

## TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN ETLİK PİLİÇLERİN ET VE DİĞER ORGANLARININ ANABOLİK HORMONLAR, BETA-AGONİSTLER VE PESTİSİDLER İLE KİRLENME DURUMUNUN İNCELENMESİ\*

*"The research of pollution by anabolic hormones, beta-agonists and pesticides in meat and other organs of broilers in Turkey"*

**Rauf AKKAYA\*\* Ahmet AKILLI\*\* Yasemin GÜREL\*\* Semra ÇINAR\*\* Feride KOÇ\*\*\*  
Erdal TURHAN\*\* Yavuz Kürşad DAŞ\*\* Yusuf YİĞİT\*\* Ayşin BAŞSATAN\*\***

### ÖZET

Ülkemizde 2001-2003 yılları arasında gerçekleştirilen bu çalışma, etlik piliçlerin et ve iç organlarında anabolik hormon, beta-agonist ve pestisid kalıntılarının tespiti amacıyla yapılmıştır. Araştırmada materyal olarak Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden Etlık Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Toksikoloji ve Hormon Laboratuvarlarına gelen kanatlı etleri ve iç organları kullanılmıştır. Bu çalışmada pestisidlerden organik klorlu, organik fosforlu ve piretroid grubu insektisidler GC ve GC-MS yöntemleri ile, karbamat insektisitler HPLC-Post kolon türevlendirme yöntemi ile, anabolik hormonlardan DES, zeranol ve steroid grubu hormonlar ile beta-agonistlerden klenbuterol ise GC-MS yöntemi ile incelenmiştir. Çalışılan pestisidlerin geri alımları sırasıyla HCB %79, beta-HCH %81, gamma-HCH %78, endosülfan%75, karbaril %77, aldikarb %82, metiyokarb % 95 deltametrin % 49, sipermetrin % 50, tetrametrin %60 olarak bulunmuştur. Çalışılan hormonların geri alımları sırasıyla DES %62, zeranol %51, östradiol %69.24, progesteron % 56.27, testosteron %61.96, klenbuterol %62'dir. Tespit limitleri HCB 0.0008 mg/kg, beta-HCH 0.002 mg/kg, gamma-HCH 0.0005 mg/kg, endosülfan 0.01 mg/kg, diazinon 0.01 mg/kg, diklorvos 0.01 mg/kg, malatyon 0.01 mg/kg, triklorfon 0.01 mg/kg, sipermetrin 0.05 mg/kg, deltametrin 0.05 mg/kg, fenvalarat 0.05 mg/kg, DES 0.0015 mg/kg, zeranol 0.0025 mg/kg, östradiol 0.0015 mg/kg, progesteron 0.0035 mg/kg ve testosteron 0.0035 mg/kg, klenbuterol 0.0025 mg/kg'dır. Analiz edilen kanatlı eti, safrası, karaciğeri ve böbreğinde aranan maddeler yönüyle herhangi bir kalıntı tespit edilmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kanatlı eti, safra, pestisid, anabolik hormon, beta-agonist

**Kabul Tarihi: 22.11.2004**

\*Bu proje TAGEM HHS/02/14/02/81 sayısıyla yürütülmüştür.

\*\* Etlık Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, ANKARA

\*\*\* Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

## **SUMMARY**

*This study was carried out to detect the residues of anabolic hormones, beta-agonists and pesticides in the meat and internal organs of broilers in Turkey between 2001 and 2003. In the study, poultry meats and internal organs sent to Central Veterinary Control and Research Institute Toxicology and Hormone Laboratories from different regions of Turkey are as research materials. Organo chlorines, organo phosphorus and pyrethroid insecticides were analysed by GC and GC-MS; carbamate insecticides by HPLC-post column derivatization; anabolic hormones such as DES, zeranole and steroid groups, and beta-agonists such as clenbuterol by GC-MS method. In row, the recovery of studied pesticides are found as 79% HCB, 81% beta-HCH, 78% gamma-HCH, 75% endosulphan, 77% HCB, 81% aldicarb, 95% methyocarb, 49% deltamethrin, 50% cypermetrin, 60% tetramethrin. The recovery of studies hormones in row are 62% DES, 51% zeranol, 69.24. oestradiol, 56.27% progesterone, 61.96% testosterone, 62% clenbuterol. The determining limits are 0.0008 mg/kg HCB, 0.002 mg/kg beta-HCH, 0.0005 mg/kg gamma-HCH, 0.01 mg/kg endosulphan, 0.01 mg/kg diazinon, 0.01 mg/kg dichlorvos, 0.01 mg/kg malathion, 0.01 mg/kg trichlorphon, 0.05 mg/kg cypermetrin, 0.05 mg/kg deltamethrin, 0.05 mg/kg fenvalarate, 0.0015 mg/kg DES, 0.0025 mg/kg zeranol, 0.0015 mg/kg oestradiol, 0.0035 mg/kg progesterone, 0, 0035 mg/kg testosterone, 0.0025 mg/kg clenbuterol. In the studied in winged animal meat, bile, liver and kidney, no positive results are gained.*

**Key Words:** *Poultry meat, bile, pesticide, anabolic hormone, beta agonist.*

## **GİRİŞ**

Gıdalardaki ilaç kalıntıları insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara, zehirlenmelere ve hatta fazla kalıntı içerdiğinde ölümlere sebep olmaktadır (28). Bu proje ile ülkemizde tavuk eti, karaciğeri ve böbreğindeki kalıntı varlığının araştırılması ve bu açıdan ülkemizdeki durumunun ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Araştırmanın önemi ve hedefi halk sağlığının korunmasına yöneliktir ve buna yönelik alınacak tedbirlere kaynak oluşturmak, ihracatta istenilen ülkesel kalıntı planlarına temel teşkil edecek bilgilere ulaşabilmektir.

### **Anabolik hormonlar**

Etlık piliçlerde anabolik hormon kullanımını sonucu, bunları tüketen insanlarda organizma çok yönlü olarak etkilenmektedir.

