

## Sığır Etlerinde Zeranol, Dietilstilbestrol, Klenbuterol, 17β-Östradiol ve Testosteron Kalıntıları

H. Hüseyin ORUÇ\* Murat CENGİZ\*\* Deniz BAĞDAŞ\*\* İlknur UZUNOĞLU\*\*

Geliş Tarihi: 26.01.2007  
Kabul Tarihi: 19.02.2007

**Özet:** Bu çalışmanın amacı, Bursa’da tüketime sunulan sığır etlerinde zeranol, dietilstilbestrol (DES), klenbuterol, 17β-östradiol ve testosteron gibi bazı anabolizan maddelerin kalıntılarını tespit etmektir. Numuneler, 2006 yılı Ocak ile Eylül ayları arasında toplandı ve yine aynı dönemde zeranol ( $n=81$ ), DES ( $n=80$ ), klenbuterol ( $n=72$ ), 17β-östradiol ( $n=29$ ) ve testosteron ( $n=29$ ) analizleri ELISA tekniği ile yapıldı. Zeranol iki örnekte (%2.5), DES 11 örnekte (%14) ve testosteron üç örnekte (%10) tespit edildi. Örneklerde klenbuterol ve 17β-östradiol tespit edilemedi. Türkiye’de, anabolik maddelerin besi sığırlarında, büyümeyi ve yemden yararlanmayı arttırmak amacıyla kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen illegal olarak kullanılabildiği ve saptanan anabolizan maddelerin kalıntılarının halk sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Sığır eti; Zeranol; Dietilstilbestrol (DES); Klenbuterol; 17β-östradiol; Testosteron.

### Zeranol, Diethylstilbestrol (DES), Clenbuterol, 17β-oestradiol and Testosterone Residues in Cattle Meat

**Summary:** The aim of the study was to determine anabolic agent residues including zeranol, diethylstilbestrol (DES), clenbuterol, 17β-oestradiol and testosterone in cattle meats consumed in Bursa province. The samples were collected and analysed from January to September of 2006. Zeranol ( $n=81$ ), DES ( $n=80$ ), clenbuterol ( $n=72$ ), 17β-oestradiol ( $n=29$ ) and testosterone ( $n=29$ ) residues were analysed by ELISA technique. Zeranol, DES and testosterone were detected in two (2.5%), in 11 (14%) and in three (10%) of meat samples, respectively. Clenbuterol and 17β-oestradiol residues were not detected in any of the samples. It is concluded from the results that although the use of anabolic agents are banned in Turkey, some anabolic agents have been used illegally in beef cattles to improve the growth rate and feed efficiency, and the residues impose risks for public health.

**Key Words:** Cattle meat; Zeranol; Diethylstilbestrol (DES); Clenbuterol; 17β-oestradiol; Testosterone.

### Giriş

Anabolik ajanlar sığır, koyun ve diğer evcil hayvanlarda büyümeyi arttıran ve canlı ağırlık artışına neden olan maddelerdir. Bu etkilerini protein sentezini uyararak ve yağ dokuyu azaltarak gösterirler<sup>16,26</sup>. Besi hayvanlarında kullanılan anabolik ajanlar kimyasal yapılarına göre “Doğal (endojen) hormonlar, Anabolik (sentetik)

steroidler ve Yapay (sentetik nonsteroid) östrojenler” olarak üç ana grupta toplanabilir. Doğal endojen hormonlar androjenler (testosteron gibi), östrojenler (östradiol ve türevleri, fitoöstrojenler / genestein gibi, mikoöstrojenler/zeranol gibi) ve progestajenlerdir (progesteron gibi). Anabolik steroidler testosteronun türevi olup, bir kısmı anabolizan olarak kullanılmaktadır. Bunlar, 19-nortestosteron, 17-α alkiltestosteron, dihidrotes-

\* Yrd. Doç. Dr. Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

\*\* Araş. Gör. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye.

