T/GXAS

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

|  |
| --- |
|  |

XXXX- XX-XX发布

XXXX -XX-XX实施

广西标准化协会 发 布

ICS 71.040.40

海洋沉积物 类固醇激素的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Marine Sediment Determination of steroid hormones Solid phase extraction-High performance liquid chromatography mass spectrometric method

（征求意见稿）

CCS Z 10

目次

[前 言 II](#_Toc156750978)

[1 范围 1](#_Toc156750979)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc156750980)

[3 术语和定义 1](#_Toc156750981)

[4 方法原理 1](#_Toc156750982)

[5 干扰和消除 1](#_Toc156750983)

[6 试剂和材料 1](#_Toc156750984)

[7 仪器和设备 2](#_Toc156750985)

[8 样品 2](#_Toc156750986)

[9 分析步骤 3](#_Toc156750987)

[10 结果计算及表示 5](#_Toc156750988)

[11 精密度和准确度 8](#_Toc156750989)

[12 质量保证和质量控制 8](#_Toc156750990)

[13 固体废物处置 9](#_Toc156750991)

[附录A （规范性） 方法检出限和测定下限 10](#_Toc156750992)

[附录B （规范性） 精密度和正确度 1](#_Toc156750993)

前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西环境科学学会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区海洋环境监测中心站、广西壮族自治区北海生态环境监测中心、上海第二工业大学、广东海洋大学、广西壮族自治区钦州生态环境监测中心、广西蓝合创讯数据科技有限公司。

本文件主要起草人：任朝兴、蓝文陆、韦业、龙慧琴、王其春、高桂兰、房琴、苏子幸、吴鑫、张文武、王永峰、贺亮、王晓旭、宋宝、邓元秋、黄仕英、赵利容、张鹏、张际标、彭梦微、吴茂银。

海洋沉积物 类固醇激素的测定 高效液相色谱-串联质谱法

警示：实验中使用的溶剂和试剂均具有一定的毒性，对健康具有潜在的危害，应尽量避免与这些化学品直接接触。试剂配制和样品前处理过程应在通风橱内进行，操作时应按要求佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

* 1. 范围

本文件规定了测定海洋沉积物中类固醇激素的高效液相色谱-串联质谱法。

本文件适用于海洋生物体中的雄激素（诺龙、表睾酮、甲睾酮、雄烯二酮）、孕激素（孕酮、炔诺酮、甲羟孕酮、甲地孕酮）、糖皮质激素（可的松、氢化可的松、地塞米松）和雌激素（雌酮、17-α雌二醇、17β-雌二醇、雌三醇）等15种类固醇激素的测定，其他类固醇激素经适用性验证可参照执行。当样品量为5.00 g，浓缩后定容体积为1.0 mL，进样体积为5.0 μL时，方法检出限为0.1 µg/kg～0.9 µg/kg，测定下限为0.4 µg/kg～3.6 µg/kg，详见附录A。

* 1. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 17378.3 海洋监测规范 第3部分：样品采集、贮存与运输

GB 17378.5 海洋监测规范 第5部分：沉积物分析

HJ 442.4 近岸海域环境监测技术规范 第四部分 近岸海域沉积物监测

* 1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

* 1. 方法原理

采用超声波提取技术对海洋沉积物进行前处理，用高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪（LC-MS/MS）检测样品中的类固醇激素化合物，按多反应监测（MRM）方式，根据保留时间和特征离子定性，内标法定量。

* 1. 干扰和消除

当样品中存在基质干扰时，可通过优化色谱条件、稀释样品、减少进样体积以及对样品进行预处理等方式降低或消除。当样品中存在同分异构体干扰测定时，可通过改变色谱条件提高分离度或选择不同的二级质谱子离子消除干扰。