Hormonal sistem, sinir sistemi, deri ve kemikler dahil tüm organlar etkilenebilmekte ve sentetik analogları; koroner kalp hastalıkları, peptik ülserler de olmak üzere birçok tümoral oluşuma neden olabilmektedir. Özellikle kadınlarda, anabolik hormonlara daha fazla maruz kalmaları sonucu birçok hastalığa yakalanma (kanseri gibi) riski vardır (30,40).

Hayvanlarda et üretimini artırmak için kullanılan anabolik hormonlardan Dietilstibestrol (DES) ABD’de 1979 yılında yasaklanmıştır. 1981 yılından itibaren de AB ülkeleri yetiştiricilikte anabolizan hormon kullanımını yasaklamıştır. Türkiye’de de yasaklanan anabolik hormonlar kanatlı safrasında çalışılarak kanatlı etlerinde ülke durumu belirlenmiştir(2).



İtalya'da 1980. yılında yasa dışı olarak DES'ün yüksek dozda hayvanların göğüs adalelerine enjeksiyon şeklinde uygulanması ve daha sonra bu etlerin bebek mamalarına dönüştürülmesi ve bu mamalarla beslenen çocuklarda görülen menstrual bozukluklar tüketicilerin tepkisine sebep olmuş ve ulusal hükümetler halk sağlığını korumak amacıyla ülke düzeyinde kontrol programlarını uygulamaya sokmuşlardır. Son 20 yılda yapılan kontrollerde birçok hormonun yasadışı bir şekilde anabolizan amaçlı olarak çiftlik hayvanlarına uygulandığı belirlenmiş ve halk sağlığının ciddi bir tehlike ile karşı karşıya olduğu anlaşılmıştır(39). Günümüzde modern hayvancılıkta verim artırıcı ve yemden yararlanmayı hızlandırıcı maddeler üzerinde yoğun şekilde çalışılmakta ve bunların sağaltımdaki yönü ikinci plana atılmaktadır. Özellikle anabolik ajanlar metabolik olaylar üzerinde çok etkili değişiklikler yapabilmektedir. İlk kez 1972 yılında anabolik maddeler ile ilgili Avrupa ülkelerinin katıldığı sempozyum Paris'te yapılmış ve 1975 yılında da FAO ve WHO'nun birlikte organize ettikleri bilimsel toplantı Roma'da gerçekleştirilmiştir(39). Kümes hayvanlarında anabolik DES gibi maddelerin implantasyon ile uygulanması ve bunun pozitif etkisine ilk kez Lorenz 1943 yılında işaret etmiştir. Daha sonra DES ve Hexestrol ile birçok deneme yapılmış ve 1950-1960 yılları arasında birçok ülke pratik olarak bu maddeleri kümes hayvanlarında anabolizan etki elde etmek için kullanmışlardır. Dienestrol asetat erkek piliçlerde hızlı, dişilerde ise daha yavaş bir anabolik etki oluşturmuştur(36).

Steroid hormonlar organizmayı çok yönlü olarak etkileyebilen ve birçok fonksiyonlara sahip olan maddelerdir. Özellikle endokrin sis-

tem, nervöz sistem, deri ve kemikler dahil tüm organları bir şekilde etkileyebilmektedir ve bunlar hekim kontrolünde sağaltım maksadı dışında kullanılmamalıdır. Özellikle testosteron ve bunun sentetik analogları illegal bir şekilde kullanıldığında erkeklerde prostatik hastalıklar, koroner kalp hastalıkları, peptik ülserler dahil birçok tümoral gelişmeye sebep olabilmektedir (29). Östrojen, progesteron ve bunların sentetik analogları kullanıldığında özellikle dişilerde üreme organlarında endometrium ve ovariumda tümoral gelişmelere ve hatta kansere sebep verebilmektedirler. Özellikle bir östrojen analogu olan DES öncelikle klinik kullanım şeklinde ortaya çıkmıştır. Kadınlara verilen DES özellikle menopozal semptomları hafifletmek ve gebeliğin devamının sağlanması (hormonal eksiklikten) amacıyla keza menopoz sonrası senil vaginitisi önlemek maksadı ile kullanılmıştır. Erkeklerde DES koroner kalp hastalıklarının, peptik ülserin, prostat hiperplazisi ve kanserinin tedavisinde kullanılmıştır. İnsanların aplastik anemilerinin tedavisinde androjen bir madde olan metiltestosteron kullanılmaktadır. Bunun da karaciğer rahatsızlıklarına neden olabileceğine işaret edilmektedir (12,39).

### **Beta agonistler**

Beta agonistler, ağız yoluyla sempatomimetik amaçla kullanılırlar. Bronş genişletici, antihipertansif etkileri vardır. Normal dozun 5-10 katı verildiğinde yağlanma olmaksızın kas gelişimini hızlandırıcı etkisi olmaktadır. Bu şekilde anabolizan etkisinin olması amaç dışı kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Beta agonistler hayvanlarda kullanıldığında dokularda kalıntı riski oluşturmaktadır (22).



Beta agonistlerin yasadışı kullanımını engellemek amacıyla AB ülkeleri ve diğerk bazı ülkelerde kontrol programları geliştirilmektedir. AB ülkelerinde kullanımı yasak olan beta agonistlerin ülkemizde de, özellikle halk sağlığının korunması yönünden, etlik piliçlerde illegal yoldan kullanımının engellenmesi için kontrol altında tutulması amaçlanmıştır (24).

Bu ilaçlardan Klenbuterol 1972 yılında ilk kez astımlı, kronik bronşitli ve akciğerk amfizemi olan hastalarda kullanılmaya başlanmış ve ilacın kuvvetli bir bronkodilatatör olduğu bildirilmiştir (42). Özellikle atlarda kullanılan bu ilaçlar,  $\beta_2$ -reseptör bölgesinde aktif olup, kalbe yönelik istenmeyen etkisi çok az olduğundan kronik solunum yolu hastalıklarının sağaltımında ve bronşial bezleri, slia hücrelerini de uyarak müköz salgıyı artırmak amacıyla da kullanılmaktadır(16).

