

禽畜產品中己烯雌酚及 Hexestrol 殘留量調查

陳惠章 鄭守訓 林阿洋

南部檢驗站

摘 要

行政院衛生署於民國九十年公告修訂『動物用藥殘留標準』，己烯雌酚之殘留標準為 0 ppm，而 Hexestrol 則不得檢出。

本計畫於民國九十二年三月至九月間在台灣地區傳統市場及超市等抽驗市售豬肉、豬肝、豬心、雞肉、雞心、雞肫、雞肝等檢體共 82 件，以行政院衛生署公告「食品中動物用藥殘留量檢驗方法——己烯雌酚及 Hexestrol 之檢驗」方法予以檢測，檢體先以乙腈萃取，經氧化鋁淨化管柱淨化後，利用高效液相層析儀配合紫外光檢出器以 C₁₈ 層析管柱分析定量，結果均未檢出。

關鍵詞：己烯雌酚(DES)、Hexestrol、禽畜肉、高效液相層析法。

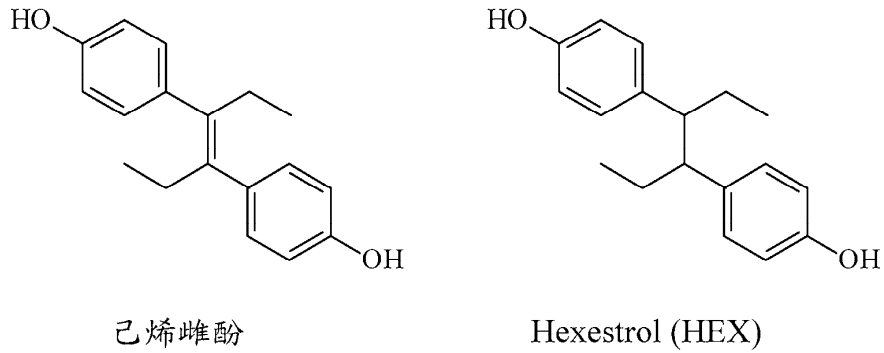
前 言

己烯雌酚 (diethylstilbestrol) 及 Hexestrol (HEX) 皆為非類固醇型的人工合成女性賀爾蒙，與雌激素作用相似，同時具有蛋白同化作用的功能，添加在動物飼料之目的在於提高飼料轉換率、促進動物快速生長、提高瘦肉比率⁽¹⁻³⁾。己烯雌酚及 HEX 因與人體內的荷爾蒙分子結構相似，會引起胚胎變成畸形兒，使發育中的小孩，提早出現第二性特徵⁽⁴⁾，也會造成人體內的荷爾蒙過量而形成腫瘤，被認定為致癌物 (Carcinogen)，所以在 1979 年美國、加拿大及歐盟宣布禁用，我國隨後也禁用。

己烯雌酚與 HEX 均為 bisphenol 型化合

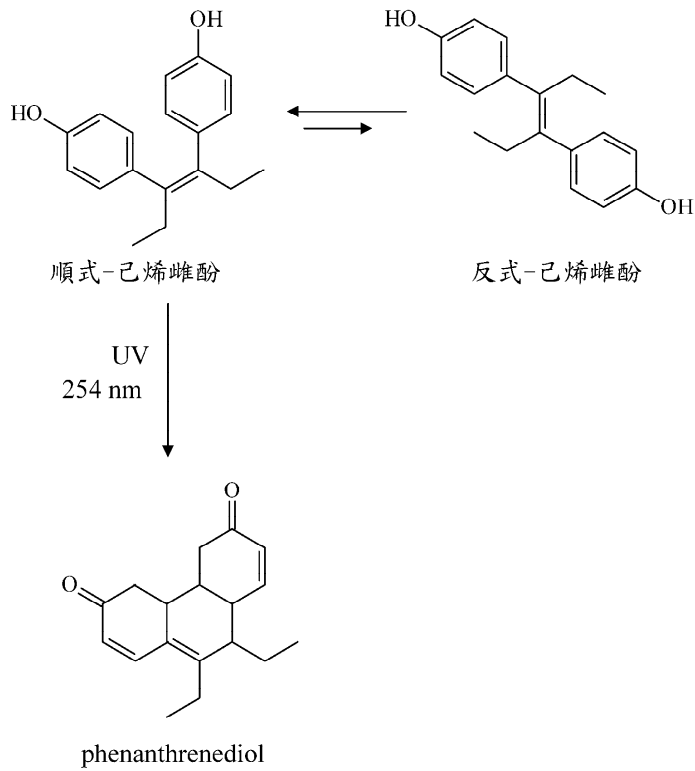
物，己烯雌酚有順反兩式異構物，反式比順式更具雌激素藥性，順反式異構物在溶液中會互相轉換，若溶液中有足夠的氫鍵存在時（例如乙醇溶液），可阻礙順式轉變成反式⁽⁴⁾。己烯雌酚構造⁽⁵⁾（如圖一）特性是 bisphenol 環上的 OH 基在鹼性環境下會解離一個氫質子，形成帶負電荷，對光敏感會進行光分解反應（如圖二）。HEX 之藥性比己烯雌酚弱，與己烯雌酚在結構上的差異為中間沒有雙鍵⁽⁵⁾（如圖一）。

行政院衛生署於民國九十年公告修訂「動物用藥殘留標準」⁽⁶⁾規定己烯雌酚殘留標準為 0 ppm，HEX 則為不得檢出。己烯雌酚及 HEX 之分析方法有薄層層析法 (TLC)^(3,7)，高效液相層析法 (HPLC)^(1,4,8-12)，氣相層



圖一、己烯雌酚及 HEX 標準品之化學結構式。

Figure 1. Chemical structures of diethylstilbestrol and hexestrol.