* 1. 试剂和材料

实验用水，GB/T 6682，一级。

乙酸乙酯（CH3COOCH2CH3），色谱纯。

甲醇（CH3OH），色谱纯。

氨水（NH3·H2O），优级纯。

乙酸乙酯/甲醇混合溶液：1：1 （体积比）。

甲酸（HCOOH）：*ρ*（HCOOH）=1.22 g/mL，优级纯。

甲酸溶液：1：1000 （体积比）。取1 mL甲酸（6.6）加入1000 mL水中。

无水硫酸钠：颗粒状，优级纯。或使用无水硫酸钠SPE小柱（2 g，6 mL）。在400 ℃灼烧4 h以上，冷却后转移至玻璃瓶中，密闭保存于干燥器中。

类固醇激素标准贮备液：ρ=100 mg/L。可直接购买有证标准溶液，也可用固体标准物质制备。用甲醇（6.3）溶解并稀释至100 mg/L（参考浓度）。贮备液在-20 ℃以下避光保存或参照制造商的产品说明。使用时应恢复至室温，并摇匀。

类固醇激素标准使用液：*ρ*=1.0 mg/L。将类固醇激素标准贮备液（6.9）用甲醇（6.3）稀释至1.0 mg/L（参考浓度）。现配现用。

内标储备液：*ρ*=100 mg/L。采用睾酮-d3、孕酮-d9、氢化可的松-1,2-d2、雌三醇-d3内标参照。应采用有证标准溶液或标准物质制备内标储备液，用甲醇（6.3）溶解并稀释至100 mg/L（参考浓度）。在-20 ℃以下避光保存或参照制造商的产品说明。使用时应恢复至室温，并摇匀。

内标使用液：*ρ*=1.0 mg/L。将内标储备液（6.11）用甲醇（6.3）稀释至1.0 mg/L（参考浓度）。现配现用。

针式过滤器：滤膜为0.22µm尼龙或聚四氟乙烯材质。

滤膜：0.7 µm玻璃纤维滤膜，或相当者。

氮气：纯度≥99.999 9%。

6.16　石英砂：粒径50 目～20 目。使用前须检验，确认无干扰。

* 1. 仪器和设备

采样瓶：旋盖广口棕色玻璃瓶，瓶盖具聚四氟乙烯内垫。

液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾电离源（ESI），具备流动相梯度洗脱和质谱多反应监测功能。

色谱柱：C18反相高效液相色谱柱。1.7µm×50 mm×2.1 mm（内径）或其他等效色谱柱。

固相萃取装置：自动或手动，流速可调节。

固相萃取柱：HLB柱，填料为二乙烯苯和N-乙烯基吡咯烷酮共聚物或等效柱，规格为6 mL/200 mg。

浓缩装置：旋转蒸发装置或K-D浓缩器、氮吹浓缩仪等性能相当的设备。

微量注射器或移液枪：10 µL、100µL、1 mL、5 mL。

分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。

超声波提取仪：功率不小于50 0W，超声波输出功率可调节。

低温离心机：2000 r或以上。

聚丙烯离心管，旋盖具聚四氟乙烯内垫：50 mL。

冷冻干燥仪。

涡旋混匀器。

一般实验室常用仪器和设备。

* 1. 样品
     1. 样品采集与保存

按照GB 17378.3和HJ 442.4中的相关规定进行沉积物样品的采集和保存。

* + 1. 试样制备

冷冻干燥

除去样品中的石子、贝壳、玻璃等异物，取适量样品进行在冷冻干燥仪（7.12）上进行冷冻干燥。冷冻干燥后的样品一部分用于测定含水率，一部分用于前处理。

含水率的测定

沉积物样品含水率的测定按照GB17378.5执行。

萃取

称取冷冻干燥后的样品约5.0 g（精确到0.0001 g）,置于50 ml离心管（7.11）中,准确加入10 ml乙酸乙酯/甲醇(6.5)、2 g无水硫酸钠（6.8），在旋涡混匀器（7.13）上混匀1 min后,置于超声波提取仪（7.9）上超声20 min，置于低温离心机（7.10），以5000 r/min速度离心5 min，收集上清液。用浓缩装置（7.6）浓缩至1 mL。

净化

分别用10 mL乙酸乙酯/甲醇混合液（6.5）、甲醇（6.3）和实验用水以1 mL/min流速活化固相萃取柱（7.5）。在上述浓缩液中加入200 mL纯水，混匀，水样以约10 mL/min的流速通过固相萃取柱（7.5）。再用10 mL水淋洗，去除杂质，用氮气（6.15）吹干固相萃取柱（7.5）。用10 mL乙酸乙酯/甲醇混合溶液（6.5）以1 mL/min流速洗脱富集后的小柱，收集洗脱液。用浓缩装置（7.6）将上述洗脱液浓缩至1.0 mL以下，用甲醇（6.3）定容至1.0 mL，加入50 μL内标物使用液（6.12），使用涡旋混匀器（7.13）混匀后用针式过滤器过滤（6.13），置于棕色进样瓶中，待测。

