



Bazı Karma Yemlerde Çeşitli Anabolik Steroitlerin Tespiti Determination of Various Anabolic Steroids in Some Mixed Feeds

Vesile ÇETİN¹, Ali ÖZCAN², İsmail AZAR³, Arzu YAVUZ⁴, Neslihan TURAN⁵

¹ Dr. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa

² Vet. Hek. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa

³ Ziraat Yük. Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa

⁴ Gıda Yük. Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa

⁵ Gıda Yük. Müh. Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa

Özet

Ülkemizde dahil olmak üzere bir çok ülkede hayvansal protein açığı vardır ve gün geçtikçe hızlı nüfus artışına bağlı olarak bu açık büyümektedir. Bu açığın kapatılması gerekmektedir. Bunu sağlamak için, hayvanların bakım ve beslenmesi ile genetik yapısının iyileştirilmesi yanında, besi durumu ve verimlerini artırmak amacıyla gelişmeyi hızlandırıcı maddeler kullanılmaktadır. Bunlar; anabolik maddeler, antibiyotikler, vitamin ve mineraller, rumen sindirimi değiştiricileri, Nöroleptikler, b-2 reseptör uyarıcıları, Enzim ve bakteri kültürleridir.

"Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik (RG-27.12.2011-28155)" gereği karma yemlere her türlü hormon ve hormon benzeri maddelerin katılması yasaktır.

Çalışma, öncelikle yemlerde kullanılan anabolizan maddelerin (Hormonlar) (Testosterone, 17 Alfa Methyltestosterone, Progesterone, Melengestrol acetate, Trenbolone acetate, Beta estradiol, Alfa estradiol, Ethinyl estradiol) tespitine uygun bir LC-MS/MS metodu geliştirilerek, özellikle broiler, büyükbaş ve küçükbaş besi yemlerinde bu anabolik steroidlerin kullanılıp kullanılmadığını tespit etmek için yapılmıştır. Projede öncelikle metod validasyonu yapılmış ve 2015-2016 yılı içerisinde enstitümüze gelen 295 numunede bu metod kullanılarak analizler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anabolizan Maddeler, Broiler Yemi, Büyükbaş ve Küçükbaş Besi Yemi, LC-MS/MS, Metod Validasyon.

Abstract

In many countries, including our country, have animal protein deficiencies and this deficiency is growing due to the rapid population growth day by day. To get over this, besides the improvement of the care and feeding operations and animals genetic structure, in order to increase efficiency and growth the accelerating agents are used. These agents are; anabolic substances, antibiotics, vitamins and minerals, rumen modifiers digestion, neuroleptics, b-2 receptor stimulators, enzymes and bacterial cultures.

Addition of all kind of hormones and hormone-like substances to mixed feeds is prohibited by the "Regulation on Placing on the Market and Usage of Animal Feeds (RG-28155-27/12/2011)"

This study was carried out to develop an LC-MS/MS method suitable for the determination of anabolic substances (Hormones) (Testosterone, 17 Alfa Methyltestosterone, Progesterone, Melengestrol acetate, Trenbolone acetate, Beta estradiol, Alfa estradiol, Ethinyl estradiol) used in feeds, in particular to determine whether these anabolic steroids were used in broiler, cattle and sheep feeds. In the project, firstly method validation was made and by using this method 295 samples that came to the our institute in 2015-2016 was analyzed and the results were evaluated.

Key Words: Anabolic Agents, Broliu Cattle Feed, Cattle and Sheep Fattening Feed, LC-MS/MS, Method Validation

1. Giriş

Giderek ve artan dünya nüfusu ve yaşam standardının yükselmesi fazla miktarda ve iyi nitelikli hayvansal kaynaklı besinlerin üretilmesini zorunlu kılmaktadır. Bunu sağlamak için, hayvanların bakım ve beslenmesi ile genetik yapısının iyileştirilmesi yanında, besi durumlarını ve verimlerini artırmak amacıyla yem katkı maddeleri; antibiyotikler, iyonoforlar, hormon etkisine sahip büyüme ajanları gibi maddelerin kullanılması önemli yer tutmaktadır (Kaya ve ark. 1997).

