

# Kontrola uporabe tvari s anaboličkim učinkom u proizvodnji mesa

Pleadin<sup>1</sup>, J. A. Vulić<sup>1</sup>, N. Peršić<sup>1</sup>

Stručni rad

## Sažetak

U ovom radu dan je pregled rezultata pretraživanja uzoraka biološkog materijala na prisutnost tvari s anaboličkim učinkom. Tijekom 2008. godine u okviru Državnog programa monitoringa rezidua u svim županijama Republike Hrvatske uzorkovani su uzorci urina, jetre, krv i mišića različitih životinjskih vrsta i to na farmama tijekom tova životinja te na klaonici. Na istima su provedena ispitivanja tvari iz skupine stilbena, prirodnih i sintetskih steroida, laktona rezorciklične kiseline i beta-agonista. U analizama su primjenjene validirane kvantitativne metode: imunoenzimska metoda (ELISA) kao screening metoda te tekućinska kromatografija (LC/MS/MS) ili plinska kromatografija (GC/MS/MS) u kombinaciji sa masenom spektrometrijom kao potvrđne metode. Temeljem saznanja o izrazitoj toksičnosti tvari s anaboličkim učinkom, njihovoj kumulaciji te mogućoj prisutnosti u proizvodima životinjskog podrijetla, ukazano je na važnost provođenja sustavnog nadzora i kontrole ostataka ovih tvari u svim fazama proizvodnje hrane animalnog podrijetla uz primjenu propisanih zakonskih odrednica i suvremenih analitičkih metoda u njihovoj detekciji.

**Ključne riječi:** tvari s anaboličkim učinkom, biološki materijal, analitičke metode

## Uvod

U stočarskoj proizvodnji upotrebjavaju se velike količine tvari sa biološkom aktivnošću kod životinja, poput aditiva, vitamina i elemenata u tragovima, lijekova za sprječavanje ili liječenje različitih bolesti, te anabolika kao pospješivača rasta. Anabolici u stočarskoj proizvodnji su organsko-kemijske supstancije koje stimuliraju rast tkiva svojim utjecajem na metaboličke procese uključene u sintezu proteina, a ta stimulacija osobito je izražena u stanicama skeletnih mišića. Isto tako, anabolici smanjuju količinu masnog tkiva zbog stimulacije lipolitičkih procesa te poboljšavaju iskoristivost hrane (Meyer i Karg, 1989; Lone, 1997). Upravo zbog takvog načina djelovanja još 50-ih godina u stočarskoj proizvodnji se započelo sa njihovom

uporabom. Stilbeni i njihovi derivati su anaboličke supstancije koje su se prve počele koristiti u proizvodnji mesa. Najznačajnija je bila uporaba diethylstilbestrola (DES), heksestrola i dienestrola (Payne i sur., 1999). Brojna toksikološka istraživanja su pokazala da je DES jaki mutagen, teratogen i kancerogen (Martin i sur., 1978; Robboy i sur., 1982), te je 1981. godine od strane Europske komisije uslijedila zabrana uporabe stilbena, njihovih derivata, soli i estera te tireostatskih supstancija za tov životinja (Direktiva Vijeća 81/602/EEC; Anonim., 1981). Nakon toga u proizvodnji mesa počeli su se primjenjivati prirodni i sintetski spolni hormoni čijom uporabom se može unaprijediti rast životinja i do 20 % (Meyer, 2001). Primjena steroidnih hormona s estrogenim, gestagenim i androgenim učinkom dopuštena je u veterinarskoj praksi samo u terapeutске svrhe i to u slučajevima poremećaja oplođnja ili tijeka graviditeta, a zbog njihovog nepovoljnog djelovanja na zdravlje ljudi njihovo korištenje u anaboličke svrhe je zabranjeno Direktivom Vijeća 88/146/EEC (Ano-

**Tablica 1.** Skupina A - Tvari s anaboličkim učinkom (Heitzman, 1993)  
**Table 1** Group A – Substances with anabolic effect (Heitzman, 1993)