Kuvvetli bir bronş daraltıcı etkiye sahip olan Klenbuterol, bronşial düz kas aktivitesini azaltıp, solunum yollarını genişletirken diğerk beta-adrenerjik etkide olan salbutamol ve metaproterenol'dan daha fazla ve uzun spazmolitik etkiye sahiptir. Normal olarak sağaltımda kullanılan bu ilaçların, amaç dışı anabolizan olarak kasaplık hayvanlarda kullanılması ile tüketiciler açısından potansiyel bir kalıntı riski başlamıştır. Klenbuterol'ün et için yetiştirilen hayvanların gelişmeleri üzerine olan pozitif etkilerine ilk defa 1984 yılında işaret edilmiştir (14). Vücut yağlanması olmaksızın kas gelişimi hızlandırıcı anabolizan etki göstermesinin normal sağaltım dozunun 5-10 katı üzerinde verilmesi ile mümkün olduğuna değinilmektedir (6, 31).

Beta-blokerlerin anabolizan etkisinin anlaşılması, bunların amaç dışı olarak kullanılmalarını yaygınlaştırmış ve buna karşın kasaplık hayvanların dokularında bıraktığı kalıntı riskiyle de halk sağlığını olumsuz olarak etkilemişlerdir (30). Anabolik etki dozunda (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ ) buzağılara 21 gün süreyle ağız yoluyla Klenbuterol uygulaması yapıldığında, idrarda yarılanma ömrü; atılımının ilk fazında 10 saat, ikinci fazında ise 2-7 gün olduğu ve bifazik atılımın benzer şekilde köpeklerde, insanlarda ve ratlarda meydana geldiği ve plazma yarılanma ömrünün de insan, sığır ve atlarda 22-32 saat arasında olduğu tespit edilmiştir (24, 44). Bu ilaçlar kümes hayvanlarında kullanıldığında yağların erimesini uyarmasıyla karkas kompozisyonunun değıştiği ve 0,25-4 ppm dozlarında piliçlere 4-7 hafta boyunca yem ile birlikte verildiğinde tüm vücut yağlarında azalma, protein miktarında artma, büyüme ve yemden yararlanmanın arttığı ifade edilmiştir (6).

Bu ilaçların yasa dışı kullanımının önüne geçilmesi amacıyla, 1988 yılından itibaren başta AB ülkeleri olmak üzere birçok ülkede kontrol programları geliştirilmeye başlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalarda anabolik etki dozunda uygulama yapılan hayvanların dokularındaki ilaç yoğunluğu son uygulamadan 14 gün sonra kabul edilebilir seviyeye (0.08 ng/g) inmektedir. Bu oranlar üstündeki miktarları tespit edebilmek için çabuk sonuç alınabilen, günlük analizlere uygun ve çok sayıda örneği kısa sürede test edebilen çok duyarlı laboratuvar metotlarına ihtiyaç vardır. bunların teşhisinde son yıllarda en duyarlı test yöntemi olarak ELISA kullanılmaktadır. ELISA yöntemlerinin 0.2-0.8 ng/g arasında bir teşhis sınırına inebildiği belirtilerek rutin analizler için

güvenle kullanılabilmesine işaret edilmektedir (15).

### **Pestisidler**

Pestisidler, pest adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal maddelerdir. Günümüzde bu bileşikler insan, hayvan ve bitki sağlığının korunmasına yönelik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (28).

Pestisidlerin kalıcılık süresinden kastedilen, uygulandıktan sonra uygulama yerinden %75-100'ünün uzaklaşması için geçen zamandır. Örneğin pestisidlerden kalıcılıkları en fazla olan grup organik klorlular olup, bunlardan lindan 3-10 yıl, DDT 2-5 yıl kalabilir. Organik klorlular canlılarda özellikle yağlı dokuda birikirler (26).

Pestisidlerden karbamatlar çevrede uzun süre kalmazlar ve suda iyi çözünmezler. Uygulandıkları tarımsal alanlardaki topraklarda genellikle 1-4 hafta içinde parçalanırlar, durgun sularda birikme eğilimi gösterirler. Canlılarda özellikle yağlı dokularda birikerek; beyinde de yüksek düzeyde bulunurlar. Karbamatlardan özellikle karbaril, karbofuran v.s. tavuk embriyoları üzerinde teratojeniktir ve sinirler üzerine de olumsuz etkileri vardır (26).

Organik klorlular ise; çevrede uzun süre kaldıkları, ekolojik dengeyi bozdukları, besin zincirine girerek kirlenmeye yol açtıkları için son yıllarda ülkemizdeki kullanımları iyice sınırlandırılmış olup endosülfan dışındakiler yasaklanmıştır. Kronik zehirlilik oluşturabilirler; MSS'yi uyarıcı etkiler, sinirsel bozukluklar, davranış bozuklukları, tremor ve solunum yetmezliği oluştururlar. Ayrıca; enzimatik değişiklikler, özellikle karaciğerde tümör sıklığında artış, iç salgı bezlerinde değişiklikler

(östrojenik etki), tiroid bezinde büyüme ve faaliyetlerinde artış meydana getirirler (26).

Sonuç olarak; fayda sağlamak için kullanılan bu maddeler, eğer kuralına uygun kullanılmaz ve sürekli kullanılırsa çevre ve besinlerde kirliliklere, biyolojik dengenin bozulmasına, dirençli pest türlerinin ortaya çıkmasına, insan ve hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere ve ayrıca teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki tehlikesinin doğmasına yol açarlar (26).

## **MATERYAL VE METOT**

### **Anabolik hormonlar**

**Materyal:** Etlik piliç yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı bölgelerden toplanan 300 adet canlı tavuktan elde edilen safra örnekleri anabolik hormonlar yönünden test edilmiştir.

**Metot:** Hayvanlardan safra örneklerinin alınması Türkiye'nin değişik illerinden gelen canlı tavukların laboratuarda kesildikten sonra safraları, önceden numaralanmış santrifüj tüplerine alınmış ve analiz süresine kadar -20°C de derin dondurucuda saklanmıştır. Anabolik hormonların analizi Stan ve Abraham(37) çoklu kalıntı analiz metoduna göre yapılmıştır .