Kırmızı et ve beyaz et üretiminde gelişmeyi hızlandırıcı ve semirtici amaçla yaygın olarak hormon etkisine sahip büyüme ajanları kullanılmaktadır. Bu bileşiklerin uygulanması hayvanda genel olarak, protein sentezinde artış, sindirim kanalının proteolitik aktivitesinde gelişme, bağırsaktan aminoasit absorpsiyonu ve kaslardaki proteolitik aktivitenin yükselmesini sağlayabilmektedir (Arıman ve Aras 2002)

Türkiye'de karma yemlere ilave edilen büyütme artırıcı maddelerden her türlü hormon ve hormon benzeri maddeler ile antibiyotiklerin kullanımı "Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik" gereği yasaklanmıştır. Kullanımına izin verilenler hariç antikoksidiyaller ve ilaç niteliğinde olan diğer maddelerin kullanımı da yasaklanmıştır (Anonim 2011a).

Organizmada meydana gelen yıkım faaliyetlerine katabolizma, yapım faaliyetlerine anabolizma, her ikisine birden metabolizma denilmektedir. Anabolizmayı yani vücuttaki sentez faaliyetlerini arttıran maddelere de anabolik etkili veya anabolizan maddeler adı verilir. Anabolizan maddeler arasında hormon ve hormon benzeri etki gösteren maddeler önemli bir yer tutmaktadır. Fizyolojik koşullarda bir hücre veya hücre grubunca üretilip kan ve lenf dolaşımına verilen, bu yolla uzaktaki organ ve dokulara iletilen, bu doku ve organların görevlerini etkileyen kimyasal maddelere hormon denilmektedir. Anabolizanlar, yemle alınan proteinlerin daha fazla miktarlarda vücutta kalmasına neden olarak canlı ağırlık artısını yükseltmektedir. Bu maddeler günümüzde yem ve suya katılabilen veya bazı hayvanlara implante edilebilen farmasötik ajanlar olarak kabul edilirler (Anonim 2013).

Hormon kullanımında elbette en önemli husus üretilen etlerin insan sağlığına zarar vermemesidir. Çeşitli preparatlar için 60-90 gün arasında değişen kesimden önceki son kullanma zamanına dikkat edilmelidir. Et üretimi amacıyla kullanılan hormonların uygulama yapılan hayvan etlerinde insan sağlığına zarar verecek miktarda rezidü bırakıp bırakmadığı tartışma konusu olmuştur. Alınan hormonun miktarı ne kadar az olursa olsun, vücutta hormonal dengeyi olumsuz yönde etkileyerek, sağlığa zarar verdiği ve karsinojenik ve mutajenik etkisi de bulunduğu savunulmaktadır. Özellikle doğal hormonlar, hayvanların yenebilen dokularına enjekte edilir ve bu hormon depoları insanlar tarafından tüketilirse tehlike arz ettiği belirtilmektedir (Tuncer 2007).

Hormon benzeri maddelerin doğal olarak elde edilmeleri son derece güçtür. Örneğin 1 g tiroid hormonu tiroksin 700 koyundan, yine böbrek üstü kortisoinin hormonu cortin 2500 sığırdan ve 1 g östrojende 15-20 milyon domuzdan elde edilmektedir. Dolayısıyla bu kadar güç elde edilenler yem katkı maddesi olarak kullanılmamaktadır. Bu hormonların doğrudan hayvanlara verilmesi pahalı olması nedeniyle sentetik olarak elde edilen benzeri maddeler aynı amaçla kullanılmaktadır (Tuncer 2007).

Hormonlar kimyasal yönden ya steroid ya da protein yapısında olurlar. Steroid yapılu 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 yapılu hormonlar bir etki oluşturmak için vücutta enjeksiyonla verilmelidir.

Anabolik maddeler vücutta azotun tutulmasına, proteinler ve amino asitlerin parçalanmasının azalmasına yol açarak kas ve yağ kitlesini artırır; vücutta, azot yanında, sodyum, potasyum, kükürt, fosfor ve klorun tutulmasına da sebep olurlar (Yarsan 2013).

Anabolik maddelerin sınıflandırılması özellikleri aşağıdaki gibidir;

- İlk grupta; vücutta şekillenen doğal steroid hormonlar (testosteron, östradiol 17 β , progesteron)
- İkinci grupta; doğal hormonların yarı-sentetik ve sentetik türevleri ve esterleri (benzoat, enantat, ...)
 - Testosteron türevleri (boldenon, stanazolol, ...)
 - 19-nortestosteron türevleri (nandrolon, miboleron, trenbolon)
 - Progesteron benzerleri (melengesterol asetat)
- Üçüncü grupta steroid yapılu olmayan stilbenler (DES)
 - Büyüme hormonu, somatotropin, somatomedinler, zeranol (Yarsan 2013).

