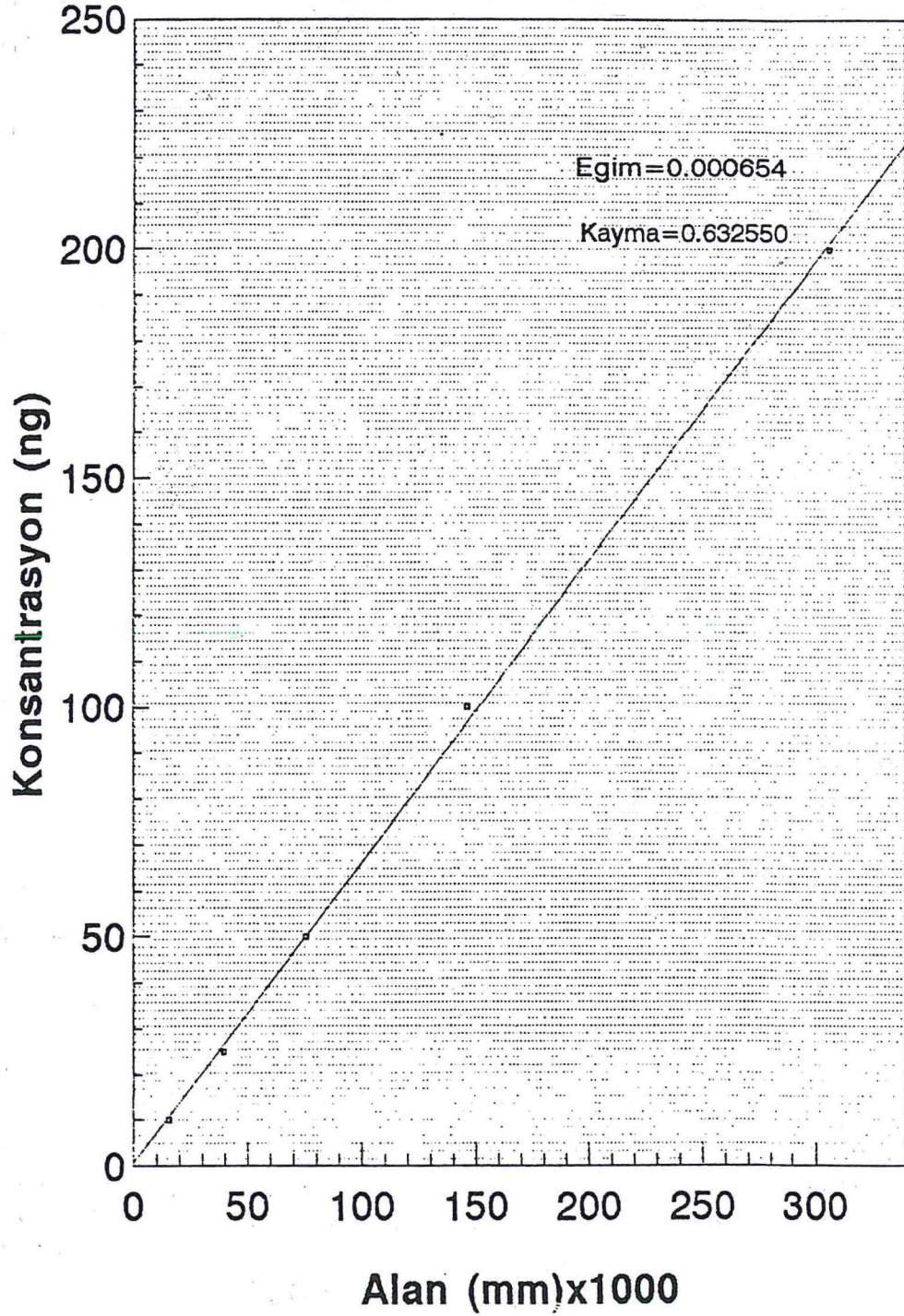
Katılan Des Miktarı (ppb)	Elde Edilen Des miktarı (ppb)	Geri Kazanım
10	6.40	64.00
10	5.89	58.90
10	6.68	66.80
10	5.30	53.00
10	6.56	65.60
10	8.11	81.10
10	9.27	92.70
10	9.45	94.50
25	16.35	65.40
25	15.06	60.24
25	14.33	57.32
25	14.82	59.28
25	15.27	61.08
25	16.66	66.64
25	16.83	67.32
25	17.09	68.36
50	27.11	54.22
50	23.65	47.30
50	28.16	56.32
50	21.95	43.90
50	20.20	40.40
50	23.04	46.08
50	29.01	58.02
50	30.62	61.24
100	63.95	63.95
100	49.24	49.24
100	44.63	44.63
100	39.38	39.38
100	63.38	63.38
100	68.34	68.34
100	71.14	71.14
100	61.33	61.33