圖二、己烯雌酚之光分解流程圖。

Figure 2. The pathway of decomposition of DES by UV light.

析法 (GC) ⁽¹³⁻¹⁴⁾，氣相層析/質譜法 (GC/MS) ⁽¹⁵⁻²⁰⁾，超臨界萃取-超臨界層析/質譜法/質譜法 (SFE-SFC/MS/MS) ⁽⁵⁾，高效液相層析-氣相層析/質譜法 (HPLC-GC/MS) ⁽²¹⁻²⁶⁾，放射線免疫法 (RIA) ⁽²⁷⁾。TLC 法僅能做為篩檢試驗 (screening test) 及淨化效果，GC 方法無法分出順式和反式結構的吸收波峰⁽¹⁾，目前檢測禽畜產品的文獻都使用氣相層析/質譜法⁽¹⁵⁻²⁰⁾，因檢體之干擾雜質，使用高選擇性的質譜檢出器可避免雜質干擾及靈敏度較高，但氣相層析/質譜法的普及性低且儀器成本高，而高效液相層析法，在干擾雜質不多的檢體，如藥劑之檢測，均有良好的分析圖譜，但在干擾雜質多的肉品、肝臟檢體中，發現層析圖譜吸收波峰相當多，且淨化不易。Abramson *et al.* ⁽¹⁸⁾認為使用 β -glucuronidase 酵素將己烯雌酚及 HEX 從組織中釋出，可使回收率提高，但 Reuvers *et al.* ⁽¹¹⁾經研究探討結果發現在肌肉組織中己烯雌酚及 HEX 以游離狀態存在，而尿液中才是以結合型態代謝至體外，因此檢驗尿液檢體時，才需使用 β -glucuronidase 酵素水解釋放己烯雌酚或 HEX。

本實驗利用行政院衛生署公告方法⁽²⁸⁾對市售豬肉、豬肝、雞肉、雞肝等檢體加以檢測，以瞭解市售品中殘留情形，提供有關單位行政管理參考，以確保禽畜產品之安全，維護大眾健康。

材料與方法

一、檢體來源：

本研究所使用之檢體係民國九十二年三月至九月間抽驗自桃園縣、新竹縣、台中市、嘉義市、台南市、高雄市、花蓮縣、台東縣各傳統市場及超市等，其中豬肉、豬

肝、豬心、雞肉、雞肫、雞心、雞肝分別為 22 件、20 件、1 件、21 件、9 件、6 件、3 件，共計 82 件，如表一。

表一、台灣地區各縣市市售禽畜產品之抽樣情形

地區別	縣市別	抽樣件數
北部地區	桃園縣	10
	新竹縣	10
中部地區	台中市	10
南部地區	嘉義市	10
	台南市	9
	高雄市	10
東部地區	花蓮縣	13
	台東縣	10
合 計		82

二、試藥：

己烯雌酚及 HEX 對照標準品購自 Sigma, U.S.A.，磷酸二氫鈉及磷酸氫二鈉採用試藥特級，甲醇、乙腈、丙酮、正己烷、二氯甲烷均採用 LC 級。中性氧化鋁 (90 mesh) 採用層析級。

三、儀器與設備

(一) 高效能液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography), LC-UV：系統包括：

- (1) 溶媒輸送系統：Shimadzu LC-10ATVP Pump (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).
- (2) 紫外光偵測器：Shimadzu SPD-10A, UV-VIS spectrophotometric detector. (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).
- (3) 脫氣裝置：GASTORR GT-103 (Lab-

Quatec Co., LTD., Japan)

(4)層析管：Lichrospher 100 RP-18, 5 μ m, I.d. 4 mm $\times$ 25 cm (E. Merck, Darmstadt, F. R. Germany)。

(5)積分儀：SISC 32 中文版 2.01 電腦積分器，訊華公司

(6)濾膜：孔徑 0.45 μ m, polyvinylidene difluoride 材質。

(7)光二極體陣列檢出器 (Diode array detector)：Shimadzu SPD-M 10A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)。

(二)檢體萃取系統包括：

(1)攪拌均質器 (Blender)：果菜調理機，型號：WTI-168A，ROC

(2)均質機 (Homogenizer)：Nissei AM-3 (Nihonseiki Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)。