Östradiol, progesteron ve testosteron hayvanlar tarafından üretilen doğal yapılu cinsiyet hormonları olduğu için hayvanlara dışarıdan uygulanan ile kendi vücutlarında bulunanları ayırt etmek mümkün olmadığından düzenli kalıntı izleme mümkün değildir. Bununla beraber zeranol ve trenbolon asetat kalıntılarını belirlemek mümkündür.

Avrupa Birliğinde, 1981 yılında Oestradiol 17 β , Testosterone, Progesterone, Zeranol, Trenbolone acetate, Melengestrol acetate'ın yem katkısı olarak kullanımı (81/602/EC) sayılı kararla yasaklanmıştır (Tuncer 2007).

Türkiye'de Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik gereği karma yemlere her türlü hormon ve hormon benzeri maddelerin katılması yasaktır (Anonim 2011a).

Bu çalışma, öncelikle yemlerde kullanılacak anabolizan maddelerin (Hormonlar) (Testosterone, 17 Alfa Methyltestosterone, Progesterone, Melengestrol acetate, Trenbolone acetate, Beta estradiol, Alfa estradiol, Ethinyl estradiol) varlığını tespit etmek amacıyla geliştirilen LC-MS/MS metodu kullanılarak, özellikle broiler, büyükbaş ve küçükbaş besi yemlerinde bu anabolik steroidlerin kullanılıp kullanılmadığını tespit etmek için yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Yemlere teknolojik olarak katılması muhtemel hormonlar steroid yapıda olanlardır. Bu çalışmada aşağıda Çizelge 1'de verilen standart maddeler kullanılmıştır.

Çizelge 1. Kullanılan Standart Maddeler

	Standart Adı	Cas No	Firma	Katalog No
1	Testosterone	58-22-0	Dr. Ehrenstofer GmbH	C17322500
2	17 Alfa Methyltestosterone	58-18-4	Dr. Ehrenstofer GmbH	C15144000
3	Progesterone	57-83-0	Dr. Ehrenstofer GmbH	C16342000
4	Melengestrol acetate	2919-66-6	Dr. Ehrenstofer GmbH	C14861700
5	Trenbolone	10161-33-8	Dr. Ehrenstofer GmbH	CA17607700
6	Beta estradiol	50-28-2	Dr. Ehrenstofer GmbH	C13213100
7	Alfa estradiol	57-91-0	Dr. Ehrenstofer GmbH	C13213000
8	Ethinyl estradiol	57-63-6	FLUKA	02463

Yemlerin Resmi Kontrolü, Numune Alma, Onay - Kayıt ve Yemlerin Piyasaya Arzı Hakkında Uygulama Talimatı'nda belirlenen yem tiplerinden çalışmada kullanılanlar aşağıda belirtilmiştir (Anonim 2012).

Broiler Yemleri

Etlik Cıvciv Başlangıç Yemi
Etlik Cıvciv Yemi
Etlik Piliç Yemi
Kesim Öncesi Etlik Piliç Yemi

Büyükbaş ve Küçükbaş Besi Yemleri

Kuzu Besi Yemi
Toklu Besi Yemi
Buzağı Büyütme Yemi
Sığır Besi Yemi
Boğa Yemi

Yemlerde anabolizan maddelerin tespiti için Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'ne analiz amaçlı gönderilen yem numuneleri analiz materyali için kullanılmıştır. Broiler, büyükbaş ve küçükbaş besi yemleri grubundan gelen örnekler 2 paralelli ve 2'şer enjeksiyonlu olarak çalışılmıştır. Her bir grubun altındaki yem çeşitlerinden 30'ar örnek analiz edilmesi planlanmış fakat gerçekleşme sayıları farklı olmuştur.

2.2. Yöntem

2.2.1. Numunenin Ekstraksiyonu

Yemler ve yem maddeleri blenderde öğütülerek homojen hale getirilir. 50 ml'lik santrifüj tüpüne 2g numune tartılır. 10ml ekstraksiyon çözeltisi (%90MeOH+%10Su+%0,2 Formik Asit) ilave edilir. 15 dakika çalkalayıcıda karıştırılır. 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonunda üstteki berrak çözeltiden enjektör yardımı ile numune alınır ve enjektöre takılan 0,20 μ m selüloz filtreden süzülerek HPLC flakonuna alınır ve LC-MS/MS sistemine 5 μ l enjeksiyon yapılır (Anonim 2011b, Anonim 2015 ve Mark ve ark. 2011).