Oznaka skupine Mark of group	Skupina tvari Group of anabolic	Spojevi Substances
A1	STILBENI, DERIVATI STILBENA, NJIHOVE SOLI I ESTERI STILBENES, STILBENE DERIVATIVES, AND THEIR SALTS AND ESTERS	dietilstilbestrol, dienestrol, heksesterol, diethylstilbestrol, dienestrol, hexestrol
A2	ANTITIREOIDNE TVARI ANTITHYROID AGENTS	tapazol, 2-tiouracil tapazol, 2-thiouracil
	PRIRODNI STEROIDNI SPOLNI HORMONI NATURAL STEROID SEXUAL HORMONES	17β-estradiol, progesteron, testosterone
A3	SINTETSKI STEROIDNI SPOLNI HORMONI SINTETIC STEROID SEXUAL HORMONES	trenbolon, 19-nortestosteron, stanozolol, metiltestosteron, etinilestradiol, boldenon trenbolone, 19-nortestosterone, stanozolol, methyltestosterone, ethynodiol, boldenone
A4	LAKTONI REZORCILNE KISELINE RESORCYCLIC ACID LACTONES	zeranol, taleranol, zearalenol zeranol, taleranol, zearalenol
	BETA-AGONISTI BETA-AGONISTS	klenbuterol, salbutamol, cimaterol, zilpaterol, terbutalin, mabuterol, raktopamin, izoksuprin, mapenterol clenbuterol, salbutamol, cimaterol, zilpaterol, terbutaline, mabuterol, ractopamine, isoxsuprine, mapenterol
A5		

i kontrole ostataka u svim fazama proizvodnje hrane animalnog podrijetla, a temeljem propisanih zakonskih odrednica i korištenjem suvremenih analitičkih metoda u njihovoj detekciji. U kontroli rezidua tvari s anaboličkim učinkom koriste se screening i potvrđne metode sa kvalitativnom i kvantitativnom primjenom. Od screening metoda u određivanju anabolika uz radioimunoenzimski metodu (RIA) najviše se koristi imunoenzimska metoda (ELISA). Kao prikladne potvrđne metode koje udovoljavaju zadanim kriterijima i omogućavaju selektivno određivanje ostataka anabolika mogu se koristiti: tekućinska kromatografija (LC) ili plinska kromatografija (GC) uz dokazivanje spektrometrijom masa (MS) te tekućinska kromatografija (LC) ili plinska kromatografija (GC) uz dokazivanje infracrvenom (IR) spektrometrijskom detekcijom (Odluka Komisije EU 2002/657/EC; Anonim., 2002).

U Hrvatskoj je nadzor zloupotrebe anabolika tijekom tova životinja i na klaonici reguliran putem Državnog programa monitoringa rezidua (DPMR) propisanog od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja te Pravilnika o najvećim dopuštenim količinama reziduua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla (N.N. 75/2008). Analize tvari s anaboličkim učinkom provode se sukladno odredbama Pravilnika o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/2005) te se rezultati analiza u ovisnosti o ispitivanom parametru uspoređuju sa najvećom dopuštenom količinom (NDK) ili najmanjom zahtjevanom granicom učinkovitosti izvedbe metode (MRPL) odnosno u slučaju prirodnih hormona s obzirom na fiziološku razinu.

Ovaj rad daje prikaz rezultata ispitivanja prisutnosti tvari s anaboličkim učinkom primjenom validiranih analitičkih metoda u biološkom ma-

<sup>1</sup> dr. sc. Jelka Pleadin, dipl. ing. biotehnol., znanstvena suradnica, Ana Vulić, dipl. ing. preh. tehnol., znanstvena novakinja, Nina Peršić, dipl. ing. preh. tehnol., stručna suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

**Tablica 2.** Prikaz broja uzoraka te provedenih analiza po vrstama životinja  
**Table 2** Number of samples and obtained analyses according to species of animals

Vrsta životinja Species of animals	Broj uzoraka Number of samples	Broj analiza Number of analyses
Junad / Heifers	150	271
Svinje / Pigs	145	209
Perad / Poultry	123	145
Goveda / Bovine	39	62
Telad / Calves	39	59
Riba / Fishes	24	24
Ovce / Sheep	15	35
Janjad / Lambs	13	30
Konji / Horses	3	4
Kunići / Rabbits	2	2

**Tablica 3.** Vrsta i broj analiza tvari s anaboličkim učinkom provedenih tijekom 2008. godine u različitim uzorcima biološkog materijala