(三)減壓濃縮裝置 (Rotary evaporator) 系統包括：

(1) Büchi 461 Water bath

(2) Büchi RE 121 Rotavapor

(3) Büchi 168 Vacuum/Distillation Controller

(4) Sibata circulating aspirator WJ-20

(四)氧化鋁淨化管柱：內徑 0.8 $\times$ 4 cm，下端鋪一層聚乙烯墊片之塑膠層析管柱，內填充中性氧化鋁 500 mg，在管柱上端再鋪玻璃棉。

四、標準溶液之調製：

取己烯雌酚及 HEX 對照標準品各 100 mg，精確稱定，共置於容量瓶中，以甲醇定容至 100 mL，作為標準原液，使用時再以移動相溶液稀釋，供作標準溶液。

五、0.05M 磷酸緩衝溶液 (pH 5.4) 調製：

分別稱取磷酸二氫鈉 7.1 g 及磷酸氫二鈉

6.0 g，各以去離子水溶解並定容至 1000 mL，配製成 0.05 M 磷酸二氫鈉溶液及 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液，以 0.05 M 磷酸氫二鈉溶液調整 0.05 M 磷酸二氫鈉溶液，使 pH 為 5.4。

六、移動相溶液之調製：

乙腈與去離子水以 45：55(v/v)之比例混合後以濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液。

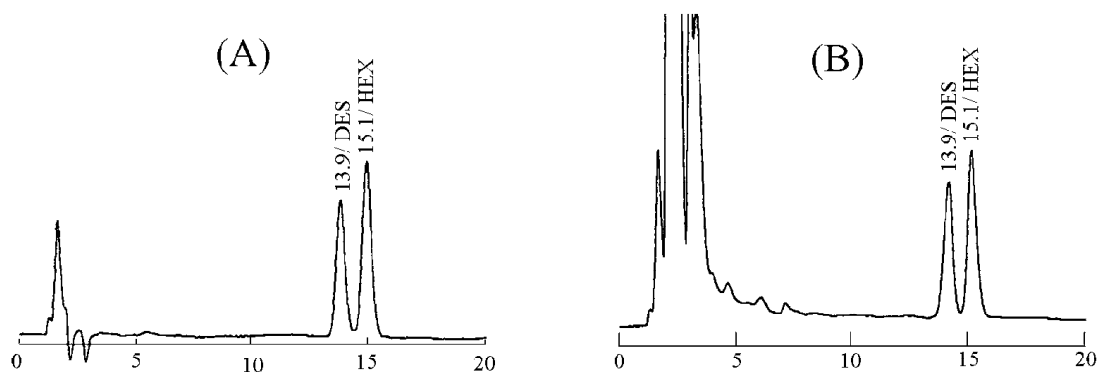
七、檢液之調製：

(一)萃取

取檢體細切，以攪拌均質器均質後，取檢體約 5 g，精確稱定，置於均質機中，加乙腈 30 mL，攪拌均質 1 分鐘後，抽氣過濾，殘渣再以乙腈 30 mL 同樣操作二次，最後再以乙腈 30 mL 清洗殘渣，合併濾液移入濃縮瓶中。於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，以 0.05 M 磷酸緩衝溶液：甲醇 (1: 2, v/v) 溶液 50 mL 分次洗濃縮瓶，洗液移入分液漏斗中。加入正己烷 50 mL，振盪 3 分鐘，棄正己烷層，以正己烷 50 mL 同樣操作二次，再加入二氯甲烷 50 mL，振盪 3 分鐘，收集二氯甲烷層，以二氯甲烷同樣操作二次，每次 50 mL，合併二氯甲烷層，移入濃縮瓶中，於 40°C 水浴減壓濃縮至乾，殘留物以去離子水：丙酮 (5：95, v/v) 溶液 0.3 mL 溶解，供作淨化用。

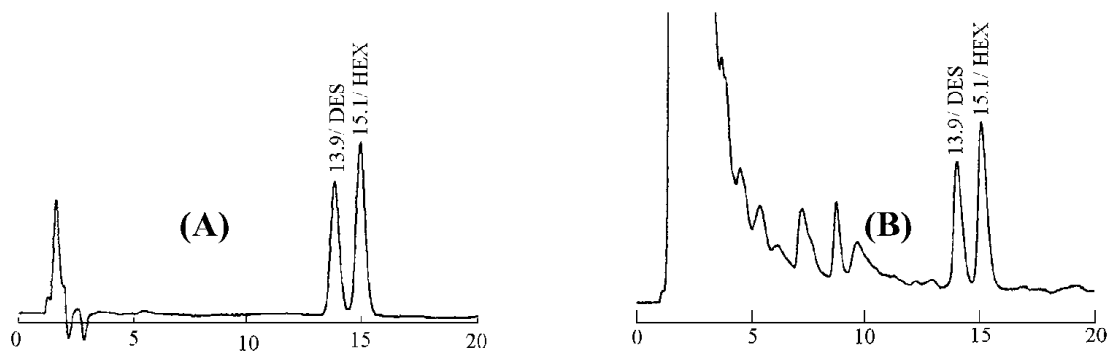
(二)淨化

取七.(一)節之淨化用溶液，注入預經去離子水：丙酮 (5: 95, v/v) 溶液 10 mL 潤洗過之氧化鋁管柱，以去離子水：丙酮 (5: 95, v/v) 溶液 4 mL 注入管柱沖提，收集沖提液至 10 mL 刻度試管中，於 40°C 水浴中減壓濃縮至乾，以移動相溶