Analizde kullanılan LC MS/MS parametreleri Çizelge 2, Autosampler parametreleri Çizelge 3 ve LC Time Programı ise Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 2. LC MS/MS Parametreleri

Ionization Mode	ESI(+),ESI(-)
Total Flow	0,4 mL/min
Oven Temperature	40 °C
Desolvation Gas Flow	550 L/h
Source Temperature	150 °C
Desolvation Temperature	250 °C
Capillary voltage	3 kV

Çizelge 3. Autosampler Parametreleri

Injection Volume	5 µL
Cooler Temperature	10 °C

Çizelge 4. LC Time Programı

Zaman (dk)	Akış (ml/dk)	Pump A %	Pamp B %
0	0,4	90	10
1	0,4	90	10
3	0,4	40	60
3,5	0,4	10	90
4	0,4	10	90
4,01	0,4	90	10
5	0,4	90	10

Mobil fazlar aşağıda görüldüğü gibidir.

Mobil Faz A: Su 0,05mM Amonyum Floride

Mobil Faz B: ACN:MeOH 50:50(v/v)

Sonuç Hesaplama: Kalibrasyon standartları örnekteki konsantrasyonlar üzerinden hazırlandığından cihazda okunan değer doğrudan sonuç olarak verilir.

2.2.2.Metot Validasyonu

Metod validasyonunda aşağıdaki parametreler çalışılmıştır.

- Doğrusallık
- Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)
- Kesinlik
 - Tekrarlanabilirlik
 - Tekrarüretilebilirlik
- Doğruluk (Geri Kazanım)

3. Bulgular

3.1. Metot Validasyonu

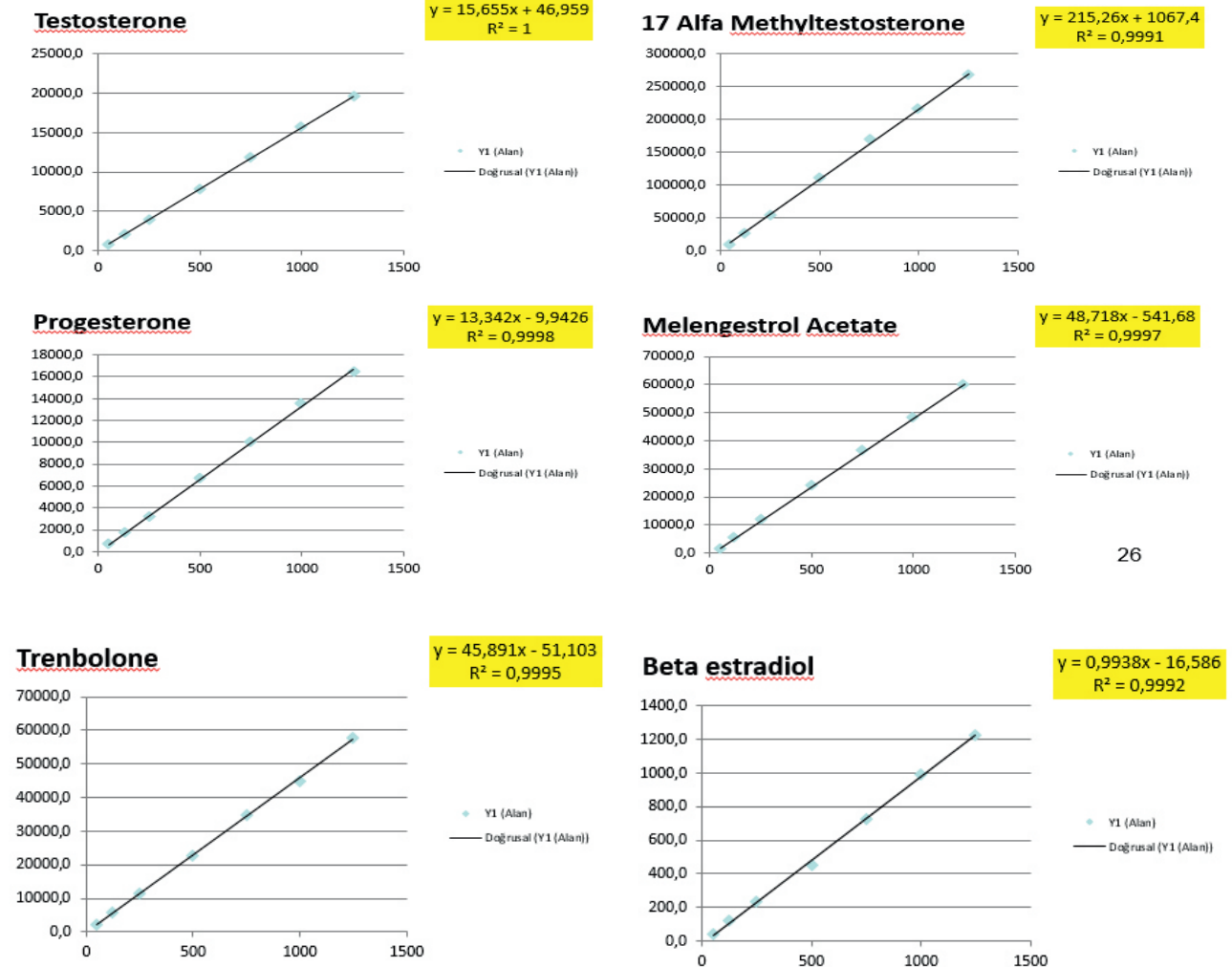
Projemizde adı geçen standartlar temin edildikten sonra bu standartların cihaza tanıtımları yapıp ana iyon ve parçalanma ürünleri tespit edilmiştir (Çizelge 5).