Analize alınan örnek sayısı (n) : 32
Ortalama Geri kazanım : %60.97
Standart Sapma : %+-12.79

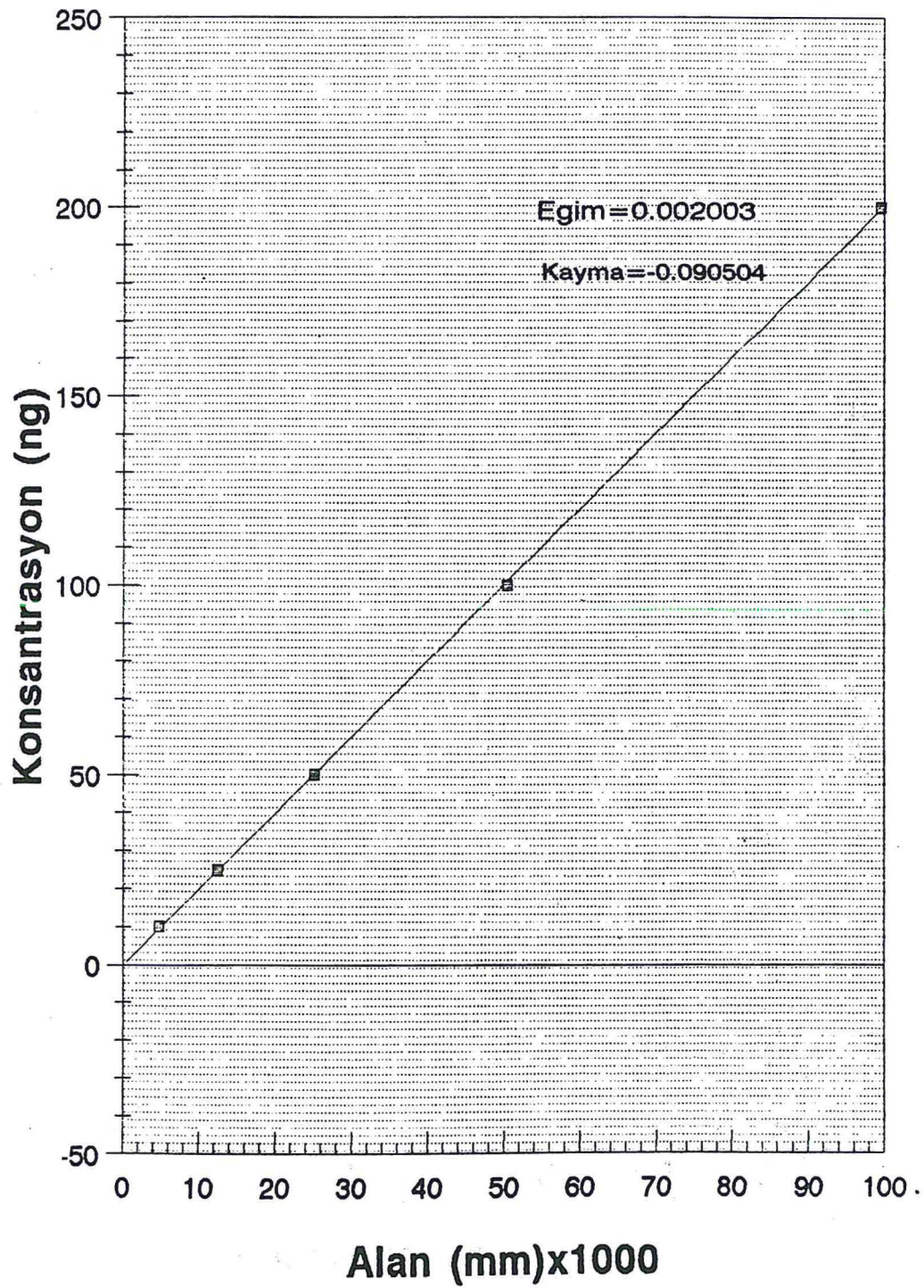
Tablo 4: Pozitif kontrol olarak hazırlanan ve içerisinde değişik miktarlarda Zeranol katılarak analize alınan sucuklardan elde edilen geri kazanım (%)