### **Beta agonistler**

**Materyal:** Etlik piliç yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı illerden toplanan 300 adet, canlı kanatlı eti toplanmıştır. Çalışmada, canlı olarak gelen veya laboratuarda kesilen kanatlıların et numuneleri alınarak kullanılmış ve beta-agonistler yönünden araştırılmıştır.

**Metot:**  $\beta$ -agonistlerin ekstraksiyon analizi Rıdascreen test el kitabına ELISA yöntemi



minden (8), Cihaz metodu olarak da Eddins ve ark(17)' dan yararlanılmıştır.

### **Pestisidler**

**Materyal:** Kanatlı etleri, karaciğeri ve böbrekleri yurdumuzun çeşitli illerinden gelmiştir. Adana Ankara, Balıkesir, Bolu, Bursa, Çankırı, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Gaziantep, İzmir, Manisa, Kocaeli ili sınırlarında faaliyet gösteren mezbahalarına gidilerek burada kasaplık olarak kesilen hayvanlardan 270 adet tavuk eti, 30 adet tavuk karaciğeri, 30 adet tavuk böbreği toplanmıştır. Numuneler 25 g ağırlığında alınarak, ayrı ayrı naylon torbalara konularak etiketlenmiş; analiz edilene kadar -18°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

**Metod:** Numunelerin ekstraksiyonunda Mills (13) ve Ceylan (32)'dan, cihaz metodu olarak da Pelosi ve ark. (35)'dan yararlanılmıştır.

## **BULGULAR**

### **Anabolik hormonlar**

Türkiye'de yetiştirilen etlik piliçlerden alınan safra örneklerinin anabolik hormonlar ile kirlenme durumu GC-MS yöntemiyle incelenmiştir. GC-MS metodunun güvenilirliğinin tespiti için önce hormonların alıkonma süresi ve moleküler iyonları belirlenmiştir. Kontrol gruplarına hormon standartlarından 250, 300, 500, 750 ve 1000 ppb eklenerek saf hormon standartlarıyla karşılaştırılmıştır.

Sırasıyla çalışılan hormonların geri alımları DES %62, zeranol %51, östradiol %69.24, progesteron %56.27, testosteron %61.96, klenbuterol %62 olarak bulunmuştur. Tespit limitleri ise DES için 0.0015 mg/kg, zeranol

için 0.0025 mg/kg, östradiol için 0.0015 mg/kg, progesteron için 0.0035 mg/kg, testosteron için 0.0035 mg/kg ve klenbuterol için 0.0025 mg/kg şeklinde belirlenmiştir.

Analiz edilen ve Türkiye'nin değişik illerinden gelen 300 adet kanatlı numunesinde anabolik hormon kalıntısı tespit edilememiştir.

### **Beta agonistler**

Yurdumuzda yetiştirilen etlik piliçler etlerinin beta-agonistler ile kirlenme durumu GC-MS yöntemiyle incelenmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

Kontrol gruplarına klenbuterol standartından 250, 300, 750, 1000 ppb eklenerek saf klenbuterol standartlarıyla karşılaştırılmıştır.

Klenbuterol kalıntı düzeyinin kesin tespit edilebilmesi için en düşük düzeyin 2.5 ppb, alıkonma zamanının 9.07 dakika ve moleküler iyonlarının da 86 ve 262 olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışma sonucu yurdumuzun değişik illerinden gelen 300 adet kanatlı numunesinde klenbuterol kalıntısına rastlanmamıştır.

### **Pestisidler**

Alıkonma süresinin belirlenmesi ve geri kazanım çalışmaları yapılarak metodun güvenilirliği tespit edilmiştir.

Dokulara standart eklendikten sonra yapılan özütleme işlemi sonucu, en alt tespit edilebilir düzeyi HCB 0.0008 mg/kg, beta-HCH 0.002 mg/kg, gamma-HCH 0.0005 mg/kg, endosülfan 0.01 mg/kg, diazinon 0.01 mg/kg, diklorvos 0.01 mg/kg, malatyon 0.01 mg/kg, triklorfon 0.01 mg/kg, sipermetrin 0.05 mg/kg,

deltametrin 0.05 mg/kg, fenvalarate 0.05 mg/kg olarak belirlenmiştir.

270 adet tavuk eti örneği ve 30 adet karaciğer ve böbreği analize alınmıştır. Analizi yapılan 300 adet örnekte, çalışılan pestisidlerden herhangi birinin kalıntısına rastlanmamıştır.

## **TARTIŞMA**

### **Anabolik hormonlar**

Anabolik steroidlerin insan ve hayvanlarda farklı kansellere yol açtığı bilinmektedir. Bununla beraber anabolik hormonların primer karsinojen olup olmadığı tartışılmaktadır (18).

Hayvanların zearalenon gibi östrojenik etkisi olan mikotoksinler içeren yem yemeleri durumunda da bu hayvanlardan sağlanan et ve ürünlerinde kalıntı düzeyi yüksek miktarlara çıkabilmektedir (28).

Ülkemizde de Tarım Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğünün 07.08.1989 tarih ve 6 sayılı genelgesiyle dış alımı yapılan canlı hayvan ve karkas etlerinin hormon kalıntıları yönünden analizlerinin yapılması zorunlu kılmiştir. 1989-1995 yılları arasında çeşitli hayvan türlerinde 18161 et ve idrar örneği analiz edilmiş ve 67 idrar örneğinde 19-nortestosteron (32 örnek), zeranol (2 örnek) ve 17 $\beta$ -östradiol (33 örnek) kalıntısı bulunmuştur. Aynı dönemde bakanlık tarafından iç piyasadan alınan 1317 adet sığır etinin (örneklerin kulak altı bölgesinden alındığı belirtilmiştir) 7'sinde 21-180 ppb arasında zeranol tespit edilmiştir (28).