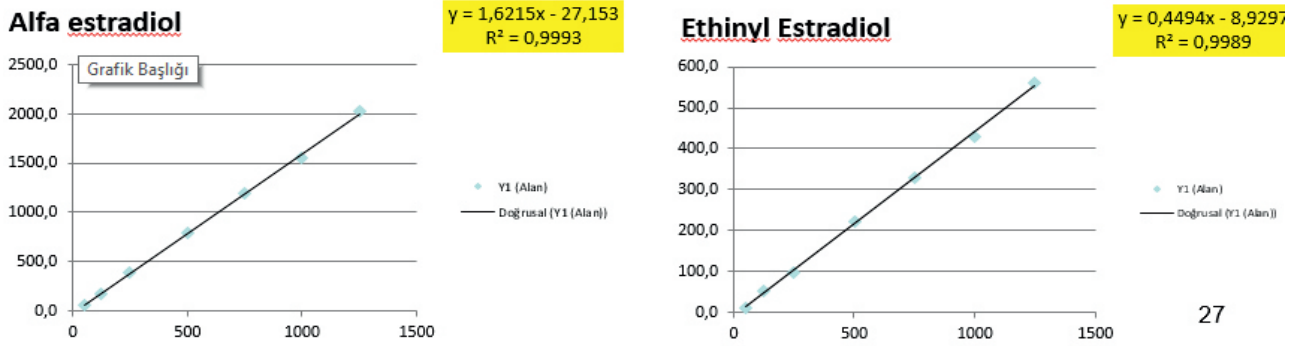
Çizelge 5. Analitler ve Kütle Spektrometresi Bilgileri

	Standart Adı	Precursor m/z	Product 1 m/z	Product 2 m/z	Product 3 m/z
1	Testosterone	289,10	96,90	108,90	253,10
2	17 Alfa Methyltestosterone	303,10	96,90	108,90	
3	Progesterone	315,10	96,90	108,90	
4	Melengestrol acetate	397,15	236,00	279,10	337,10
5	Trenbolone acetate	271,10	106,90	199,00	253,00
6	Beta estradiol	270,90	144,80	182,90	
7	Alfa estradiol	270,90	144,80	182,90	
8	Ethinyl Estradiol	294,90	145,00	269,00	

3.1.1. Doğrusallık

Doğrusallık çalışmalarında kullanılan standartlar mix olarak hazırlanmış ve 50-1250 µg/kg uygun konsantrasyon aralığında doğrusallık çalışması yapılmıştır. Her bir analit için doğrusal aralık belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen residualler performansın göstergesidir ve her bir konsantrasyon düzeyi için residual değeri $\leq \pm 20\%$ olmuştur. Doğrusal Aralık $R^2 \geq 0,99$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).