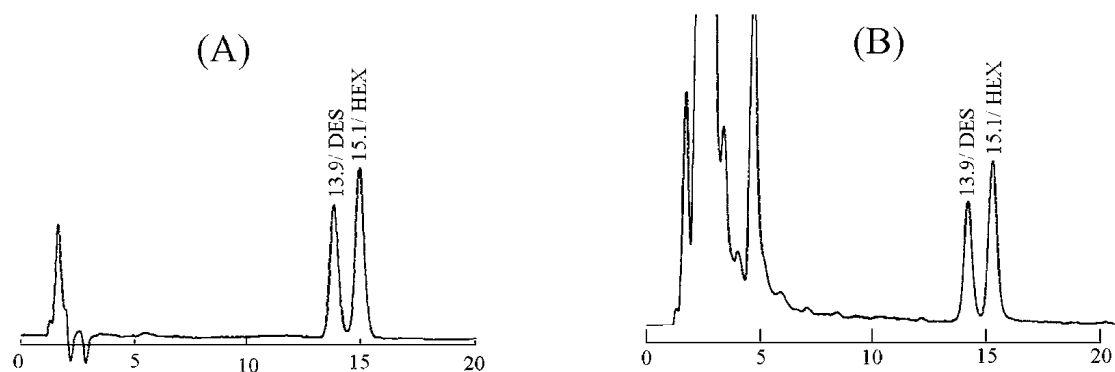
圖三、DES 及 HEX 添加 0.08 ppm 於豬肉之液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品(B)添加 DES 及 HEX 於豬肉中。

Figure 3. HPLC chromatograms of (A) DES and HEX standard solution (B) pork spiked with 0.08 ppm DES and HEX.



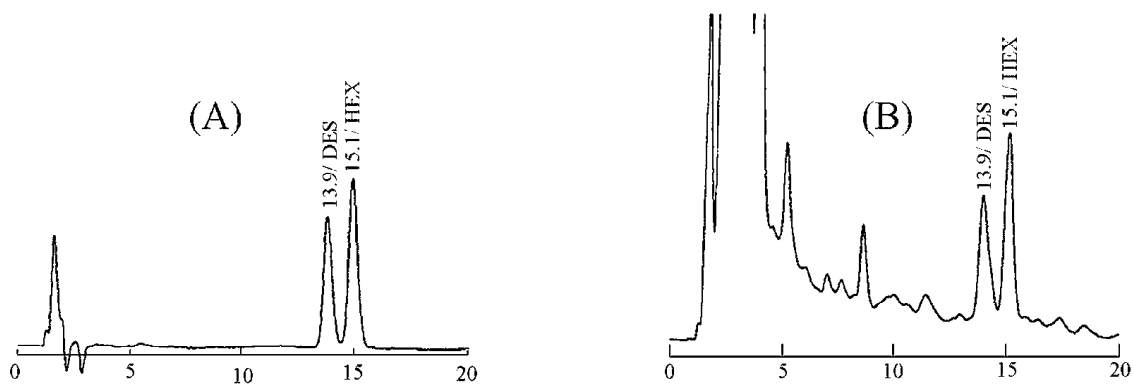
圖四、DES 及 HEX 添加 0.08 ppm 於豬肝之液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品(B)添加 DES 及 HEX 於豬肝中。

Figure 4. HPLC chromatograms of (A) DES and HEX standard solution (B) swine liver spiked with 0.08 ppm DES and HEX.



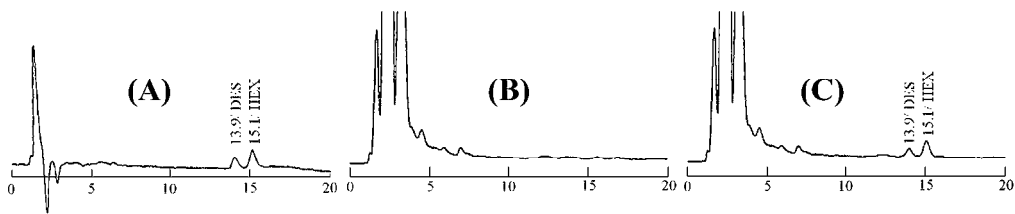
圖五、DES 及 HEX 添加 0.08 ppm 於雞肉之液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品(B)添加 DES 及 HEX 於雞肉中。

Figure 5. HPLC chromatograms of (A) DES and HEX standard solution (B) chicken muscle spiked with 0.08 ppm DES and HEX.



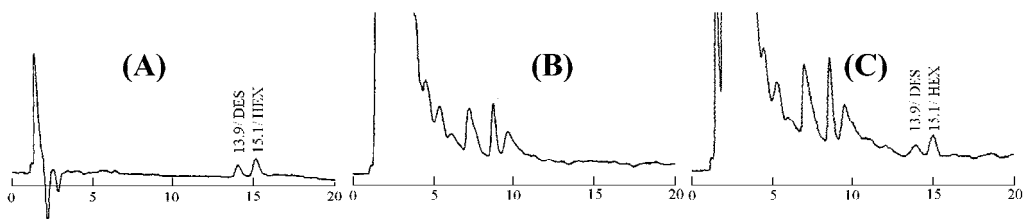
圖六、DES 及 HEX 添加 0.08 ppm 於雞肝之液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品(B)添加 DES 及 HEX 於雞肝中。

Figure 6. HPLC chromatograms of (A) DES and HEX standard solution (B) chicken liver spiked with 0.08 ppm DES and HEX.