Anabolik maddeler tekniğine uygun bir şekilde çiftlik hayvanlarına uygulandığında yenebilir dokularda genellikle 1 ng/g'ın altında

kalıntı bıraktığı en hassas metotlar kullanılarak belirlenmiştir. Hexestrol uygulanan piliçlerde 44 günün sonunda (uygulama sonrası) kas dokuda 0.5 ng/g, karaciğerde 6.2 ng/g, yağ dokuda 1.27 ng/g kalıntı olarak bulunmuştur (18).

Tavuk, koyun ve et sığırlarında et üretimini artırmak için anabolik ajanlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (23). Östradiol, testosteron ve progesteron gibi doğal hormonların normal düzeyde dolaşımında bulunması, normal fizyolojik fonksiyonları sağlar. Bu hormonların yetiştiricilikte tedavi amacı dışında kontrolsüz ve bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları sonucunda bunları tüketen insanlar için sağlık riskleri doğar. DES ABD'de 1947 yılında piliçlerde gelişmeyi hızlandırmak maksadıyla kullanılmaya başlanmış, görülen mahzurlar nedeniyle 1959'da piliçlerde kullanılması yasaklanmıştır (36). Aynı şekilde 1954'te sığırlarda da kullanılmaya başlanmış, fakat 1979 yılından itibaren tüm çiftlik hayvanlarında kullanımını yasaklanmıştır. Yasaklanma nedeni ise hormonal yan etkisinin yanında kanserojen etkisinin tespiti olmuştur. Almanya'da DES pozitif örnek oranı 1977'de %4, 1978'de %16, 1979'da %40'a kadar yükseldiği görülmüş ve DES'in bebek mamalarında da kullanıldığının anlaşılmasından sonra ciddi kontrollere başlanmış ve sonuçta DES pozitif örnek oranı %1'e düşmüştür (38). 1981 yılından itibaren AB ülkeleri yetiştiricilikte anabolizan olarak hormonların kullanımını yasaklamıştır. Diğer östrojenik ve androjenik etkili sentetik anabolik hormonların kullanımını da tamamen yasaklanmıştır.

Anabolik hormon kullanımı ve hormon şüpheli gıdaların ithalatı AB'de Avrupa Komisyonu 96/22/EC direktifi ile yasaklanmış ve



96/23/EC direktifi ile de yasağa uymayı kontrol için, AB ülkelerinde ve bu ülkelere ihracat yapacak ülkelerde bunların kontrolünün yapılması istenmiştir (3, 4).

### **Beta agonistler**

Evcil hayvanlarda bronşiyal hastalıkların sağaltımında kullanılan klenbuterolün anabolik etkisinin anlaşılmasından sonra, yasa dışı olarak yaygın şekilde yüksek dozlarda kullanılması, halk sağlığını tehdit etmeye başlamış ve bu konuda ciddi çalışmalar yapılmasına sebep olmuştur (22). Bu yöndeki çalışmalar ülkemiz içinde söz konusudur.

86/469/EEC sayılı direktif çerçevesinde denetimlere başlanmış ve ayrıca üçüncü ülkelerden Avrupa Birliği ülkelerine alınacak canlı hayvan ve hayvansal ürünlerden de klenbuterol ile ilgili analiz şartı getirilmiştir (2).

Türk Gıda Kodeksinin 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı resmi gazetenin mükerrer sayısına göre klenbuterol; etinden faydalanılan tüm türlerde ette 0.2, sütte 0.05, karaciğerde 0.6 ve yumurtada ise 0.6 µg/kg tolerans limitleri verilmiştir. Sığırlarda parenteral klenbuterol kullanıldığı zaman bekleme süresi 6 gün, buzağılarda ise 28 gündür. Klenbuterol uygulanan sığırlarda sütün tüketilmeme süresi ise 120 gündür (7). Türk Gıda Kodeksinin 28 Nisan 2002 yılı tebliğinde ise maksimum kalıntı limitleri sığırlarda kasta 0,1, karaciğerde 0,5, böbrekte 0,5, sütte 0.05 µg/kg olarak belirlenmiştir (9).

1988 yılından itibaren, başta AB ülkeleri olmak üzere birçok ülkede klenbuterol için, denetim programları geliştirildikten sonra, yapılan deneysel çalışmalar sonucu sığırlarda

anabolik etki oluşturacak dozlarda uygulanan klenbuterolün dokulardaki ilaç yoğunluğunun son uygulamayı takiben 14 gün sonra tolerans seviyesine indiği belirtilmiştir. Bu miktarın altındaki düzeyleri belirleyebilmek için çabuk sonuç veren günlük analizlere uygun ve çok sayıda örneği kısa sürede analiz edebilen daha duyarlı metotlara gereksinim duyulmuştur (15). Bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucunda klenbuterolün laboratuvarında analizi için ilgili ince tabaka kromatografisi (İTK), Mass Spektrometre (MS) metodu, GC metodu, farmakolojik jel formasyonundan analizi için ise HPLC metodu geliştirilmiştir. Belirtilen bu metotlarda en düşük ölçülebilen miktar, yenilebilen dokular (böbrek, karaciğer, et) için 0.5 ng/g, idrar örnekleri için ise 0.25 ng/ml olarak tespit edilmiştir. İTK, ELISA, HPLC, GC, GC-MS metotlarının kullanılmasında uzun ve zahmetli ekstraksiyonu takiben analiz için deney örneğinin çok iyi bir şekilde saflaştırılması gereklidir. En düşük ölçülebilen düzeye bu şekilde ulaşılabileceğine dikkat çekilmiştir. GC-MS'te tespit edilebilen en düşük miktarları açısından klenbuterol tayininde çok alt seviyelere inilebilmektir (15,16, 41).

Meyer ve ark. (30) 500 adet sığırdan elde edilen idrar örneklerinin ELISA ve HPLC ile beta agonistler yönünden analizlerini yapmış, bir örnekte 10 ppb düzeyinde klenbuterol, başka bir örnekte de 200 ppb düzeyinde salbutamol tespit etmişlerdir.