* + 1. 空白试样的制备

以石英砂（6.16）代替样品，按照与试样的制备（8.2）相同操作步骤，进行实验室空白试样的制备。

* 1. 分析步骤
     1. 仪器调试

液相色谱条件

流动相：流动相A 甲酸溶液（6.7），流动相B 甲醇（6.3），梯度洗脱程序见表1和表2；

流速：0.2 mL/min；

柱温：40℃；

进样体积：5.0 µL。

质谱条件

电喷雾离子源（ESI），雌激素采用负离子模式，雄激素、孕激素、糖皮质激素采用正离子模式；

毛细管电压：4.0 kV；

干燥气温度：350℃；

干燥气流速：11 L/min；

雾化气气压：1.72×105 Pa（25 psi）。

多离子反应监测方式（MRM），具体条件见表3。

1. 液相色谱流动相梯度洗脱程序（雄激素、孕激素和糖皮质激素）

| 时间（min） | 流动相A（％） | 流动相B（％） |
| --- | --- | --- |
| 0 | 95 | 10 |
| 0.5 | 95 | 10 |
| 7.5 | 5 | 95 |
| 11.0 | 5 | 95 |
| 11.1 | 95 | 5 |
| 12.5 | 95 | 5 |

1. 液相色谱流动相梯度洗脱程序（雌激素）

| 时间（min） | 流动相A（％） | 流动相B（％） |
| --- | --- | --- |
| 0 | 90 | 10 |
| 1 | 90 | 10 |
| 3 | 45 | 55 |

表2　液相色谱流动相梯度洗脱程序（雌激素）（续）

| 时间（min） | 流动相A（％） | 流动相B（％） |
| --- | --- | --- |
| 4 | 45 | 55 |
| 8 | 30 | 70 |
| 9 | 5 | 95 |
| 10 | 5 | 95 |
| 10.1 | 90 | 10 |
| 12 | 90 | 10 |

1. 目标化合物的多离子反应监测条件

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物名称 | 母离子  m/z | 子离子  m/z | 驻留时间  s | 锥孔电压  V | 碰撞能  eV |
| 雄激素 |  | | | | |
| 诺龙  （Nondrolone） | 275.2 | 109.1\* | 4.72 | 35 | 25 |
| 257.3 | 35 | 10 |
| 雄烯二酮 （Androstensdione） | 287.3 | 96.8 | 4.75 | 40 | 24 |
| 108.9\* | 40 | 23 |
| 表睾酮 （Epitestosterone） | 289.4 | 96.9\* | 5.30 | 35 | 25 |
| 108.9 | 35 | 27 |
| 睾酮-D3 （Testosterone-D3） | 292.3 | 97.0\* | 4.92 | 30 | 20 |
| 109.0 | 30 | 25 |
| 甲睾酮 （17-Methyltestosterone） | 303.2 | 97.2 | 5.20 | 33 | 23 |
| 109.2\* | 33 | 23 |
| 孕激素 |  | | | | |
| 炔诺酮 （Norethindrone） | 299.2 | 109.1\* | 4.79 | 38 | 27 |
| 231.1 | 38 | 20 |
| 孕酮 （Progesterone） | 315.2 | 97.1\* | 5.61 | 28 | 23 |
| 297.1 | 28 | 16 |
| 孕酮-D9 （Progesterone-D9） | 324.4 | 100.2\* | 5.58 | 28 | 20 |
| 113.1 | 28 | 20 |
| 甲地孕酮 （Megetrol） | 343.3 | 97.0\* | 5.28 | 25 | 25 |
| 224.0 | 25 | 25 |
| 甲羟孕酮 （Medroxyprogesterone） | 345.2 | 97.1\* | 5.45 | 26 | 26 |
| 123.2 | 26 | 24 |
| 糖皮质激素 |  | | | | |
| 可的松  （Cortisone） | 359.2 | 121.0 | 3.95 | 30 | 27 |
| 163.1\* | 30 | 25 |
| 氢化可的松  （Hydrocortisone） | 363.2 | 309.2 | 4.11 | 30 | 14 |
| 327.2\* | 30 | 15 |
| 氢化可的松-1,2-d2  （Cortisone-1,2-d2） | 365.1 | 311.2 | 4.09 | 30 | 14 |
| 329.2\* | 30 | 14 |
| 地塞米松 （Dexamethason） | 393.2 | 355.2\* | 4.45 | 30 | 10 |
| 373.2 | 30 | 11 |
| 雌激素 | | | | | |
| 雌酮  （Estrone） | 269.2 | 142.9 | 4.02 | 30 | 48 |
|  | 144.9\* | 30 | 36 |
| 17-α雌二醇  （17-alpha-Estradiol） | 271.2 | 144.9\* | 4.14 | 30 | 40 |
|  | 239.2 | 30 | 39 |