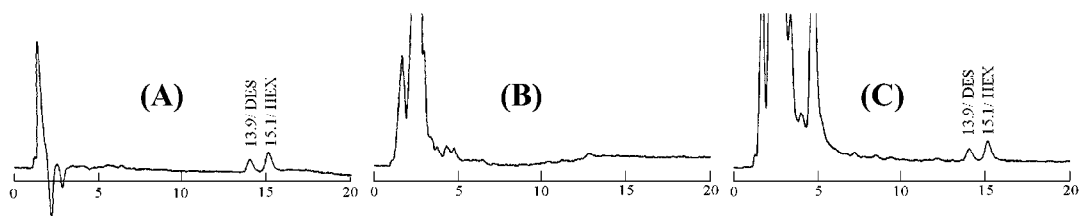
圖七、DES 及 HEX 添加 0.01 ppm 於豬肉中之最低檢出限量液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品 (B)豬肉空白檢體(C)添加 DES 及 HEX 於豬肉。

Figure 7. HPLC chromatograms of the detection limit of (A) DES and HEX standard solution (B) blank pork (C) pork spiked with 0.01 ppm DES and HEX.



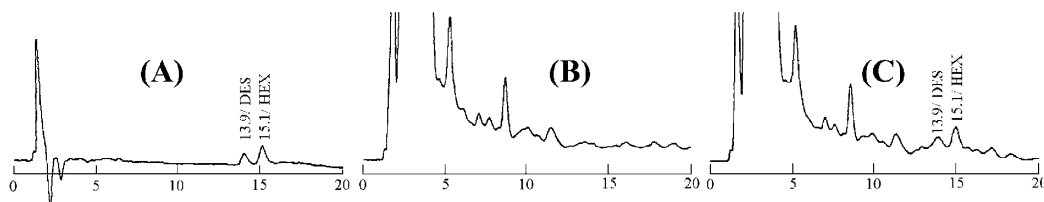
圖八、DES 及 HEX 添加 0.01 ppm 於豬肝中之最低檢出限量液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品 (B)豬肝空白檢體(C)添加 DES 及 HEX 於豬肝。

Figure 8. HPLC chromatograms of the detection limit of (A) DES and HEX standard solution (B) blank swine liver (C) swine liver spiked with 0.01 ppm DES and HEX.



圖九、DES 及 HEX 添加 0.01 ppm 於雞肉中之最低檢出限量液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品 (B)雞肉空白檢體(C)添加 DES 及 HEX 於雞肉。

Figure 9. HPLC chromatograms of the detection limit of (A) DES and HEX standard solution (B) blank chicken muscle (C) chicken muscle spiked with 0.01 ppm DES and HEX.



圖十、DES 及 HEX 添加 0.01 ppm 於雞肝中之最低檢出限量液相層析圖譜(A) DES 及 HEX 標準品 (B)雞肝空白檢體(C)添加 DES 及 HEX 於雞肝。

Figure 10. HPLC chromatograms of the detection limit of (A) DES and HEX standard solution (B) blank chicken liver (C) chicken liver spiked with 0.01 ppm DES and HEX.

液溶解並定容至 1mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

八、鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20μL，分別注入高效液相層析儀中，參照下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中己烯雌酚及 HEX 之含量(ppm)：

$$\text{檢體中己烯雌酚或 HEX 含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

V：檢體最後經淨化定容之體積(mL)。

C：由各標準曲線求得檢液中己烯雌酚或 HEX 之濃度(μg/mL)。

M：取樣分析檢體之重量(g)。

高效液相層析測定條件：

紫外光檢出器：波長 229 nm。

移動相溶液：依六節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

九、添加回收試驗：

取均質後之檢體，加入適量之己烯雌酚及 HEX 標準溶液，攪拌均勻，靜置 1 小時，依前述方法調製，使成 0.02、0.04、0.08 ppm

檢體濃度，每一添加量作三重覆，同時作空白試驗，加以定量求出其回收率（如圖三~圖六）。

十、最低檢出限量試驗

取均質空白檢體，加入適量之己烯雌酚及 HEX 標準溶液依前述方法調製成檢液進行分析，以訊號比 (s/n ratio) 大於 3 作為判定基準，估計其最低檢出限量（如圖七~圖十）。

結果與討論

己烯雌酚、HEX 及受體素 (β-agonist) 等皆為非類固醇型的人工合成女性賀爾蒙，與雌激素作用相似，同時具有蛋白同化作用的功能，添加在動物飼料之目的在於提高飼料轉換率、促進動物快速生長、使動物強壯及增加瘦肉比例⁽¹⁻³⁾。己烯雌酚、HEX 及受體素等人工荷爾蒙，因與人體內的荷爾蒙分子結構相似，會造成體內荷爾蒙過量，引起胚胎變成畸形兒，使發育中的小孩，提早出現第二性特徵⁽¹⁾，也會造成人體內的腫瘤形成，如卵巢癌、乳癌、前列腺癌等，被認定為致癌物 (Carcinogen)，因此 1979 年美國、加拿