Ülkemizde 1994–1995 yılında dış alımla alınan 1000 adet sığır idrarında ELISA metoduyla klenbuterol aranmış, fakat pozitif sonuca rastlanmamıştır (1).

İtalya'da 1999 yılında yedikleri etten zehirlenen 15 kişide belirti olarak, kalp çarpıntısı



sı, baş ağrısı, solunum durması, şeker seviyesinin artması, potasyum miktarının düşmesi ve leukositozis gibi belirtiler görülmüş, hastalardan 9'u hastanede sağaltım görmüş, 3-5 gün sonra belirtiler kaybolmuştur. Zehirlenme belirtisi gösteren hastaların idrarında 28 ng/ml düzeyinde klenbuterol tespit edildiği ve yenilen etteki klenbuterol miktarının ise 1140-1480 ng/g olarak ölçüldüğü bildirilmiştir (11).

Gürel (23)'in yaptığı tez çalışmasında ülkemizdeki durumu incelemek amacıyla GC-MS metoduyla 192 adet piliç eti ve karaciğer örneklerinde klenbuterol aranmış ve kalıntıya rastlanmamıştır (21).

Bu çalışmada da 300 adet tavuk etinde çalışılmış hiçbir müspet sonuç bulunmamıştır. Müspet sonuç bulunmaması tüketici konumundaki halk sağlığı bakımından önemlidir.

### **Pestisidler**

Pestisidler hava, su, toprak, besinler ve ayrıca barınaklar, çevre ve alan ilaçlamaları sonucunda kalan artıkları ile çevre ve besin maddelerinin kirlenmesine yol açarlar. Kalıcı etkili pestisidlerin uygulanması sonucu ortaya çıkan en önemli kronik zehirlenme tehlikesini, çevre kirliliği neticesi besin zincirine giren ve sonuçta nihai tüketici durumundaki insanlara kadar, her kademedeki gittikçe yoğunlaşarak ulaşan pestisid kalıntıları oluşturur (27).

Pestisidlerin uygulama kurallarına uyulmaması ve sürekli kullanılmaları sonucu çevre ve besin kirlenmesine, çevrede biyolojik dengenin bozulmasına, dirençli pest türlerinin ortaya çıkmasına, insan ve hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere ayrıca, teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki tehlikesinin doğmasına yola açar. Bu etkilerinden dolayı, ülkemizde pestisidlerle ilgili kalıntı izleme

programlarının başlamasına sebep olmuştur. 86/469/EEC sayılı direktif çerçevesinde denetimlere başlanmış ve ayrıca üçüncü ülkelerden Avrupa Birliği ülkelerine alınacak canlı hayvan ve hayvansal ürünlerden de pestisidler ile ilgili analiz şartı getirilmiştir (4).

Türk Gıda Kodeksinin 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı resmi gazetesinin mükerrer sayısına göre veteriner hekimlikte kullanılan ilaçlar için kabul edilen tolerans düzeyleri ile ilgili organik fosforlu ve organik klörlü insektisidlerde diazinon için eti yenen hayvanlarda karaciğerde kabul edilebilir en alt limit karaciğerde 0.02 mg/kg olarak belirtilirken, diklorvos, endosulfan, malatyon, triklorfon, alfa-HCH, beta-HCH, gamma-HCH için sıfır kalıntı düzeyi verilmiştir (7).

1970'li yıllardan itibaren başta AB ülkeleri olmak üzere birçok ülkede pestisid kalıntıları için denetim programları geliştirilmeye başlanmıştır (3).

Başta DDT olmak üzere OK bileşikler insan ve hayvanların vücut yağında su, yağmur suyu ve havadaki yoğunluğunun milyonlarca katına varan miktarlarda birikirler. Örneğin DDT'nin insan yağındaki düzeyi olan 6 ppm, deniz suyundakinin  $6 \times 10^6$  katına kadar çıkabilmektedir. Su ortamında 4 ppb miktarda bulunan DDT sivrisinek larvalarında yaklaşık 9 ppm ve sivrisinek larvalarıyla beslenen balıklarda 54 ppm'e çıkabilmektedir, bu değer sudakinin 217 bin katına eşdeğerdir(20).

Kaphalia ve ark. (25) keçi buffalo ve tavuklarda karaciğer, kas, beyin ve karın yağlarında 3.879 ppm BHC ve 4.175 ppm DDT tespit etmişlerdir.

Booth ve ark. 1975 yılında evcil hayvanların vücut yağlarında yaptıkları çalışmalarda 0.5 ppm HCB tespit etmişlerdir (10).

1969–1982 yılları arasında Kahunyo ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (24) 8 haftalık kesilen etlik piliçlerin karın yağları toplanmış, DDT ve PCB kalıntıları yönünden araştırılmıştır. Hem karın yağları, hem de yumurta yağlarında dieldrin bulunurken; yumurta yağlarında 1 mg/kg üzerinde heptaklorepoksit ve klordan tespit edilmiştir. Endosulfan, metoksiklor, fentron 13 yıllık periyotta 2 numunede rastlanmış; lindan kalıntıları teşhis limitin altında bulunmuştur (24).

Hindistan'da tavuk, buffalo ve keçi organlarında DDT-BHC kalıntıları yönünden analizler yapılmış; vücut yağlarında ve kemik dokuda daha fazla; göğüs etlerinde ise daha az DDT-BHC'ye rastlanılmıştır. (25).

1986-1988 yılları arasında Kanada'da toplam 602 hayvansal ürün, OK, OF ve endüstriyel organik kirleticiler açısından analiz edilmiştir. Bunların 147 tanesi kümes hayvanı, 9 tanesi de tavuk yumurtası olarak belirlenmiştir. Örneklerin %35'inde pentaklorofenole rastlanılmıştır. DDE %21 ve diğerleri ise %10'dan daha az görülmüştür. Örneklerin %43'ünde ise pestisid kalıntısına rastlanmıştır (19).