表3　目标化合物的多离子反应监测条件（续）

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物名称 | 母离子  m/z | 子离子  m/z | 驻留时间  s | 锥孔电压  V | 碰撞能  eV |
| 雌激素 |  | | | | |
| 17β-雌二醇  （17-beat-Estradiol） | 271.1 | 144．9\* | 4.00 | 30 | 40 |
| 182.9 | 30 | 36 |
| 雌三醇  （Estriol） | 287.2 | 145.0 | 3.18 | 30 | 39 |
| 171.0\* | 30 | 37 |
| 雌三醇-D3  （Estriol-D3） | 290.2 | 147.0\* | 3.17 | 25 | 40 |
| 173.0 | 25 | 31 |
| 注：带\*的为定量离子，对于不同质谱仪器，参数可能存在差异，测定前将质谱参数优化到最佳。 | | | | | |

* + 1. 曲线绘制

取一定量类固醇激素标准使用液（6.10），制备至少5个浓度点的标准系列，质量浓度分别为0.5 µg/L、1.0 µg/L、2.0 µg/L、5.0 µg/L、10.0 µg/L、20 µg/L、50 µg/L、100 µg/L，贮存在棕色进样瓶中，校准曲线应临用现配。

在仪器最佳工作条件下，按照浓度从低到高的顺序上机测定，以目标组分的峰面积为纵坐标，标准系列溶液的浓度为横坐标绘制标准曲线。

试样测定

取待测试样（8.2）按照与绘制校准曲线相同的仪器分析条件进行测定。

* + 1. 空白试验

按照与试样测定相同的操作步骤进行空白试样（8.3）的测定。

* 1. 结果计算及表示
     1. 定性分析

在相同的实验条件下，样品中待测物质的保留时间与标准溶液的保留时间偏差在±2.5 ％之内；每种化合物的质谱定性离子至少应包括一个母离子和两个子离子，且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的混合标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表4规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

1. 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 相对离子丰度K | K＞50 | 20＜K≤50 | 10＜K≤20 | K≤10 |
| 允许最大偏差 | ±20％ | ±25％ | ±30％ | ±50％ |

* + 1. 定量分析

采用内标法定量，根据平均相对响应因子计算。标准系列第 *i* 点目标化合物或替代物的相对响应因子RRF，按照公式（1）计算。

 ……………………………………… (1)

式中：

RRF*i*——标准系列中第 *i* 点目标化合物或替代物的相对响应因子，无量纲；  
*Ai*——标准系列中第 *i* 点目标化合物或替代物定量离子的峰面积（或峰高）；  
*Ais*——标准系列中第 *i* 点目标化合物或替代物对应内标定量离子的定量离子的峰面积（或峰高）；  
——标准系列中内标物的质量浓度，μg/L；  
——标准系列中第 *i* 点目标化合物或替代物的质量浓度，μg/L。

目标化合物或替代物的平均相对响应因子用公式（2）计算。

……………………………………… (2)

式中：

——目标化合物或替代物的平均相对响应因子，无量纲；

RRF*i*——标准系列中第 *i* 点目标化合物或替代物的相对响应因子，无量纲；n——标准系列点数。

试样中目标化合物或替代物的质量浓度，按公式（3）计算。

……………………………………… (3)

式中：

——试样中目标化合物或替代物的质量浓度，μg/L；  
*Ax*——试样中目标化合物或替代物的峰面积（或峰高）；  
*A*is ——试样中内标物的峰面积，（或峰高）；