表二、台灣地區市售禽畜產品抽驗之檢體類別

檢體類別	檢 體 數 (件數)				
	北部地區	中部地區	南部地區	東部地區	合計
豬肉	5	5	5	7	22
豬肝	5	5	5	5	20
豬心	0	0	0	1	1
雞肉	5	0	11	5	21
雞肫	4	0	4	1	9
雞心	1	0	4	1	6
雞肝	0	0	0	3	3
合計	20	10	29	23	82

表三、雞肉、雞肝、豬肉、豬肝中添加 DES 及 HEX 之回收率

Table 3. Recoveries of DES and HEX spiked into chicken muscle, chicken liver, pork and swine liver.

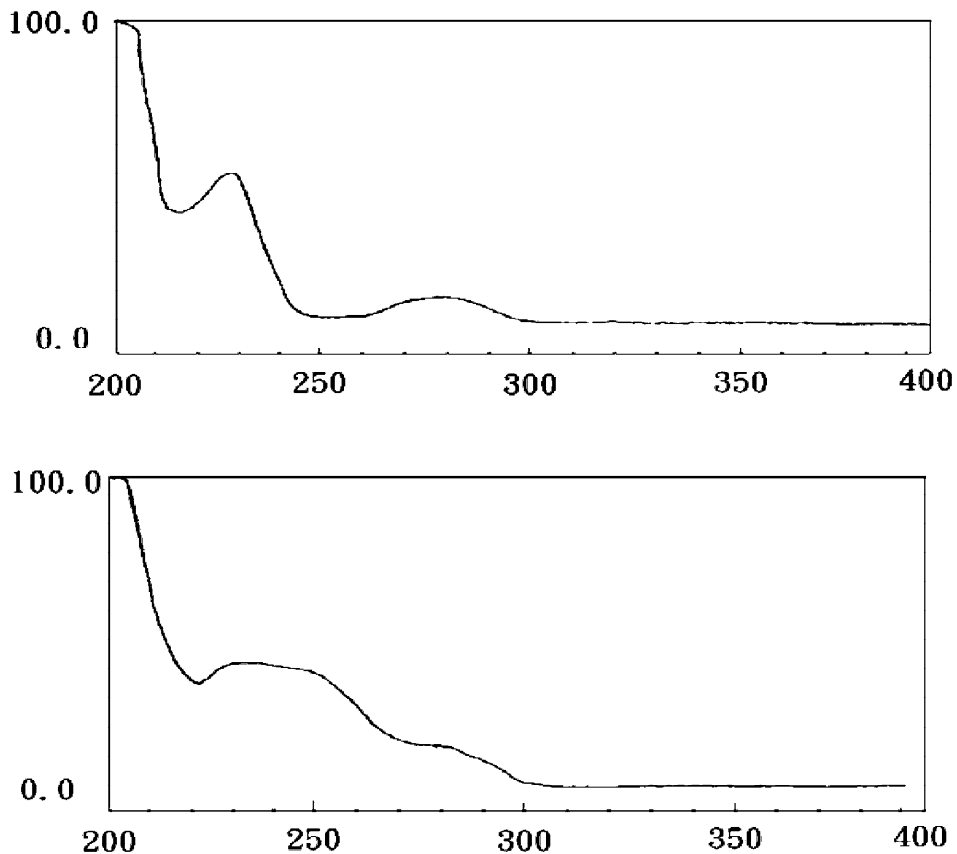
Sample	Spiked level (ppm)	DES	HEX
		Recovery ^a (%)	Recovery (%)
Chicken muscle	0.02	87.5(2.79) ^b	91.3(3.48)
	0.04	87.2(3.02)	90.2(3.12)
	0.08	87.4(2.86)	91.7(2.60)
Chicken liver	0.02	83.0(2.76)	87.4(2.59)
	0.04	83.9(3.43)	89.2(3.66)
	0.08	82.9(2.58)	89.5(2.81)
Pork	0.02	86.6(2.31)	91.2(4.32)
	0.04	86.3(1.79)	91.7(3.71)
	0.08	87.2(3.47)	92.1(3.04)
Swine liver	0.02	83.2(4.45)	88.2(3.36)
	0.04	83.4(3.50)	89.3(1.98)
	0.08	83.5(3.28)	88.8(3.01)

a: average of triplicate.

b: number in parenthesis is the coefficient of variation (%).