Şekil 1. Analitlere ait Doğrusallık Grafikleri

3.1.2. Tespit Limiti (LoD) ve Tayin Limiti (LoQ)

Blank matrix üzerine her bir analit için 125 ppb konsantrasyonda standart ilave edilerek ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bu şekilde hazırlanmış olan örneklerin LC-MS-MS cihazına enjeksiyonu sonucunda elde edilen değerlerin standart sapması bulunarak Tespit Limiti (LoD) ve Tayin Limiti (LoQ) aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır. (Çizelge 6).

$$\text{Tespit Limiti (LoD)} = C_0 + 3SD$$

$$\text{Tayin Limiti (LoQ)} = C_0 + 10SD$$

$$C_0 = \text{Blank örneğe eklenen konsantrasyon}$$

Çizelge 6. Tespit Limiti (LoD) ve Tayin Limiti (LoQ) Değerleri

Analitler	Tayin Limiti (LoD) µg/kg	Ölçüm Limiti (LoQ) µg/kg
Testosterone	132,73	150,78
17 Alfa Methyltestosterone	135,41	159,68
Progesterone	138,49	169,95
Melengestrol acetate	143,12	185,39
Trenbolone acetate	135,97	161,57
Beta estradiol	140,58	176,93
Alfa estradiol	143,82	187,75
Ethinyl Estradiol	147,01	198,35

3.1.3. Kesinlik

3.1.3.1. Tekrarlanabilirlik ve Tekrarüretilebilirlik

Tekrarlanabilirlik: Hormonsuz yem numunesine spike yapılan örnekler aynı gün içinde 6 defa analize alınarak elde edilen sonuçların %RSD değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 7).

Tekrarüretilebilirlik: Hormonsuz yem numunesine spike yapılan örnekler farklı günlerde (3 gün) içinde 6 defa analize alınarak elde edilen sonuçların %RSD değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 7).

Çizelge 7. Tekrarlanabilirlik (%RSD) ve Tekrarüretilebilirlik (%RSD) Değerleri

Analitler	Tekrarlanabilirlik (%RSD)	Tekrarüretilebilirlik (%RSD)
Testosterone	2,70	6,67
17 Alfa Methyltestosterone	1,04	4,30
Progesterone	6,41	9,44
Melengestrol acetate	6,13	10,29
Trenbolone acetate	1,47	4,61
Beta estradiol	8,66	9,81
Alfa estradiol	7,18	8,69
Ethinyl Estradiol	12,34	11,37

3.1.4. Geri Kazanım

Geri kazanım oranı 250 ve 750 ppb konsantrasyonlarda standart ilave edilerek hazırlanan örnek ile test edilmiştir. Geri kazanım oranları aşağıda Çizelge 8’de verilmiştir

Çizelge 8. Geri kazanım Değerleri (%)

Analitler	Geri Kazanım (%)
Testosterone	97,91
17 Alfa Methyltestosterone	100,90
Progesterone	101,55
Melengestrol acetate	92,05
Trenbolone acetate	100,39
Beta estradiol	98,50
Alfa estradiol	98,25
Ethinyl Estradiol	94,94

3.1.5. Ölçüm Belirsizliği Tahmini/Hesaplanması

Ölçüm belirsizliği hesaplanmasında aşağıda verilen parametreler kullanılmıştır;

- Kalibrasyon Eğrisi Belirsizliği
- Kesinlik
 - Tekrarlanabilirlik
 - Tekrarüretilebilirlik
- Doğruluk (Geri Kazanım)

Bu verilerden faydalanarak elde edilen değerler Çizelge 9’da verilmiştir

Çizelge 9. Genişletilmiş Rölatif Belirsizlik (%) Değerleri

Analitler	Genişletilmiş Rölatif Belirsizlik (%) (250 µg/kg için)
Testosterone	14,69
17 Alfa Methyltestosterone	11,06
Progesterone	23,29
Melengestrol acetate	24,55
Trenbolone acetate	10,86
Beta estradiol	27,09
Alfa estradiol	23,40
Ethinyl Estradiol	34,58