**Table 3** Analyses and number of analysed substances with anabolic effect performed on different biologic material samples in 2008

Skupina tvari Group of anabolic	Tvar Substances	Vrsta uzorka Substrat	Broj analiza Number of analyses
Stilbeni, derivati stilbena, njihove soli i esteri Stilbenes, stilbene derivatives, and their salts and esters	dietilstilbestrol diethylstilbestrol	urin, mišić urine, muscle	170
Steroidi Steroids	17β-estradiol 17β-oestradiol	krv blood	54
	testosteron testosterone	krv blood	41
	progesteron progesterone	krv blood	15
	trenbolon trenbolone	urin, jetra urine, liver	104
	19-nortestosteron 19-nortestosterone	urin urine	59
Laktoni rezorciklične kiseline Resorcylic acid lactones	metiltestosteron methyltestosterone	urin urine	54
	stanozolol stanazolol	urin urine	54
Beta-agonisti Beta-agonists	kerbuterol clenbuterol	urin, jetra, krv urine, liver, blood	169
UKUPNO <b>TOTAL</b>			841

terijalu uzorkovanom prema DPMR u svim županijama RH tijekom 2008. godine.

### MATERIJAL I METODE

Na analizu tvari s anaboličkim učinkom tijekom 2008. godine u Laboratoriju za analitičku kemiju Hrvatskog veterinarskog instituta dostavljeno je ukupno 553 uzorka biološkog materijala od čega 247 uzorka urina, 134 uzorka jetre, 112 uzorka krvi i 60 uzorka mišića, te su na istima provedene analize tvari iz skupine stilbena, prirodnih steroida, sintetskih steroida, laktona rezorciklične kiseline i beta-agonista.

Uzorci su analizirani primjenom imunoenzimske ELISA metode uz korištenje komercijalnih kitova proizvođača R-Biopharm (Darmstadt, Njemačka), Laboratory of Hormonology (Marloie, Belgija) i Immunolab GmbH (Kassel, Njemačka). Koncentracija anabolika u pretraženim uzorcima određena je uz primjenu R-Biopharm Ridasoft Win software programa te izražena kao ng/g odnosno ng/mL (ppb). Rezultati koncentracije anabolika interpretirani su s obzirom na NDK (0,5 ng/g, clenbuterol, jetra) odnosno MRPL (sve ostale tvari s anaboličkim učinkom u različitim matriksima). Odredena koncentracija prirodnih hormona u krvi interpretirana je u odnosu na poznate fiziološke razine. U slučaju da je ELISA metodom određena povišena koncentracija ispitne tvari, uzorci su nadalje analizirani potvrđnom metodom tekućinske kromatografije (LC-MS/MS) ili plinske kromatografije (GC-MS/MS) u kombinaciji sa mase-nom spektrometrijom u akreditiranom inozemnom laboratoriju.

### REZULTATI I RASPRAVA

U cilju sprječavanja ilegalne uporabe tvari s anaboličkim učinkom u proizvodnji mesa koja može dovesti do kumulacije ostataka te njihove prisutnosti u proizvodima životinskog podrijetla, provodi se sustavni

nadzor odnosno kontrola ostataka ovih kontaminanata u svim fazama proizvodnje mesa.

U ovom istraživanju provedena su ispitivanja razina tvari s anaboličkim učinkom u uzorcima biološkog materijala (urin, jetra, krv i mišić) kao ispitnim matriksima uzorkovanim od različitih životinjskih vrsta. Prikaz broja dostavljenih uzoraka te broja provedenih analiza s obzirom na vrstu životinja dan je u Tablici 2. Na dostavljenom biološkom materijalu provedene su analize tvari s anaboličkim učinkom po skupinama (Tablica 3).

Analitičke metode koje se koriste u određivanju anabolika trebaju prethodno biti validirane kako bi se dokazalo da ispunjavaju potrebne zahtjeve u pogledu njihove primjene. Prethodna istraživanja pokazuju da se pri korištenju komercijalno dostupnih imunoenzimskih kitova za imunoenzimski metodu postižu vrlo niski limiti detekcije odnosno visoka osjetljivost metode, brza i jednostavna analiza uzoraka, niska cijena analize, ali ujedno i nedovoljna specifičnost zbog „cross-reakcija“ spoja sa njegovim metabolitima i stereozomerima (Van Vyncht i sur., 1996; Posyniak i sur., 2003). Stoga je kvalitetu određivanja koncentracije anabolika ELISA metodom potrebno ispitati prethodnom validacijom analitičke metode (Shelver i Smith, 2000).