——试样中内标物的质量浓度，μg/L；  
——目标化合物或替代物的平均相对响应因子，无量纲；

样品中目标化合物或替代物的质量浓度按公式（4）计算。

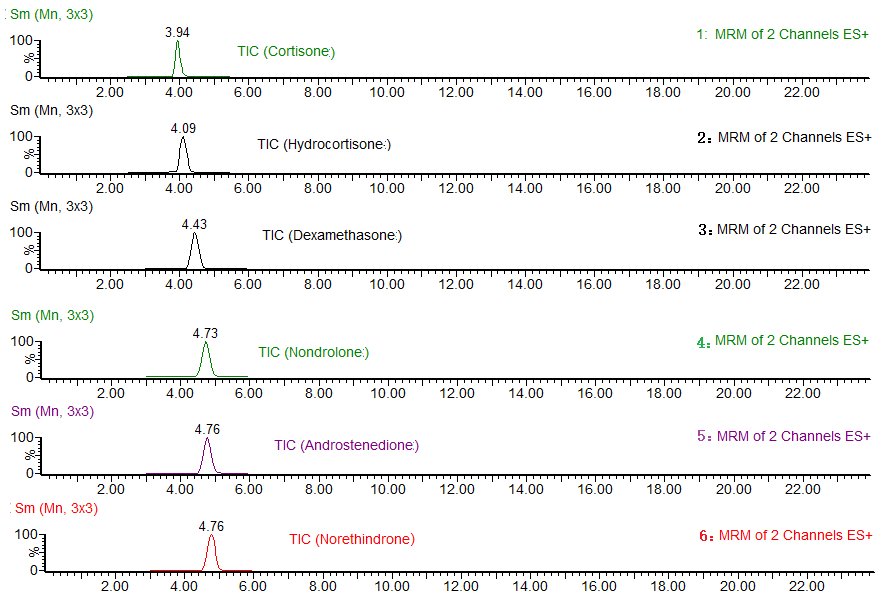
……………………………………… (4)

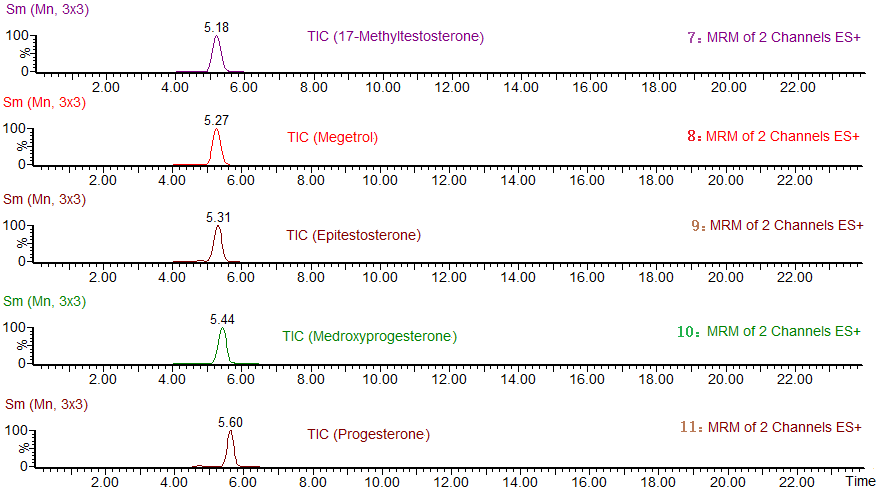
式中：

——样品中目标化合物或替代物的质量浓度，单位为微克每千克（μg/kg）；  
——试样中目标化合物或替代物的质量浓度，单位为微克每升（μg/L）；  
*V*1——试样定容体积，单位为毫升（mL）；