tosteron ve androstenodion türevleri ile diğer türevler olarak sınıflandırılabilir. Yapay östrojenler ise dietilstilbestrol (DES), hekzestol, dienestrol ve etinilstandrol gibi maddelerdir.<sup>14,15,24,25</sup>

Evcil hayvanlarda canlı ağırlık artışı sağlamak ve yemden yararlanma oranını arttırmak amacıyla, ilk defa 1947 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kanatlı yetiştiriciliğinde DES ile başlayan anabolizan maddelerin kullanımı, ekonomik yararları nedeniyle yaygınlık kazanmış; ancak DES'in karsinojen etkisinin anlaşılmasından sonra kasaplık hayvanlarda anabolizan maddelerin kullanımı sınırlandırılmıştır.<sup>24</sup> Avrupa Birliği (AB)'nde de, 1989 yılından beri büyüme hormonu uygulanan hayvanların etlerinin tüketime sunulması yasaklamıştır.<sup>22</sup> Besinlerde bulunan bazı anabolik madde kalıntıları, çeşitli doku ve organlarda hasarlara, genotoksik ve karsinojenik etkilere, cinsiyet özellikleri ve davranış değişikliklerine, üreme bozukluklarına neden olabilmektedir.<sup>3,13</sup> Türkiye'de zeranolün ağırlık artışı ve üreme sistemi ile ilgili etkilerini inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.<sup>2,8,11,12</sup>

Zeranol ( $\alpha$ -zearalanol), steroid olmayan, Fusarium mantarları tarafından üretilen östrojenik etkili mikoöstrojen olan zearalenonun indirgenmesiyle elde edilen bir analogudur. Rezorsiklik (rezorsilik) asit lakton yapısındadır ve zeranol Ralgro® ticari ismi ile yarısentetik olarak üretilmektedir.<sup>3,8,18</sup> Zeranol, erkek hayvanlarda canlı ağırlık artışı sağlamak ve yemden yararlanma oranını arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak, dişi hayvanlarda yumurtalıklarda korpus luteumun oluşmasına ve uterus hipertrofisi ile karakterize yalancı gebeliklere neden olduğu için; gebe hayvanlarda ise uterus, plasental membran ve fetusun gelişmesini yavaşlattığı için kullanılmamaktadır.<sup>9</sup> AB<sup>6,7</sup>, Türkiye<sup>27</sup> ve Çin'de<sup>29</sup> besi hayvanlarında anabolik hormonların kullanımı ve bu ilaçların kullanıldığı hayvanların etlerinin tüketimi yasaklanmakla birlikte, ABD ve Kanada'da estradiol-17 $\beta$  (E2), testosteron ve progesteron gibi doğal hormonlar ve bunların sentetik analogları olan olan zeranol ve trenbolen asetatın besi hayvanlarında kullanımına izin verilmektedir.<sup>10,18,21</sup> Kodeks Alimentarius, zeranolun sığır etinde en fazla 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve karaciğerinde 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a kadar<sup>4</sup>; yenilebilen hayvansal dokularda klenbuterolün en fazla 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a kadar bulunmasına izin verilmektedir.<sup>19</sup>

DES bir stilben östrojendir, genotoksik ve karsinojenik etkiye sahiptir; az miktardaki

kalıntısı karsinojenik etkinin oluşum prosesini başlatabilmektedir ve pek çok ülkede besin değeri olan hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır.<sup>3,28</sup> Klenbuterol oral yolla aktif olan  $\beta_2$ -agonist bir ilaçtır. Tedavide, uterus kaslarının motilitesini durdurmak (tocolytic) ve bronkospazmolitik olarak kullanılmaktadır. Planipart® ve Ventipulmin® adlı ticari preparatları bulunmaktadır.<sup>21</sup> AB ve Türkiye gibi ülkelerde besi hayvanlarında kullanımı yasak olmasına rağmen anabolizan olarak kullanılabilir. Türkiye'de, sığır etlerinde yapılan bir çalışmada<sup>19</sup>, zeranol ve DES kalıntısı saptanırken, klenbuterol saptanmamıştır. Mısır'da, sığır etlerinde yapılan başka bir çalışmada<sup>17</sup>, DES tespit edilememiştir. Türkiye'de, tavuk etlerinde yapılan bir çalışmada<sup>1</sup>, zeranol, DES, testosteron ve klenbuterol bulunmamıştır.