U slučaju sumnje na pozitivni rezultat, isti se mora dokazati jednom od potvrđnih metoda s obzirom da one daju informacije o kemijskoj strukturi analita dok metode koje se temelje isključivo na kromatografskoj analizi bez primjene spektrometrijskog dokazivanja nisu prikladne za primjenu kao potvrđne metode. Korištenje tekućinske u odnosu na plinsku kromatografiju ima prednost jer ne zahtjeva derivatizacijski korak prije analize (Lau i sur., 2004). Teme-

**Tablica 4.** Limiti detekcije screening i potvrđnih analitičkih metoda u analizama tvari s anaboličkim učinkom

**Table 4** Limits of detection for screening and confirmation analytical methods in analyses of substances with anabolic effect

Analizirani spoj Analysed substances	Limit detekcije metode (ng/mL) Method limit of detection (ng/mL)	
	screening metoda screening method	potvrđna metoda confirmation method
Dietilstilbestrol Diethylstilbestrol	0,2	0,8
17β-estradiol 17β-oestradiol	0,02	0,02
Testosteron Testosterone	0,1	0,5
Progesteron Progesterone	0,5	1,0
Trenbolon Trenbolon	0,4	0,2
19-nortestosteron 19-nortestosterone	0,4	1,6
Metiltestosteron Methyltestosterone	0,3	1,0
Stanazolol Stanazolol	0,5	0,6
Zeranol Zeranol	0,2	1,0
Klenbuterol Clenbuterol	0,1	0,1

Ijem Odluke Komisije EU 2002/657/EC, koja se odnosi na analitičke metode za određivanje ostataka anabolika u biološkom materijalu, u RH je donesen Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/2005).

Sukladno zahtjevima navedenog pravilnika, u ovom istraživanju u analizama anabolika primijenjene su imunoenzimske ELISA metode prethodno validirane kao kvantitativne metode kroz određivanje validacijskih parametara i to: iskoristjenja, ponovljivosti, unutarlaboratorijske obnovljivosti, istinitosti, specifičnosti, robusnosti, te sposobnosti dokazivanja metode (CCB). Usporedbom sa kriterijima prihvatljivosti definiranim za svaki validacijski parametar, utvrđena je prihvatljivost rezultata validacije, a time i prikladnost primjenjenih analitičkih metoda za određivanje koncentracije tvari s anaboličkim učinkom u biološkom materijalu.

Zabranu primjene tvari s anaboličkim učinkom zakonski je regulirana Naredbom o zabrani primjene određenih beta-agonista te tvari hormonskog i tireostatskog učinka na farmskim životinjama (N.N. 112/2008) uvažavajući pritom i odredbe Pravilnika o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla (N.N. 75/2008). Navedeni dokumenti izuzimaju mogućnost primjene 17β-estradiola i beta-agonista u terapeutске svrhe kod goveda dok je primjena svih ostalih tvari s anaboličkim učinkom potpuno zabranjena.

## The control of using substances with anabolic effect

### Summary

This paper presents the results' review of researching samples of biological material on the presence of substances of anabolic effect. Within the National Monitoring Programme of Residues in all the counties of the Republic of Croatia, samples of urine, liver and muscle of different animal species were taken in 2008 on farms during fattening and at slaughterhouse. Researches of substances from the group of stilbenes, natural and synthetic steroids, resorcylic acid lactones and beta antagonists were performed on these samples. Analyses used validated quantitative methods: immunoenzymatic method (ELISA) as the screening method, then liquid chromatography (LC/MS/MS) or gas chromatography (GC/MS/MS) in a combination with mass spectrometry as confirmation method. Based on knowledge on high toxicity of substances with anabolic effect, their cumulation and a possible presence in the products of animal origin, the importance of applying systematized supervision and the control of remains of these substances in all the stages in producing food of animal origin was indicated, with applying proscribed legal regulations and contemporary analytical methods in their detection.