m——取样量，单位为克（g）；

wH2O——干样含水率（%）。





1. 类固醇激素的MRM色谱图

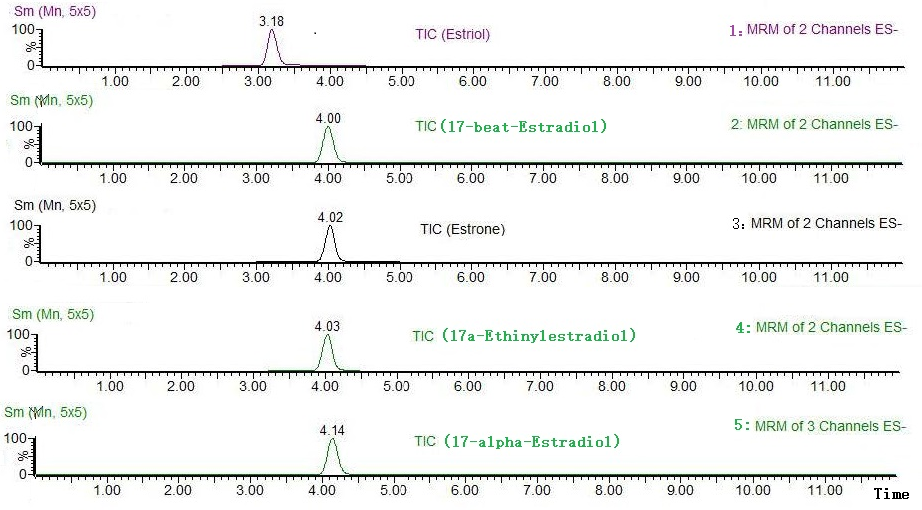


图1　类固醇激素的MRM色谱图（续）

* + 1. 结果表示

测定结果小数点后位数的保留与方法检出限一致，最多保留三位有效数字。

* 1. 精密度和准确度

见附录B。

* 1. 质量保证和质量控制
     1. 空白分析

每次分析至少做1个试剂空白和实验室空白。

全程序空白应每批样品做1个，前处理条件或试剂变化时均应重新做全程序空白。各类空白中检出每个目标化合物的浓度不应超过方法检出限。

* + 1. 平行样的测定

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）至少分析1个平行样，平行样相对偏差≤40％。

* + 1. 基体加标

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）至少分析1个基体加标样。加标回收率应在45％～130％。

* + 1. 校准

初始校准

在初次使用仪器，或在仪器维修、更换色谱柱或连续校准不合格时应进行初始校准。即建立标准曲线，校准曲线的相关系数≥0.995，否则重新绘制校准曲线。

连续校准

用分析校准曲线的中间浓度点进行连续校准，每20个样品或每批次（少于20个样品/批）分析1次连续校准。按公式（2）计算*CC*与校准点*Ci*的相对偏差（D）：

(5)

式中：

——与校准点的相对偏差，％；

——校准点的质量浓度的数值，单位为微克每升(μg/L)；

——测定的该校准点的质量浓度的数值，单位为微克每升(μg/L)。

如果D≤20％，则初始标准曲线仍能继续使用；如果任何一个化合物的D＞20％，应重新绘制新的标准曲线。

* 1. 固体废物处置

实验过程中所有使用过的标准物质不应随意倾倒，应专门留存，交由有处理资质的有机废物处理公司进行处理。

实验操作过程产生的有机溶剂废液，应交由有处理资质的有机废物处理公司进行处理。

2. （规范性）  
   方法检出限和测定下限

表A.1给出了本方法中目标化合物的检出限和测定下限。

方法的检出限和测定下限

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 化合物名称 | CAS号 | 检出限  (µg/kg) | 测定下限  (µg/kg) |
| 1 | 诺龙  （Nondrolone） | 434-22-0 | 0.4 | 1.2 |
| 2 | 雄烯二酮  （Androstensdione） | 63-05-8 | 0.6 | 2.4 |
| 3 | 表睾酮  （Epitestosterone） | 481-30-1 | 0.5 | 2.0 |
| 4 | 甲睾酮  （17-Methyltestosterone） | 58-18-4 | 0.5 | 2.0 |
| 5 | 炔诺酮  （Norethindrone） | 68-22-4 | 0.8 | 3.2 |
| 6 | 孕酮  （Progesterone） | 57-83-0 | 0.7 | 2.8 |
| 7 | 甲地孕酮  （Megetrol） | 3562-63-8 | 0.7 | 2.8 |
| 8 | 甲羟孕酮  （Medroxyprogesterone） | 520-85-4 | 0.8 | 3.2 |
| 9 | 可的松  （Cortisone） | 53-06-5 | 0.3 | 1.2 |
| 10 | 氢化可的松  （Hydrocortisone） | 50-23-7 | 0.6 | 2.4 |
| 11 | 地塞米松  （Dexamethason） | 50-02-2 | 0.9 | 3.6 |
| 12 | 雌酮  （Estrone） | 53-16-7 | 0.6 | 2.4 |
| 13 | 17-α雌二醇  （17-alpha-Estradiol） | 57-91-0 | 0.6 | 2.4 |
| 14 | 17β-雌二醇  （17-beat-Estradiol） | 50-28-2 | 0.7 | 2.8 |
| 15 | 雌三醇  （Estriol） | 50-27-1 | 0.5 | 2.0 |