AB olduğu gibi Türkiye'de de besi hayvanlarında anabolizan maddelerin kullanımı yasaktır. Ancak, Türkiye'de besi hayvanlarında bu maddelerin illegal olarak kullanıldığına dair bilgiler bulunmaktadır. Bu konuda henüz yeterli bir yasal bir kontrol mekanizması bulunmamaktadır. Son yıllarda askeri birliklere satın alınan etlerin anabolizan maddeler yönünden kontrolleri yaptırılmaya başlanmıştır. Ancak halk tüketimine sunulan etlerde bu konuda yeterli bir çalışma bulunmamaktadır. Planlanan bu çalışmayla, Bursa'da satılan sığır etlerinde ve askeri birliklere satın alınan etlerde anabolizan maddelerin varlığının araştırılması ve bu konunun aydınlatılmasına katkı da bulunmak amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Et numuneleri, Bursa'daki büyük marketlerden, kasaplardan, Bursa ve yöresinde bulunan bazı askeri birliklerden toplandı. Market ve kasaplardan müşteri olarak, örnekler 50-150 g arasında, yağsız ve dana eti olarak, 2006 yılında Mart ile Eylül ayları arasında toplandı ve analizleri yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı. Bursa civarındaki askeri birliklere askerlere yedirilmek üzere satın alınan ve kontrol amacıyla Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilen sığır etleri numune olarak kullanıldı. Bu numuneler, 2006 yılında Ocak ile Eylül ayları arasında toplandı. Market ve kasaplardan toplanan 38 dana eti örneğinde zeranol, 41 örnekte DES, 35 örnekte klenbuterol, 20 örnekte 17 $\beta$ -östradiol ve 20 örnekte testosteron analizleri yapıldı. Askeri birliklerden alınan numunelerin 43'ünde zeranol, 39'nda DES, 37'nde klenbuterol, 9'nda 17 $\beta$ -östradiol ve

9'nda testosteron analizleri yapıldı. Analizler, ELISA (EL 312e Biotek, biokinetics reader, USA) tekniği ile ve üretici firmanın belirttiği metoda<sup>23</sup> göre ve RIDASCREEN® Zeranol (Art. No.: R 3301), DES (Art. No.: R 2701), Clenbuterol (Art. No.: R 1705), 17β-östradiol (Art. No.: R 2301) ve Testosteron (Art. No.: R 2401) test kitleri kullanılarak yapıldı. Zeranol dışında diğer anabolizanların ekstraksiyon aşamasında RIDASCREEN® C-18 katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanıldı. İstatistik analizler SPSS 10.0 Programı kullanılarak yapıldı.

## Bulgular

Zeranol, 81 sığır eti örneğinden ikisinde ve 456.7 ng/kg ve 1501.3 ng/kg olarak saptanmıştır. Toplam 80 numunenin 11'nde DES tespit edilmiştir, miktarları 51.2 ile 161.0 ng/kg arasında değişmekte ve ortalama 102.13±11.32 ng/kg'dır. 29 örneğin üçünde testosteron bulunmuş, miktarları 117.4 ile 452.9 arasında değişmekte ve ortalama 329.96±11.32 ng/kg'dır. Klenbuterol ve 17β-östradiol numunelerin hiçbirinde tespit edilememiştir. Anabolizan maddelerle ilgili numune sayıları ve kaynakları ile pozitif numune sayısı ve yüzdeleri ile ilgili bilgiler Tablo I'de verilmiştir.