1995 yılında Hindistan'da beyaz Leghorn ırkı tavukların yemlerine değişen dozlarda (6.25-50 mg/kg) DDT katılarak 37 hafta süresince yedirilmiştir. Uygulama süresince en yüksek kalıntı yağda, bunu takiben karaciğer, kalp, yağlı et, kan, dalak, testis, beyin ve yumurta sarısında tespit edilmiştir (22).

Bir başka çalışmada (24) Kenya'da tavuk yağlarında organik klorlu pestisidler (lindan, dieldrin, DDT) yönünden analiz yapılmıştır. Ülkenin 7 coğrafik bölgesinden 105 örnek toplanmış ve sonuçlar en üst kalıntı sınırlarının altında bulunmuştur (24).

Yine Kenya'da kanatlı yumurtaları üzerinde yapılan bir çalışmada (33) 367 örnek incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda 10 tane pestisid kalıntısına rastlanılmıştır.

Türkiye'de pestisidler de dahil çeşitli maddelerin yol açtığı zehirlenmelerin sıklığı hakkında 1988 yılına kadar istatistiki olarak fazlaca bilgi yoktur; bu tarihten sonra ise Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Zehir Araştırmaları Müdürlüğü bünyesinde faaliyet gösteren Zehir Danışma Merkezi kayıtları daha sağlıklı ve istatistiki nitelikli bilgiler vermektedir (5). Bu kayıtlarda; pestisidlerin zehirlenmelere sebep olma bakımından ilaçlardan sonra ikinci sırada yer aldıkları görülmektedir. Ülkemizde 1956 yılında Güney Doğu Anadolu'da heksaklorobenzenle ilaçlanmış tohumluk buğdaylardan yapılmış unla hazırlanmış ekmekleri yiyen yaklaşık 4000 kişi etkilenmiş ve %10 dolayında ise ölüm meydana gelmiştir(5).

Bu çalışmada, ülkemiz çiftlik ve mezbahalarında kesilerek tüketime sunulan tavuk eti ve iç organlarında pestisid kalıntısıyla kirlenme düzeyleri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda numunelerde herhangi bir kalıntıya rastlanmamıştır.

## SONUÇ

Kalıntuların bulunmaması ülkemiz açısından olumlu olarak değerlendirilirken, kalıntuların bulunmama sebebinin anabolik hormon ve beta agonist yönünden başka anaboliklerin



ayasa dışı olarak kullanılması, etlik piliçlerde anabolik hormon ve beta agonist kullanımının pahalıya mal olacağı, Pestisidler yönünden yapılan analizlerde ise etlik piliçlerin çok fazla ömrü olmaması, özellikle organik klorlu pestisidlerin yağlı dokuda birikmesi ve 30- 35 günlük hayvanların kesimi sonucunda kalıntıya sebep olamayacağı düşüncesindeyiz. Analizler sonrasında elde edilen sonuçlar tüketici sağlığı bakımından önem arz etmektedir. Sonuç olarak anabolik hormonların, beta agonist ve pestisidlerin kalıntılarının bulunmaması ülkemiz açısından ve halk sağlığı açısından sevindiricidir.

## KAYNAKLAR

1. AKILLI, A. (1995). *Dış alımla sağlanan sığırlarda idrar örneklerinin clenbuterol kalıntıları yönünden araştırılması*. Proje No: VHAG-988. Ankara.
2. ANON. (1986). *Concerning examination of animals and fresh meat for the presence of residues*. J.Eur.Com.1:223-18.
3. ANON. (1996). *Council Directive 96/22/EU*. Off J Eur Commun L 125: 3-9.
4. ANON. (1996). *Council Directive 96/23/EU*. Off J Eur Commun L 125: 0-32.
5. ANON. (1996). *Zehir Danışma Merkezi 1988-1995 yılları kayıtları*. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Ankara.
6. ANON. (1997). *β-Adrenerjik Agonistlerin Hayvansal Üretim Etkileri ve Etki Mekanizmaları*. Türk Vet. Hek. Derg. 9(3): 25-29.
7. ANON. (1997). *Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliđi*. Tebliđ No: 1997/23172 Mükerrer. T.C. Resmî Gazete.
8. ANON. (1998). *Ridascreen, Clenbuterol fast. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of clenbuterol and other Beta-agonists*. Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.
9. ANON. (2002). *Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliđi*. Tebliđ No: 2002/30. T.C. Resmî Gazete. 28.04.2002 tarih ve 24739 sayı.
10. BOOTH, NH., MCDOWELL, J.R.(1975). *Toxicity of hexachlorobenzene and associated residues in edible animal tissues*. J.Am. Vet. Med.Assoc. 15. 16686: 591-5
11. BRAMBILLA, G., CENCI, T., FRANCONI, F., GALARINI, R., MACRI, A., RONDONI, F., STROZZI, M., LOIZZO, A. (2000). *Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy*. Toxicol. Lett. 114: 47-53.
12. BRANDER, G.C., PUGH, D. M., BYWATER, R. J., JENKINS, W. L. (1991). *Safety of Anabolic Agents*. In: Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. Fifth Edition. Ed. By: Daykin. P. W. Bailliere Tindall. London.
13. CEYLAN, S. (1980). *Organik fosforlu, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin ince tabaka kromatografisinde kromojenik ayıracaqlarla sistematik analizi*. A.Ü.Vet. Fak.Derg. 27(3-4):440-466.
14. DAIRYMPLE, R.H., BAKER P.K., GINGHER, D.E., INGLE, D.L. (1984). *Repartitioning agent to improve performance and carcass composition of broilers*. Poul. Sci.. 63.
15. DEGROODT, J.M., BUKANSKI, B. W., BEERNAERT, H., COURTHEYN, D. (1989). *Clenbuterol residue analysis by HPLC-HPTLC in urine and animal tissues*. Leberon unters Forsch. 189. 128-131.
16. DUMASIA, C.M., HOUGHTON, E. (1991). *Screening and confirmatory analysis of Beta-agonists, Beta-antagonists and their metabolits in horse urine by GC-MS*. J.Chromatography, 564. 503-513.
17. EDDINS, C., HAMANN, J., JOHSON, K. (1985). *HPLC Analysis of clenbuterol, a beta- adrenergic drug, in equine urine*. J. Chromatogr. Sci. 23: 221-227.
18. ERGUN, H. (1988). *Etlık Piliçlerde ve Yemlerinde Diethylstilbestrol Yönünden Çalışmalar*. A.Ü. Vet.Fak. Derg.35 (1-2).
19. FRANK, R., BRAUN, H.E., STONEFIELD, K.I., RASPER, J. (1990). *Organochlorine and organophosphorus residues in the fat of domestic farm animal species*. Ontario. Canada.Food additives and Contaminants.7:5.629-636.
20. GEORGE, V.T., SUNDARARAJ, A. (1995). *Studies on residue of DDT in poultry*. Indian Veterinary Journal.72:1,17-20.
21. GÜREL, Y. (2002). *Bolu, Ankara, Sakarya ve İzmir İllerindeki Kanatlı Mezbahalarından Elde Edilen Etlık Piliçlerin Et ve Karaciđerinde Klenbuterol Kalıntılarının İncelenmesi*.