1. （规范性）  
   精密度和正确度

表B.1规定了方法重复性、再现性等精密度指标。表B.2规定了方法正确度指标。

方法的精密度

| 化合物名称 | 精密度统计结果 | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 加标浓度  (µg/kg) | 总均值  (µg/kg) | 实验室内相对标准偏差  ％ | 实验室间相对标准偏差  ％ | 重复性限r  (µg/kg) | 再现性限R  (µg/kg) |
| 诺龙  （Nondrolone） | 2 | 1.6 | 4.7%～12.2% | 21.3 | 0.4 | 1.0 |
| 4 | 3.2 | 1.4～11.3% | 16.6 | 0.5 | 1.5 |
| 10 | 8.0 | 2.0～10.1% | 16.5 | 1.4 | 3.9 |
| 雄烯二酮（Androstensdione） | 2 | 1.5 | 1.9～6.4% | 28.3 | 0.2 | 1.2 |
| 4 | 3.4 | 3.3～8.3% | 34.1 | 0.7 | 3.3 |
| 10 | 8.9 | 6.6～11.8% | 31.8 | 2.3 | 8.2 |
| 表睾酮  （Epitestosterone） | 2 | 1.6 | 5.0～14.3% | 25.0 | 0.4 | 1.2 |
| 4 | 3.2 | 3.5～16.3% | 12.9 | 0.8 | 1.5 |
| 10 | 9.0 | 4.4～10.5% | 23.9 | 2.6 | 6.5 |
| 甲睾酮  （17-Methyltestosterone） | 2 | 1.7 | 5.0～14.3% | 13.9 | 0.4 | 0.8 |
| 4 | 3.8 | 2.4～10.1% | 15.0 | 0.8 | 1.8 |
| 10 | 8.4 | 4.4～11.4% | 16.3 | 1.9 | 4.2 |
| 炔诺酮  （Norethindrone） | 2 | 1.6 | 4.9～11.4% | 20.5 | 0.4 | 1.0 |
| 4 | 3.5 | 2.9～16.8% | 12.9 | 0.8 | 1.4 |
| 10 | 7.5 | 4.7～12.8% | 11.2 | 2.0 | 2.9 |
| 孕酮(黄体酮)（Progesterone） | 2 | 1.7 | 4.1～10.9% | 26.4 | 0.3 | 1.3 |
| 4 | 3.6 | 4.2～8.6% | 20.7 | 0.6 | 2.2 |
| 10 | 8.2 | 3.4～10.2% | 26.1 | 1.7 | 6.2 |
| 甲地孕酮  （Megetrol） | 2 | 1.6 | 4.6～14.0% | 23.7 | 0.4 | 1.2 |
| 4 | 3.3 | 5.3～12.8% | 20.4 | 0.8 | 2.0 |
| 10 | 8.0 | 3.5～12.3% | 21.3 | 1.8 | 5.1 |
| 甲羟孕酮  （Medroxyprogesterone） | 2 | 1.6 | 4.6～13.6% | 24.1 | 0.5 | 1.2 |
| 4 | 3.4 | 4.4～8.4% | 18.3 | 0.6 | 1.8 |
| 10 | 8.3 | 4.7～12.3% | 21.3 | 2.2 | 5.4 |
| 可的松  （Cortisone） | 2 | 1.7 | 4.5～17.2% | 21.1 | 0.5 | 1.1 |
| 4 | 3.3 | 6.7～11.3% | 14.2 | 0.9 | 1.5 |
| 10 | 8.6 | 4.3～12.1% | 18.9 | 2.1 | 5.0 |
| 氢化可的松  （Hydrocortisone） | 2 | 1.6 | 6.5～10.8% | 25.1 | 0.3 | 1.2 |
| 4 | 3.0 | 2.4～11.7% | 16.8 | 0.6 | 1.5 |
| 10 | 8.0 | 4.6～8.2% | 17.4 | 1.5 | 4.2 |