**Tablo I. Zeranol, DES, Klenbuterol,17β-östradiol ve Testosteron bilgileri.**

**Table I. Data of Zeranol, DES, Clenbuterol,17β-östradiol and Testosterone.**

Anabolizan	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
madde	(toplamlam)	(pozitif)	(market-kasap)	(pozitif)	(askeri)	(pozitif)
Zeranol	81	2 (%2.5)	38	2 (%5)	43	-
DES	80	11 (%14)	41	8 (%19)	40	3 (%7.5)
Klenbuterol	72	-	35	-	37	-
17β-östradiol	29	-	20	-	9	-
Testosteron	29	3 (%10)	20	3 (%15)	9	-

## Tartışma ve Sonuç

Anabolik maddelerin insan üzerindeki olumsuz etkileri fazladır ve bu nedenle bir çok ülkede besi hayvanlarında kullanımı yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır. Türkiye ve AB'nde de bu maddelerin kullanımı yasak olmakla birlikte, Türkiye'de illegal olarak kullanıldığı yönünde bilgiler bulunmaktadır.

Et numunelerinden iki tanesinde zeranol kalıntısı saptanmıştır ve bu miktarlar 456.7 ng/kg ve 1501.3 ng/kg'dır. Bu ilacın Türkiye<sup>27</sup> ve AB'nde<sup>3</sup> kullanımı yasak olmakla birlikte, tespit edilen düzeyler, Kodeks Alimentarius'ta<sup>4</sup> bildirilen maksimum kalıntı limiti olan 2 µg/kg'ın (2000 ng/kg) altında olduğu görülmektedir. Düşük düzeylerdeki zeranol kalıntılarının insanlarda, özellikle kadınlarda başlıca üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkilere neden olabileceği ve bu nedenle yasaklandığı bildirilmektedir<sup>9</sup>. 81 örneğin ikisinde saptanması da kullanım oranının henüz çok yüksek olmadığını göstermektedir. DES, 80 örneğin 11'nde (%14) ve ortalama düzeyi 102.13±11.32 ng/kg olarak tespit edilmiştir. Toksik etkileri yüksek bir anabolizan madde olan DES'in besi hayvanlarında kullanımı pek çok ülkede yasaklanmıştır<sup>3</sup>. Bursa'da tüketime sunulan etlerde DES'in bulunma oranı Nazlı ve arkadaşlarının<sup>19</sup> bildirdiği orandan (%35) düşüktür. DES'in insanlar üzerinde östrojenik, genotoksik ve karsinojenik etki gösterme riski çok yüksektir<sup>3,24,28</sup>. Testosteron 29 örneğin üçünde (%7) bulundu ve ortalama düzeyi 329.96±11.32 ng/kg'dır. Testosteronun ABD gibi bazı ülkelerde kontrollü olarak kullanımına izin verilmekle beraber, Türkiye ve AB'nde yasaktır. Klenbuterol ve 17β-östradiol numunelerin hiçbirinde tespit edilememiştir. Türkiye'de, Nazlı ve arkadaşlarının<sup>19</sup> yaptığı bir çalışmada da sığır etlerinde klenbuterol saptanamamıştır. Bu nedenle Türkiye'de klenbuterolün besi hayvanlarında anabolizan amaçlı kullanılmadığı ileri sürülebilir.