Katılan zeranol Miktarı (ppb)	Elde Edilen Zeranol miktarı (ppb)	Geri Kazanım (%)
10	5.41	54.10
10	4.90	49.00
10	5.46	54.60
10	4.59	45.90
10	4.48	44.80
10	6.89	68.90
10	5.76	57.60
10	7.29	72.90
25	11.89	47.56
25	12.18	48.72
25	11.53	46.12
25	8.23	32.92
25	12.65	50.60
25	15.60	62.40
25	17.40	69.60
25	18.11	72.44
50	27.41	54.82
50	25.28	50.56
50	19.56	39.12
50	25.64	51.28
50	31.97	63.94
50	35.07	70.14
50	29.77	59.54
50	35.79	71.58
100	46.41	46.41
100	54.18	54.18
100	57.26	57.26
100	38.36	38.36
100	37.23	37.23
100	61.60	61.60
100	65.18	65.18
100	69.17	69.17

Analize alınan örnek sayısı (n) : 32
Ortalama Geri kazanım : %55.26
Standart Sapma : %+-11.22



Sekil 1. Dietilstilbestrol için Hazırlanan Standart Kalibrasyon Eğrisi



TARTIŞMA

Anabolik steroidler büyümeyi hızlandırıcı ajanlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Avrupa topluluğu ülkelerinde bu bileşiklerin anabolizan olarak kullanımı yasaklanmıştır. Çeşitli anaboliklerin uygulama yapılan hayvan dokularındaki kalıntılarının çok düşük düzeyde olması bunların kontrollerini zorlaştırmaktadır. Halk sağlığını korumak amacıyla ve illegal bir kullanım olup olmadığını tesbiti etmek amacıyla yürütülen izleme çalışmalarında bu preparatların hayvana uygulandığı implantasyon bölgesinde ve bu bölgenin yakınındaki kas dokularından numune alınmasının teşhis yönünden önemi büyüktür. Yapılan bir çalışmada 28 mg. "Des" implante edilen sığırların uygulama bölgelerinden implantasyondan 90 gün sonra alınan numunelerde bile orijinal dozun %30'unun kaldığı tesbit edilmiştir (15). Keza bir danaya Des'in yağlı çözelti içerisinde kas içi enjeksiyonundan haftalar sonra enjeksiyon yerinde yüksek dozda "Des" saptanmış olmasına rağmen uygulama bölgesinde 25 cm. den uzak bölgeden alınan et numunelerinde en duyarlı metodlarla bile "Des" bulunamadığı bildirilmektedir (15). Donoho ve arkadaşları (2), tarafından yapılan diğer bir deneysel çalışmada üç grup sığır deneye alınmış, birinci gruptaki 25 sığıra günlük olarak tavsiye edilen en yüksek 20 mg. Des yem ile 175 gün boyunca verilmiş, ikinci gruptaki 12 sığıra yine günlük 20 mg. Des yem ile 28 gün boyunca verilmiş, son gruptaki 24 sığıra ise günlük 20 mg. Des 140 gün boyunca verilmiştir ve her üç gruptaki hayvanlardan ilacın kesilmesini takip eden günde kasaba sevk edilenlerin kas, karaciğer ve böbrek dokuları "Des" kalıntıları yönünden hassasiyeti 1-10 ppb olduğu bildirilen spesifik gas kromatografi metoduyla test edilmiş ve her üç denemede de kas dokusu numunelerinin hiçbirinde de teşhis edilebilir Des residüsü bulunamamıştır. İlacın kesilmesini müteakip 0-7. günlerde kesilen hayvanların karaciğerindeki Des kalıntıları en yüksek 9 ppb, böbreklerde ise en yüksek 17 ppb düzeyinde bulunmuştur. İlacın kesilmesinden dördüncü ve sonraki günlerde kesilen hayvanların karaciğer ve böbrek dokularında ise Des'in tesbit edilemediği bildirilmiştir. Heitzman (5) tarafından "Des" ve zeranol uygulaması yapılan koyun ve sığırların uygulamayı müteakip çeşitli doku ve vücut sıvılarının ihtiva ettikleri residü düzeyleri üzerine yapılan çalışma sonuçlarına göre 1 g. dokuda veya 1 ml. idrar, kan ve safra numunelerindeki residü miktarları Tablo (5) de görülmektedir. Hollanda'da