3.2. Proje Uygulama Bulguları

Projenin sürdürüldüğü 2015-2016 yıllarında enstitümüze analiz için gelen numunelerden uygun olanlar analize alınmıştır. Özellikle broiler yemlerinde hedeflenen sayıda numune temin edilmiştir. Hatta hedeflenen numuneden fazlası analize alınmıştır. Büyükbaş ve küçükbaş besi yemlerinde ise hedeflenen sayılara ulaşılamamıştır. Bazı tiplerde enstitümüze izleme kapsamında numune gelmiştir (Çizelge 10). Enstitümüze gelen numuneler Testosterone, 17 Alfa Methyltestosterone, Progesterone, Melengestrol acetate, Trenbolone acetate, Beta estradiol, Alfa estradiol, Ethinyl estradiol yönünden analiz edilip incelediğinde bu analitler açısından tespit limiti seviyesinde bir kalıntı miktarına rastlanmamıştır.

Çizelge 10. Projede Hedeflenen ve Analiz Edilen Numune Sayıları

Yem Tipleri	Hedeflenen Numune Sayısı	Analiz Edilen Numune Sayısı
Etlik Cıvciv Başlangıç Yemi	30	55
Etlik Cıvciv Yemi	30	82
Etlik Piliç Yemi	30	61
Kesim Öncesi Etlik Piliç Yemi	30	40
Kuzu Besi Yemi	30	13
Toklu Besi Yemi	30	1
Buzağı Büyütme Yemi	30	8
Sığır Besi Yemi	30	35
Boğa Yemi	30	0
TOPLAM	270	295

4. Tartışma ve Sonuç:

Bu çalışmanın tamamlanmasıyla ele alınan anabolizan maddelerin (Testosterone, 17 Alfa Methyltestosterone, Progesterone, Melengestrol acetate, Trenbolone acetate, Beta estradiol, Alfa estradiol, Ethinyl Estradiol) tespitine uygun bir LC-MS/MS metodu geliştirilmiştir.

Çalışma kapsamında analizi yapılan örnekler bakanlığımızın denetim faaliyetleri kapsamında ülkemizin çeşitli illerinden alınan numunelerden oluşmaktadır. Bu örneklerin hiçbirinde projedeki maddelere rastlanılmamış olması bu maddelerin yemlere katılarak kullanılmalarının yaygın olmadığı sonucunu düşündürmektedir.

Bu çalışma kapsamında analizi yapılan numune sayısı kısıtlı olmuştur. Ancak bu analizin önümüzdeki yıllarda rutin denetim kapsamına alınması sonucunda, örnekler genişletilerek söz konusu yasaklı maddelerin risk denetimi açısından daha sağlıklı verileri elde edileceği düşünülmektedir.

5. Kaynaklar

- Anonim, 2011a. Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik. RG-27.12.2011-28155
- Anonim, 2011b. AOAC Official Method 997.04-Monensin in Premix and Animal Feeds
- Anonim, 2012. Yemlerin Resmi Kontrolü, Numune Alma, Onay - Kayıt ve Yemlerin Piyasaya Arzı Hakkında Uygulama Talimatı. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının B.12.0.GKG.0.09.01.00-Sayılı Yazısı.
- Anonim, 2015. Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures Foresticide Residues Analysis In Food And Feed (Sante/11945/2015)
- Anonim, 2013. Hormones. Erisim: http://europa.eu.int/comm/food/food/chemical_safety/contaminants/hormones/index_en.htm Erisim Tarihi: 2013).
- Arıman H. ve Aras N. M., 2002.Hormon ve hormon etkisine sahip yem katkı maddelerinin Balık yetiştiriciliğindeki kullanımı. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2002, cilt/volüm 19, sayı (3-4):545-553.
- Aynagöz Z., 1993. Hormon ve benzeri maddelerin hayvan beslemede kullanılması, Doktora Semineri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kaya, S., Pirinççi, İ ve Bilgili, A., 1997.Pharmacology with Veterinary Application.C2011ilt 2, Yayın seri no:28, ankara, s 259-267.
- Cronly, M., Behan, P., Foley, B., Malone, E., Shearon, P. and Regan, L., 2011. Determination of eleven coccidiostats in animal feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry at cross contamination levels. *Analytica Chimica Acta* 700(2011)26-33
- Tuncer, İ., 2007. Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antikoksidiyal ve İlaçlar (Derleme) *Lalahan Hay.Araşt. Ens. Derg.* 2007,47 (1)29-37.
- Yarsan, E., 2013. Gelişmeyi Hızlandırıcı Maddeler <http://www.enderyarsan.net/Anabolik.php>, 2016)