Bu çalışmada anabolizan maddelerin analizleri ELISA tekniği ile yapılmıştır. Biyolojik materyallerde zeranol analizinde sonuçlarda pozitiflik yönünde değişkenlik olabilmektedir<sup>5</sup>. Etlerde yapılan zeranol analizlerinde, örneklerde zeranol bulunmasa da düşük miktarlarda zeranol tespit edilebilmekte; ekstraksiyonun iyi yapılmadığı durumlarda pozitiflik değerleri çok daha yüksek olabilmektedir. Bu nedenlerle sonuçlar dikkatli değerlendirilmediğinde yanlış yorumlanabilmektedir. Bu çalışmada, analizlerde kontrol olarak, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde yetiştirilen ve anabolizan madde kullanılmamış besi sığırlarının etleri ve ayrıca tavuk etleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar bu değerlerle karşılaştırılarak yorumlanmıştır. Bu uygulamayla tüm et numunelerinde zeranolün pozitif olarak değerlendirilmesi olasılığı ortadan kaldırılmıştır. Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda<sup>19, 20</sup>, tüm örneklerde zeranolün pozitif ve genellikle yüksek değerlere sahip olması, bu

durumların yeterince dikkate alınmadan sonuçların değerlendirilmiş olabileceği ihtimalini arttırmaktadır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular ışığında, Türkiye’de yasak olmasına rağmen zeranol, DES ve testosteron gibi anabolizan maddelerin belirli oranlarda kullanılabilirdiği ve bu maddelerin kalıntılarını içeren etlerin tüketiminin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır. Anabolizan maddelerden DES’in kullanım oranının yüksekliği, tüketime sunulan sığır etlerinde, bu maddelerin kalıntıları yönünden denetimlerin düzenli yapılmasını zorunlu kılmaktadır.