yapılan araştırmalarda uygulama bölgesinden alınan kas numunelerinde 10-100 mg.'a kadar residü yoğunluğu tesbit edilmiştir (9).

Tablo 5. Des ve Zeranol Uygulaması Yapılan Sığır ve Koyunların Uygulamayı Müteakip Çeşitli Doku ve Vücut Sıvılarında Tesbit Edilen Miktar (ppb)

Dokular ve Vücut Sıvısı	Residü Konsantrasyonu
Uygulama bölgesi (g)	10 ⁵ -10 ³
Kas (g)	0.05-0.5
Karaciğer (g)	0.1-5
Böbrek (g)	0.05-2
Yağ (g)	0.05-1
İdrar (ml)	0.2-100
Safra (ml)	1-1000
Feçes (g)	1-500
Kan (ml)	0.01-0.5

Bu çalışmada muhtemel uygulama bölgesi olan kulakaltı boyun bölgesinden et numunelerinin alınımına özen gösterildi tüm numuneler bu bölgelerden alındı ve beş et örneğinde sırasıyla 39.73 ppb, 53.69 ppb, 135.8 ppb, 170.8 ppb, 279.8 ppb gibi yüksek düzeyde zeranol kalıntıları tesbit edildi.

Anabolik amaçlı olarak hormonların hayvana ne şekilde uygulanmış olduğunun kalıntı riski yönünden önemi büyüktür. Kristal süspanسیونlar veya yağlı emülsiyonlar muhtemelen aylar sonra parçalanmakta ve uygulama bölgesinde yüksek dozda residü kalabilmektedir. Nitekim, 1980 yılında İtalya'da illegal bir şekilde Des'in besi hayvanlarının göğüs adalelerine enjeksiyon şeklinde uygulanması ve daha sonra bu göğüs kaslarının bebek mamalarına dönüştürülmesi ile tüketicilerin anabolik olarak hormon kullanımına karşı antipatilerinin başlamasına sebep olunmuş ve Avrupa ülkelerinde halk sağlığını korumaya yönelik rutin izleme programları başlatılmıştır. Nitekim Almanya'daki kontrollerde 1985 yılında 19-Nortestesteronun besi hayvanlarına uygulandığı tespit edilmiştir. 1988 yılındaki kontrollerde de son hormon skandalına sebep olan testesteron propionat, testesteron cyopropinat, etinilöstradiol,

metiltesteron, 19-nortesteron dekonoat tesbit edilmiş olup Des ve zeranol kalıntılarına rastlanılmamıştır (11,13).