- Doktora tezi. 2002. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. ANKARA.
22. HEINRICH, H., MEYER, D., LUCIA, M. (1991): *The Pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves.* J. Anim. Sci., 69. 4538-4554.
  23. HENRICK, G.M., FRY, J.L., DAMRON, B.L., HARMS, R.H. (1970). *Evaluation of dienestrol diacetate supplementation of broiler finisher feeds on pigmentation, growth characteristics and market quality.* Poultry Sci., 49: 222-225.
  24. KAHUNYO, J.M., MAITAI, C.K. (1986). *Organochlorine pesticide residues in chicken fat.* Poultry Science, 65:6.1084-1089.
  25. KAPHALIA, B.S., SETH, T.D. (1981). *DDT and BHC residues in some body tissues of goats, buffalo, and chickens, luckno.* India. Pestic Monit J.15(2):103-6.
  26. KAYA, S. (2002): *Pestisidler 385-535. Alınmıştır: S. Kaya, I. PİRİNÇİ, A. Bilgili: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji.* Medisan Yayın Serisi: 53.
  27. KAYA, S., BİLGİLİ, A. (1996). *Pestisidler ve yol açabilecekleri başlıca sorunlar.* Türk Vet. Hek. Derg. 8(4): 28-37.
  28. KAYA, S., PİRİNÇİ, İ., TRAF, B., ÜNSAL, A., BİLGİLİ, A., AKAR, F., DOĞAN, A., YARSAN, E. (2002). *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji.* Baskı 3. Medisan Yayınevi.
  29. KRISTA, L. M., SAUTTER, J. H., WAIBEL, P. E. (1969). *Influence of des on the turkey with special reference to histological changes in the aorta.* Poultry Sci., 48: 1961-1968.
  30. MEYER, H.D., RINKO, L., DÜRSCH, L. (1991). *Residue Screening for the  $\beta$ -agonist Clenbuterol, Salbutamol and Cimaterol in urine using EIA and HPLC.* J. Chromatography, 564. 551-556.
  31. MILLER, M.F., GARCIA, D.K., COLEMAN, M.E., EKEREN, P.A., LUNT, D.K., WAGNER, K.A., PROCNOR; M., WELSH, T.H. Jr., SIMITH; S.B. (1988): *Adipose tissue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol fed heifers.* J. Anim. Sci., 66 (1): 12-20.
  32. MILLS.P.A. (1959). *Detection and semiquantitative estimation of chlorinated organic pesticide residues in food by paper chromatography.* J.A.O.A.C.42:734-740
  33. MUGAMBI, J.M., KANJA,L., MAITHO,T.E. (1989). *Organochlorine pesticide residues in domestic fowl (Gallus domesticus) eggs from central Kenya.* J. Sci. of Food and Agric. 48:2,165-176.
  34. ORY, H.W. (1983): *The noncontraceptive health benefit from oral contraceptive use.* Symposium on Anabolics in Animal Production, Paris. 15<sup>th</sup>-17<sup>th</sup>. February.
  35. PELOSI, P., STEFANELLI, P., ATTARD BARBINI, D., GENERALI, T., AMENDOLA, G., GIROLIMETTI, S., VANNI, F., DI MUCCIO, A. (2002). *Methods for organochlorine, organophosphorus, pyrethroid and carbamate pesticide residues in foods of animal origin.* The Italian National Reference Laboratory (Pesticide Residues Section of the ISS-Istituto Superiore di Sanità (National Institute of Health)-Roma.
  36. RYLEY, J. W., MOIR, K. W., PEPPER, R. M., BURTON, H. W. (1970). *Effect on hexoestrol implantation and body size on the chemical composition and body components of the chickens.* Poultry Sci.. 11: 89-91.
  37. STAN, H. J., ABRAHAM, B. (1980). *Determination of residues of anabolic drugs in meat by gas chromatography-mass spectrometry.* Journal of Chromatography. 195: 231-241.
  38. STEPHANY ,R. (1982). *The detection of des in the urine of veal calves and cattle via various chemical methods.* Report from Rijks Institute of Public Health, Bilthoven, Holland.
  39. TAYLOR, W. (1983). *Risk associated with the Exposure of Human Subjects to endogenous and exogenous anabolic steroids.* Symposium on Anabolics in Animal Production Paris 15 th-17<sup>th</sup>, February.
  40. TAYLOR, W. (1983). *The Relationship Between Steroids and Cancer in Man, and its Relevance to the Use of Steroidal Anabolic Agents in Farm Animals.* Congress Varsovie. England.
  41. WILEY, J. (1988): *A rapid liquid solid extraction procedure for the quantification of Clenbuterol in urine.* Biomed Environ Mass Spectrum. 17. 415-416.
  42. YAMAMOTO, I., IWATA, K., NAKASHIMA, M. (1985): *Pharmacokinetics of plasma and urine Clenbuterol in man, rat and rabbit.* J. Pharmacobio-Dyn,8, 385-39