**Key words:** substances with anabolic effect, biological material, analytical methods

Rezultati analiza ispitnih uzoraka u našim istraživanjima interpretirani su s obzirom na najveću dopuštenu količinu (NDK) za klenbuterol u jestivom tkivu ili najmanje zahtjevnu granicu učinkovitosti izvedbe metode (MRPL) za sve zabranjene tvari. U interpretaciji rezultata koncentracije prirodnih hormona 17 $\beta$ -estradiola, testosterona i progesterona u krvi uzete su u obzir njihove fiziološke razine karakteristične za pojedinu životinjsku vrstu, spol i starost životinje.

Provrednom screening metoda, te prema potrebi potvrđnih metoda, u svim ispitnim uzorcima određena je koncentracija tvari s anabolickim učinkom manja od NDK ili MRPL, a u slučaju prirodnih hormona određene su njihove fiziološke razine. Rezultati analiza su pokazali da tijekom 2008. godine u Hrvatskoj nije bilo zloupbrane tvari s anabolickim učinkom u proizvodnji mesa.

### ZAKLJUČAK

Rezultati ispitivanja pokazuju da je u svim ispitanim uzorcima biološkog materijala koncentracija tvari s anabolickim učinkom bila manja od najveće dopuštene količine (NDK) ili najmanje zahtjevane granice učinkovitosti izvedbe primjenjene ana-

ltičke metode (MRPL). Ispitivanjima razine prirodnih hormona u krvi određene su fiziološke razine istih uzimajući u obzir vrstu, spol i starost životinje. Provedenim ispitivanjima utvrđeno je da u proizvodnji mesa u Hrvatskoj tijekom 2008. godine nije bilo zloupbrane tvari s anabolickim učinkom.

### LITERATURA

- Anonimno (1981): Commission of the European Communities; Council Directive 81/602/EEC on the prohibition of substances having a hormonal and thyrostatic action. Off J. Eur. Commun. Legis. L 222.
- Anonimno (1988): Commission of the European Communities; Council Directive 88/146/EEC on the prohibition of the use of certain substances having a hormonal action in animal rearing. Off J. Eur. Commun. Legis. L 70.
- Anonimno (2002): Commission of the European Communities; Commission decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Off J. Eur. Commun. Legis. L 221.
- Anonimno (2005): Pravilnik o provodnju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (NN 2, 2005).
- Anonimno (2008): Naredba o zabrani primjene određenih beta-agonista te tvari hor-
- monskog i tireostatskog učinka na farmskim životinjama. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ruralnog razvoja (NN 112/2008).
- Anonimno (2008): Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama rezidua veterinarsko-medicinskih proizvoda u hrani životinjskog podrijetla. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ruralnog razvoja (NN 75/2008).
- Heitzman, R.J. (1993): Coordination of information on residues of veterinary drugs in the European Community. *Anal. Chim. Acta*. 275, 17-22.
- Lau, J.H.W., C.S. Kho, J.E. Murby (2004): Determination of clenbuterol, salbutamol, and cimaterol in bovine retina by electrospray ionization-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 87, 31-38.
- None, K.P. (1997): 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.* 37, 193-209.
- Martin, C.N., A.C. McDermid, C. Garner (1978): Testing of known carcinogens and noncarcinogens for their ability to induce unscheduled DNA synthesis in HeLa cells. *Cancer Res.* 38, 2621-2627.
- Meyer, H.H.D., H. Karg (1989): Growth stimulators for farm animals: mode of action, effects on meat quality and potential risks originating from residues. U: *Proceedings FAO/CAAS Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia*