Hollanda'da ise stilben hormonların anabolik amaçlı olarak kullanımı 1961 yılında yasaklanmış olmasına rağmen düzenli olarak rutin izleme programı 1981 yılından itibaren başlatılmıştır. 1981 yılının sekizinci ayından 1982 yılının ikinci ayına kadar 4999 numune Des yönünden analize alınmış ve bunların % 1.24 ünde Des pozitif bulunmuştur. 1982 yılında ise 3177 numune Des yönünden incelenmiş ve bunların % 1.29 unda Des tesbit edilmiştir. 1983 yılında da Des yönünden incelenen 2607 numune içerisinde % 3.92 oranında Des pozitif bulunmuştur. 1984 yılında toplam 4558 numune test edilmiş ve sadece iki numunede Des pozitif olarak bulunmuştur. 1988 yılında 3500 numune, içlerinde zeranol'ünde bulunduğu çeşitli anabolik hormonlar yönünden incelenmiş olup numunelerin hiçbirinde hormon kalıntıları tesbit edilememiştir. Bu memnuniyet verici sonuçlar üzerine 1989 yılındaki izleme programında numune sayısı 900'e düşürülmüş ve bunlarında hiçbirinde anabolik hormon residüleri bulunmamıştır (6,10).

İrlanda'da ise 1990 yılındaki kontrol programında Des yönünden 428 numune zeranol yönündende 2103 numune incelenmiş ve numunelerin hiçbirinde Des ve zeranol kalıntıları tesbit edilememiştir (8).

Avrupa Topluluğu tarafından rutin analizler için yılda 300 numunenin kontrolünün yapılması gereğine işaret edilmektedir. Yapılan bu çalışma ile 300 adet et numunesi ve buna ilaveten 100 adet sucuk ve 100 adet pastırma numunesi Des ve zeranol yönünden incelenmiş ve beş et numunesinde sırasıyla 39.73 ppb, 53.69 ppb., 135.8 ppb, 170.8 ppb ve 279.8 ppb gibi yüksek düzeyde zeranol kalıntısı tesbit edilmiştir. Böyle yüksek değerlerin tesbit edilmesi, yukarıda da değinildiği gibi numunelerin muhtemel uygulama bölgelerinden alınmış olması ve uygulanan orijinal dozun büyük bir kısmının uygulama bölgesinde, uygulamanın üzerinden aylar geçmiş olmasına rağmen tam absorbe olmadan kalması ile izah edilebilir. Bu sonuçlara göre yurdumuzda'da besi hayvanlarında anabolik amaçlı olarak zeranol'ün kullanıldığı sonucuna varılmıştır. Keza yurdumuzda besi hayvanlarına uygulanan anabolik hormonların kullanımları ve uygulama yapılmış hayvanların et ve dokularındaki kalıntı miktarları ile ilgili yasal düzenlemeler bulunmadığı için elde edilen sonuçları WHO teşkilatının belirlediği sınırlar çerçevesinde değerlendirme zorunluluğu vardır. Bilindiği gibi