大及歐盟開始禁用⁽²⁰⁾。為瞭解台灣地區市售禽畜產品中己烯雌酚及 HEX 之殘留情形，於 92 年度調查市售禽畜產品中己烯雌酚及 HEX 之殘留情形，針對台灣地區 8 個縣市進行抽樣調查，檢出情形如表二所示。抽驗件數包括北部地區 20 件、中部地區 10 件、南部地區 29 件以及東部地區 23 件，檢體之種類包括豬肉、豬肝、豬心、雞肉、雞肫、雞心、雞肝等 7 種，共計 82 件。依本檢驗方法檢測己烯

雌酚及 HEX 之最低檢出限量為 0.01 ppm，添加回收試驗己烯雌酚 82.9~88.0%，HEX 85.5~92.8%（表三），兩者的回收試驗皆高於 80%，表示此檢驗方法穩定適合檢驗己烯雌酚及 HEX，調查結果己烯雌酚及 HEX 均為未檢出，惟在部份檢體中疑含有己烯雌酚，但經光電二極體陣列檢出器（photodiode array detector）鑑別（如圖十一）後，確定不是己烯雌酚。本局曾於 84 及 88 年度分別進行二次



圖十一、(A)DES 及(B) HEX 溶於乙腈：水(50：50)溶液之紫外光吸收圖譜。

Figure 11. UV absorption spectrum of (A) DES and (B) HEX in acetonitrile: water (50: 50, v / v) solution.

表四、本局歷年抽驗結果統計表

年度	檢體類別	檢體數	己烯雌酚 (檢出件數)	Hexestrol (檢出件數)
84	雞肉	31	0	0
	豬肉	31	0	0
	牛肉	33	0	0
	鵝肉	5	0	0
88	雞肉	3	0	0
	雞肝	6	0	0
	豬肉	13	0	0
	豬肝	12	0	0
	牛肉	13	0	0
	羊肉	3	0	0
	鵝肉	15	0	0
92	雞肉	21	0	0
	雞肝	3	0	0
	雞肫	9	0	0
	雞心	6	0	0
	豬肉	22	0	0
	豬肝	20	0	0
	豬心	1	0	0

己烯雌酚及 HEX 調查，結果均未檢出己烯雌酚及 HEX 殘留（表四），另外 90 年度調查結果，於 60 件檢體中有 2 件牛肉檢體檢驗出可受體類 clenbuterol 藥物殘留。近年來國外仍有持續調查，如學者 Woźniak, B. 在 2000-2001 年間抽驗波蘭境內牛肉等 5393 件動物檢體中均未檢出己烯雌酚及 HEX 殘留⁽²⁹⁾，此結果亦與本局相似。

參考文獻

1. Lea, A. R., Kayaba, W. J. and Hailey, D. M., 1979. Analysis of diethylstilbestrol and its impurities in tablets using reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., 177: 61-68.
2. 周秀冠、蔡易達、蔡玉雲。1997。中部地區市售生鮮牛肉、豬肉、雞肉暨鵝肉中蛋

- 白同化荷爾蒙之殘留調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，15：184-189。
3. Verbeke, R., 1979. Sensitive multi-residue method for detection of anabolics in urine and in tissues of slaughtered animals. *J. Chromatogr.*, 177: 69-84.
4. Verbeke, R. and Vanhee, R., 1983. Sensitive and specific post-column fluorimetric determination of diethylstilbestrol residues in extracts of urine and animal tissues at the 1-ppb level. *J. Chromatogr.*, 265: 239-255.
5. Ramsey, E. D., Perkins, J. R. and Games, D. E., 1989. Analysis of drug residues in tissue by combined super-critical-fluid extraction-supercritical-fluid chromatography-mass spectrometry-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 464: 353-364.
6. 行政院衛生署。2001。動物用藥殘留標準。90.1.8 衛署食字第 0900002580 號公告。
7. Medina, M. B. and Nagdy, N., 1993. Improved thin-layer chromatographic detection of diethylstilbestrol and zeranol in plasma and tissues isolated with alumina and ion-exchange membrane columns in tandem. *J. Chromatogr.*, 614: 315-323.
8. Keeffe, M. O. and Hopkins, J. P., 1989. Application of sorbent extraction chromatography to the purification of diethylstilbestrol extracted from muscle tissue and determined by radioimmunoassay. *J. Chromatogr.*, 489:199-204.
9. Williams, A. T. R. and Winfield, S. A., 1982. Dns derivatization of anabolic agents with high-performance liquid chromatographic separation and fluorescence detection. *J. Chromatogr.*, 240: 224-229.
10. Jansen, E. H. J. M., Miedema, B. R., Blitterswijk, H. V. and Stephany, R. W., 1984. Separation and purification of several anabolics present in bovine urine by isocratic high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 299: 450-455.
11. Reuvers, T., Perogordo, E. and Jimenez, R., 1991. Rapid screening method for determination of diethylstilbestrol in edible animal tissue by column liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Chromatogr.*, 5697: 477-484.
12. Weidolf, L. O. G. and Henion, J. D., 1980. Liquid-solid extraction conditions predicted by liquid chromatography for selective isolation of sulfoconjugated steroids from equine urine. *Anal. Chem.*, 59: 1980-1984.
13. Tobioka, H. and Kawashima, R., 1981. Gas-liquid chromatographic determination of hexestrol residues in adipose tissue. *J. AOAC Int.*, 64(3): 709-713.
14. Laitem L., Gaspar, P. and Bello, I., 1978. Stable derivatives for the gas chromatographic determination of synthetic anabolic stilbene residues (diethylstilbestrol, dienestrol and hexestrol) in meat and organs of treated cattle at the subparts per billion (109) level. *J. Chromatogr.*, 156: 267-273.
15. Busico, F. and Moretti, G., 1992. Determination of estrogens in animal tissue by GC-MS with negative ion chemical ionization. *J. High Resolut. Chromatogr.*, 15:94-98.
16. Marques, M. A. S., Lima, L. A., Bizarri, C. H. B., Neto, F. R. A. and Cardoso, J. N., 1998.