## Kontrolle des Substanzegebrauchs mit anaboler Wirkung in Fleischherstellung

### Zusammenfassung

In dieser Arbeit ist die Übersicht der Resultate der Musteruntersuchung von biologischem Material auf Anwesenheit der Substanz mit anaboler Wirkung gegeben. Im Laufe des Jahres 2008 und im Rahmen des Staatsprogramms des Monitorings von Residuum in allen Gespannschaften der Republik Kroatien wurden die Muster von Urin, Leber, Blut und Muskeln verschiedener Tiergattungen geprüft, u.zw. dies während der Mast und im Schlachthof. Auf diesen Mustern wurden die Untersuchungen von Substanzen aus den Gruppen Stilbenen, natürlichen und synthetischen Steroiden, Laktonen der resorzyklischen Säure und Beta-Agonisten durchgeführt. Bei den Analysen sind valide quantitative Methoden verwendet: immunoenzym Methode (ELISA) und screening Methode sowie Flüssigkeitschromatographie (LC/MS/MS) oder Gaschromatographie (GC/MS/MS) in der Kombination mit Massenspektrometrie als Bestätigungsweise. Auf Grund der Erfahrung über die ausgesprochene Toxizität der Substanz mit anaboler Wirkung, deren Kummulation und der möglichen Anwesenheit in den Erzeugnissen animaler Herkunft, wurde hingewiesen, auf die Notwendigkeit der Durchführung einer ständigen Aufsicht und Kontrolle der Reste von diesen Substanzen in allen Herstellungsphasen der Nahrung animaler Herkunft, unter Anwendung aller gesetzlichen Richtlinien und zeitgenössischen analytischen Methoden in deren Detektion.

**Schlüsselwörter:** Substanzen mit anaboler Wirkung, biologisches Material, analytische Methoden

and Latin America, Beijing, 49-58.

Meyer, H.H.D. (2001): Biochemistry and physiology of anabolic hormones used for improvement of meat production. *Apmis*. 109, 1-8.

Payne, M.A., R.E. Baynes, S.F. Sundlof, A. Craigmill, A.I. Webb, J.E. Riviere, (1999): Drugs prohibited from extralabel use in food animals. *Javma*. 215, 28-32.

Shelver, W.L., D.J. Smith, (2000): Evaluation of commercial immunoassays for cross-reactivity to clenbuterol stereoisomers and bovine metabolites. *Food Addit. Contam.* 17, 837-845.

raphy. *Anal. Chim. Acta*. 483, 61-67.

Robboy, S.J., O. Taguchi, G.R. Cunha, (1982) Normal development of the human female reproductive tract and alterations resulting from experimental exposure to diethylstilbestrol. *Human. Pathol.* 13, 190-198.

Posyniak, A., J. Zmudzki, J. Niedzielska (2003) Screening procedures for clenbuterol residue determination in bovine urine and liver matrices using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromato-

ysis for  $\beta$ -agonists: Results of an EC cooperative study and future perspectives. U: *Proceedings of the Euroresidue II conference*, Veldhoven, The Netherlands, 308-312.

Van Vyncht, G., S. Preece, P. Gaspar, G. Maghuin-Rogister, E. DePauw, (1996) Gas and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the multi-residue analysis of  $\beta$ -agonists in biological matrices. *J. Chromatogr. A*. 750, 43-49.

**Dostavljeno 24.10.2009.**  
**Prihvaćeno 3.11.2009**

## Il controllo dell'uso delle sostanze con l'effetto anabolico nella produzione della carne

### Sommario:

Questo lavoro contiene i risultati dell'investigazione dei campioni del materiale biologico in cui erano cercate le sostanze con l'effetto anabolico. Durante il 2008, nell'ambito del Programma statale di monitoraggio residui in tutte le regioni della Repubblica di Croazia sono stati presi i campioni di urina, fegato, sangue e muscoli di animali vari, nelle fattorie per l'allevamento, e in macellerie. Su questi campioni analizzati sono state ricercate le sostanze dai gruppi di stilbene, steroidi naturali e sintetizzati, lattoni dell'acido resorcidlico e sostanze beta-agoniste. Nelle analisi sono stati applicati i metodi quantitativi di validazione: il metodo immunoenzimatico (ELISA) come il metodo screening e la cromatografia liquida (LC/MS/MS) o la gas cromatografia (GC/MS/MS) in combinazione con la spettrometria di massa come un metodo affermativo. Siccome è ben noto che le sostanze con l'effetto anabolico sono altamente tossiche, si cumulo ed è probabile che siano presenti nei prodotti alimentari dell'origine animale, quest'articolo sottolinea l'importanza del monitoraggio sistematico e del controllo residui di queste sostanze in tutte le fasi di produzione alimentare dell'origine animale, pur applicando i regolamenti legislativi prescritti e i moderni metodi di analisi con lo scopo di scoprirle.

**Parole chiave:** sostanze con l'effetto anabolico, materiale biologico, metodi di analisi