WHO teşkilatı "Des" için 1979 yılından itibaren tüm ülkelerde anabolik amaçlı olarak çiftlik hayvanlarında kullanılmasını yasaklamış ve bununla ilgili kabul edilebilir kalıntı miktarlarını belirlememiştir. Keza doğal endojen hormonlar olan testesteron, progesteron ve östradiol-17 B'nin gerek insanlarda ve gerekse hayvan vücudunda doğal olarak salgılandığını ve bunların hayvanlara dışarıdan verilmesi ile yenilebilen dokulara geçen miktarların çok düşük düzeyde olduğunu göze alarak insanlar için günlük alınabilecek maksimum dozu ve etlerde bulunabilecek kalıntı miktarlarının belirlenmesini gereksiz bulmuştur. Zeranol için ise kesimi yapılan hayvanların etlerinde kalabilecek kabul edilebilir kalıntı miktarını 2 ppb olarak belirlemiştir. Araştırma sonuçları bu değerlere göre kıyaslanırsa analize alınan sucuk, pastırma ve et numuneleri'nin hiçbirinde Des'in tesbit edilmediğini, keza sucuk ve pastırma numunelerinin de zeranol yönünden menfi bulunduğunu ve dolayısıyla sonuçların memnuniyet verici olduğu söylenebilir. Diğer taraftan analize alınan 300 adet et numunesinde ise % 1.66 oranında zeranol müsbet bulunmuş olup tesbit edilen değerler WHO teşkilatı kriterlerinin çok üstündedir. Araştırmanın ikinci bölümünde ise fermente sucukların yapımı ve olgunlaşması periyodu boyunca Des ve zeranol'ün miktarı olarak nasıl etkilendiklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Sucuklara uygulanan ekstraksiyonun materyal ve metod kısmında belirtildiği gibi gaz kromatograf şartlarında geri kazanım (Recovery) yüzdeleri Des için % 60.97, zeranol için % 55.26 olarak tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar sucuk hamuruna aynı düzeyde standartların katılmasıyla deneysel olarak hazırlanmış olan ve olgunlaşma işlemine tabi tutulan sucuk numunelerinden elde edilen Des ve zeranol'ün geri kazanım yüzdeleri (Des % 59.23, Zeranol % 51.37) ile paralellik göstermekte olup, istatistiki yönden önemli bir farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak Des ve Zeranol'ün sucukların olgunlaşması sırasında cereyan eden biyokimyasal olaylardan etkilenmediği ve miktarı olarak bir azalmanın söz konusu olmadığı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Becker, N. (1981). "Wöglichkeiten zur Chromatographischen Erfassung von Hormon-Rückständen in Lebensmitteln, suppl. chromatographie, 14-20.
2. Donoho, L.A., Johnson, S.W., Sheck, F.R., and Sullivan, L.W. (1973). "Gas chromatographic determination of diethylstilbestrol and its glucuronide in cattle tissues", J.Assoc. off anal, chem. 56.
3. Durbeck, W.H , Buker, I. (1983). Einfaches GC, MS-verfahren zur bestimmung von diethylstilbestrol und verwandter stilbenderivate in fleisch und fleischproducten. Fresenius Z.anal. chem 315: 479-485.
4. Food and Drug Administration (1975) Washington D.C. Federal Register, Vol. 40, No: 60.
5. Heitzman, R.I., (1987). "Concentration of residus of anabolic agents in animal tissues.
6. Hollanda Tarım Ateşeliği (1990). "Hollanda'daki hormon kontrol uygulamaları".
- 7."International Minerals Chemical Corporation". Veterinary Product Division, 23, 188.
8. Irish residue testing plan for fresh meat. (1990).
9. Jansen, E.H.J.M., Blitterswijk, V. and Staphany, R.W. (1984) "Monitoring and identification of residues of anabolic preparations in slaughtered cattle by HPLC with diode array detection. The Veterinary Quartely, Vol, 6, No.2.
10. Jansen, E.H.J.M., Stephany, W.R. (1985). "Effective control for diethylstilbestrol in cattle in the Netherlands.
11. Karg, H. (1988). "Hormon skandale-und keine ende, revidierte fassung vom. pressedienst der Duetschen Lendwirts chaft gesellschaftevam 29 Aug. (1988) herausgegehenen mitteilun, 1-9. 1988.
12. Lamming G.E. (1987). "Scientific report on anabolik agents in animal production". Vet. Rec, 389-392.
13. Meyer, H.H.D., Herges, C., Londeweher, M., Karg, K. (1985). "Möglichkeiten der erkennung des illegaten einsaten von ostradiol benzoat in der kalbermast durch steroidstrojen bestimmung in kat and blut plasma. Arch.
14. Sawyer, G.J. and Barker, D.J. (1988). "Growth Promotants in cattle in Avustralia. Aust. Vet. Journal, 65(4): 101-108.

15. Schulze, K. (1981) Ostrogene in lebensmittelnderen bedetung und auswirkungen auf die menschliche gesundheit sowie nachweis verfahren". Fleischwirtsch, 61, 11:1-6.

16. Stan, H.J., Abraham, B. (1980). "Determination of anabolic drugs in meat by GC-MS. Journal of chromatography, 195: 231-241.

17. Tunistra, L.G.M. Th., Traag, W.A., Keukens, H.J. and Van Mazuk, R.J. (1983). "Procedur for the GC-MS confirmation of some exogenous growth-promoting compounds in the urine of cattle". Journal of chromatography, 279: 533-542.

18. Yıldırım, Y. (1977). "Et teknolojisi ders notlari." A.Ü. Basımevi.