### Kaynaklar

- AKKAYA R, AKILLI A, GÜREL Y, ÇINAR S, KOÇ F, TURHAN E, DAS YK, YİĞİT Y, BAŞSATAN A. The research of contamination by anabolic hormones, beta-agonists and pesticides in meat and other organs of broilers in Turkey. *Etlık Vet. Mikrob. Derg.* 2004;15(1-2):37-48.
- AKSOY A, DAĞOĞLU G. Zeranol ve nandrolon’un (19-nortestosteron) Akkaraman Irkı Erkek Kuzularda, Canlı Ağırlık Artışı, FSH, LH, Total Testosteron ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. *Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1998;9(1-2):17-28.
- BOTSOGLOU NA. *Drug Residues in Foods: Pharmacology, Food Safety, and Analysis.* New York, NY, USA: Marcel Dekker Incorporated, 203-206, 2000.
- Codex Alimentarius. *Residues of Veterinary Drugs in Foods.* Vol. 3, FAO, Rome and WHO, Geneva, 1996.
- COOPER, KM, RIBEIRO L, ALVES P, VOZIKIS V, TSITSAMIS S, ALFREDSSON G, LOVGREN T, TUOMOLA M, TAKALO H, LITIA A, STERK SS, BLOKLAND M, KENNEDY DG. Interlaboratory ring test of time-resolved fluoroimmunoassays for zeranol and  $\alpha$ -zearalenol and comparison with zeranol test kits. *Food Add. Contam.* 2003;20(9):804-812.
- Council Directive 96/22/EEC. Concerning the prohibition of use in stock farming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of  $\beta$ -agonists, and repealing directives 81/602/EEC, 88/146EEC and 88/299/EEC. *Off. J. Europ. Commun.* 1996;L125:3-9.
- Council Directive 96/23/EEC. On measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products. *Off. J. Europ. Commun.* 1996;L125:10-32.
- DAĞOĞLU G, AKSOY A. Hayvansal üretimde zeranol. *Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1995;1:83-88.
- ERSOY E, AGTHE O, ERGUN ŞH, ÜRESİN T. Etlık piliçlerde ve yemlerinde Diethylstilbestrol yönünden ön çalışmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1989;35(2-3):1-20.
- FARBER TM. Anabolics:the approach taken in the USA. *Ann. Rech. Vet.* 1991;22:295-298.
- GÜLYÜZ F, AKSOY A, TÜREL İ, DAĞOĞLU G. Akkaraman Irkı Erkek Kuzularda Zeranol ve 19-nortestosteron’un (nandrolon) Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi. *Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1995;2:94-97.
- GÜLYÜZ F, AKSOY A, UĞRAŞ S, TÜREL İ, DAĞOĞLU G. Zeranol ve 19-nortestosteron’un (nandrolon) Akkaraman Irkı Erkek Kuzuların Genital Organlarına Etkisi Üzerine Histopatolojik İncelemeler. *Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1996;2(1-2):6-11.
- KAYA S, ÜNSAL A. Besinlerde İlaç Kalıntıları ve Denetimi. Editörleri KAYA S, PİRİNÇÇİ İ, BİLGİLİ A., Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji kitabı içinde 16. Bölüm., 2. Cilt, 3. Baskı, Ankara, Medisan Yayın Evi, 737-768, 2002.
- KAYA S. Gelişmeyi hızlandırıcı maddeler. Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri (ŞANLI Y, KAYA S.). Medisan Yayınevi No 4, Ankara, 544-550, 1991.
- LİMAN BL. Anabolik ilaçlar. *Türk Vet. Hek.Dern. Derg.* 1994;65(4):53-61.
- LONE KP. Natural sex steroids and their xenobiotic analogs in animal production: growth, carcass quality, pharmacokinetics, metabolism, mode of action, residues, methods and epidemiology. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1997;37(2):93-209.
- MAHMOUD YEA. Diethylstilbestrol (DES) hormone in Egyptian bovine muscles. *Vet. Med. J. Giza* 2006;54(3):715-721.
- METZLER M, PFEIFFER E. Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. *APMIS* 2001;109:89-95.
- NAZLI B, COLAK H, AYDIN A, HAMPIKYAN H. The presence of some anabolic residues in meat and meat products sold in Istanbul. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2005;29(3):691-699.
- NAZLI B, COLAK H, HAMPIKYAN H. İstanbul piyasasında satışa sunulan sakatatlarda bazı anabolizan kalıntılarının mevcudiyeti üzerine bir çalışma. *İ. Ü. Vet. Fak. Derg.* 2005;31(1):83-92.
- PFÄFFL MW, RECK B, DREHER R, MEYER HHD. Production of clenbuterol, diethylstilbestrol and trenbolone mass standards in lyophilised bovine urine. *Anal. Chim. Acta* 2003;483:401-412.
- POELMANS S, DE WASCH K, NOPPE H, VAN HOOF N, VAN CRUCHTEN S, LE BIZEC B, DECEUNINCK Y, STERK S, VAN ROSSUM HJ, HOFFMAN MK, DE BRABANDER HF. Endogenous occurrence of some anabolic steroids

- in swine matrices. Food Add. Contam. 2005;22(9):808-815.
23. R-Biopharm. Ridascreen® Test kits, R-Biopharm AG, Darmstat, Germany, 2006.
24. ŞENER S. Anabolik ajanlar. Türkiye’de veteriner ilaçların üretimi, pazarlanması, güvenli kullanımı ve kalıntı sorunları sempozyumu. 13-14 Ekim 1994, Ankara, 62-65.
25. The Merck Veterinary Manual. Growth Promotants. Eighth Edition, Merck&Co., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA, 1858-1861, 1998.
26. TURNER ND, GREENE LW, BYERS FW, KENISON DC. Influence of incremental zeranol implant doses on the chemical and physical characteristics of third metacarpal bone and chemical composition of liver and soft tissues from feedlot steers. J. Anim. Sci. 1995;73:1-8.
27. Türk Gıda Kodeksi. Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlanan Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ (2003/18) 1-4, 2003.
28. YU NH, HO ENM, LEUNG DKK, WAN TSM. Screening of anabolic steroids in horse urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J.Pharm. Biomed. Anal. 2005;37:1031-1038.
29. ZHOU YF. Determination of the contents of progesterone, testosterone propionate and estradiol benzoate with high performance liquid chromatogram. Chin. J. Vet. Drug 2003;12:19-21.