- Development and validation of a screening method for DES, zeranol and α -zearalanol in bovine urine by HRGC-MS and evaluation of robustness for routine survey of the Brazilian herd. *J. Anal. Toxicol.*, 22:367-373.
17. Stan, H. J. and Abraham, B., 1980. Determination of residues of anabolic drugs in meat by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 195: 231-241.
18. Abramson, F. P. and Lutz, M. P., 1985. Application of a capillary gas chromatographic-selected-ion recording mass spectrometric technique to the analysis of diethylstilbestrol and its phosphorylated precursors in plasma and tissues. *J. Chromatogr.*, 339:87-95.
19. Bagnati, R., Castelli, M. G. and Airoidi, L., 1990. Analysis of diethylstilbestrol, dienestrol and hexestrol in biological samples by immunoaffinity extraction and gas chromatography-negative-ion chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 527:267-278.
20. Covey, T., Maylin, G. and Henion, J., 1985. Quantitative secondary ion monitoring gas chromatography/mass spectrometry of diethylstilbestrol in bovine liver. *Biomed. Mass Spectrum*, 12(6): 274-287.
21. Bagnati, R., Castelli, M. G. and Airoidi, L., 1990. Analysis of diethylstilbestrol, dienestrol and hexestrol in biological samples by immunoaffinity extraction and gas chromatography-negative-ion chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 527: 267-278.
22. Chappell, C. G. and Creaser, C. S., 1993. On-line high performance liquid chromatography-multidimensional gas chromatography and its application to the determination of stilbene hormones in corned beef. *J. High Resolut. Chromatogr.*, 16: 479-482.
23. Roybal, J. E., Munns, R. K., Morris, W. J., Hurlbut, J. A. and Shimoda, W., 1988. Determination of zeranol/zearalenone and their metabolites in edible animal tissue by liquid chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, 71(2): 263-271.
24. Jansen, E. H. J. M., Freudenthal, J., Rossum, H. J. V., Litjens, J. L. M. and Stephany, R. W., 1986. Quantitative determination of diethylstilbestrol in bovine urine with isotope dilution mass spectrometry. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, 13: 245-249.
25. Tuinstra, L. G. M. T., Traag, W. A., Keukens, H. J. and Mazijk, R. J. V., 1983. Procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric confirmation of some exogenous growth-promoting compounds in the urine of cattle. *J. Chromatogr.*, 279: 533-542.
26. Tobioka, H. and Kawashima, R., 1978. Modified method for electron capture gas-liquid chromatographic determination of hexestrol residues in bovine tissues. *J. AOAC Int.*, 61(5):1054 — 1057.
27. Hoffmann, B. and Blietz, C., 1983. Application of radioimmunoassay (RIA) for the determination of residues of anabolic sex hormones. *J. Anim. Sci.*, 57(1):239-246.
28. 衛生署八十九年十月十一日衛署藥字第〇八九〇〇二四〇四四號公告。
29. Woźniak, B., 2002. Hormone residues control in slaughtered animal in Poland in 2000-2001. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 46: 331-335.

Survey of Diethylstilbestrol and Hexestrol Residue in Live-stock and Poultry Products

HWI-CHANG CHEN SHOU-HSUN CHENG A-YANG LIN

Southern District Laboratory

ABSTRACT

In this study, we used high performance liquid chromatographic (HPLC) method to determine the diethylstilbestrol and hexestrol residue in 22 pork muscle, 20 pork liver, 1 pork heart, 21 chicken muscle, 3 chicken liver, 6 chicken heart, and 9 chicken ventriculus. All samples were purchased from various markets and supermarkets in Taiwan area from March to September 2003. To detect the diethylstilbestrol and hexestrol in the samples, we followed the official method suggested by the Bureau of Food and Drug Analysis of the Department of Health, Executive Yuan.

Diethylstilbestrol and hexestrol were extracted from the samples and blended, then homogenizing with acetonitrile into pulp. Filtered the pulp and condensed the filtrate to dryness. Using 50mL methanol (1: 2, v/v) as the phosphate buffer solution (pH 5.4), dissolved the substance to remove lipid with n-hexane and partitioned with dichloromethane. The solution was concentrated and followed by cleaning up with aluminum oxide column. Applied HPLC with UV detector set at 229 nm to the eluate from aluminum oxide column. Separation was achieved by using acetonitrile, result as following: water(45: 55, v/v) on Lichrospher 100 RP-18 (i.d. 4 mm×25 cm, 5 μ m) column and flow rate 1.0 mL/min. The retention time of diethylstilbestrol and hexestrol were found to be at 13.9 and 15.1 minutes, respectively.

The result showed that no diethylstilbestrol and hexestrol were detected in the samples.

Key words : diethylstilbestrol, hexestrol, HPLC