方法的精密度

| 化合物名称 | 精密度统计结果 | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 加标浓度  (µg/kg) | 总均值  (µg/kg) | 实验室内相对标准偏差  ％ | 实验室间相对标准偏差  ％ | 重复性限r  (µg/kg) | 再现性限R  (µg/kg) |
| 地塞米松  （Dexamethason） | 2 | 1.7 | 6.1～9.5% | 20.0 | 0.4 | 1.0 |
| 4 | 3.1 | 7.2～13.7% | 19.1 | 0.8 | 1.8 |
| 10 | 7.8 | 7.3～12.4% | 18.9 | 2.0 | 4.5 |
| 雌酮  （Estrone） | 2 | 1.8 | 2.6～10.2% | 22.5 | 0.3 | 1.2 |
| 4 | 3.0 | 4.2～11.3% | 19.3 | 0.7 | 1.7 |
| 10 | 9.3 | 6.1～11.5% | 13.2 | 2.3 | 4.1 |
| 17-α雌二醇  （17-alpha-Estradiol） | 2 | 1.6 | 8.2～10.9% | 20.7 | 0.5 | 1.1 |
| 4 | 3.4 | 4.4～13.2% | 22.2 | 0.8 | 2.2 |
| 10 | 9.8 | 5.8～11.0% | 16.4 | 2.5 | 5.1 |
| 17β-雌二醇  （17-beat-Estradiol） | 2 | 1.9 | 7.2～11.7% | 16.9 | 0.5 | 1.0 |
| 4 | 3.6 | 5.3～10.0% | 19.1 | 0.7 | 2.0 |
| 10 | 9.0 | 6.2～9.5% | 19.8 | 2.0 | 5.3 |
| 雌三醇  （Estriol） | 2 | 1.8 | 5.8～8.8% | 18.4 | 0.4 | 1.0 |
| 4 | 3.3 | 4.8～10.2% | 18.0 | 0.7 | 1.8 |
| 10 | 8.4 | 7.1～22.6% | 19.9 | 2.4 | 5.2 |

表B.2方法的正确度

| 化合物名称 | 加标量  ng | 加标回收率范围  ％ | ％ |
| --- | --- | --- | --- |
| 诺龙  （Nondrolone） | 10 | 58.8～103 | 79.3±34.5 |
| 20 | 63.3～93.8 | 78.9±25.0 |
| 50 | 63.1～99.1 | 79.8±26.4 |
| 雄烯二酮  （Androstensdione） | 10 | 49.7～99.7 | 74.6±41.4 |
| 20 | 63.8～129 | 85.3±57.6 |
| 50 | 49.1～117 | 89.2±56.7 |
| 表睾酮  （Epitestosterone） | 10 | 54.5～112 | 81.9±41.3 |
| 20 | 74.0～106 | 90.4±23.9 |
| 50 | 56.6～116 | 90.4±42.9 |
| 甲睾酮  （17-Methyltestosterone） | 10 | 69.3～99.7 | 85.6±24.3 |
| 20 | 75.6～114 | 96.0±28.6 |
| 50 | 66.0～90.4 | 83.8±27.5 |
| 炔诺酮  （Norethindrone） | 10 | 60.3～102 | 78.3±30.1 |
| 20 | 68.7～100 | 85.1±21.2 |
| 50 | 64.7～89.8 | 78.1±19.6 |

表B.2方法的正确度

| 化合物名称 | 加标量  ng | 加标回收率范围  ％ | ％ |
| --- | --- | --- | --- |
| 孕酮  （Progesterone） | 10 | 59.5～116 | 85.9±46.0 |
| 20 | 70.7～122 | 89.6±37.0 |
| 50 | 54.8～117 | 81.9±42.9 |
| 甲地孕酮  （Megetrol） | 10 | 60.3～95.8 | 79.9±36.6 |
| 20 | 65.7～107 | 82.7±33.0 |
| 50 | 58.9～108 | 79.8±34.0 |
| 甲羟孕酮  （Medroxyprogesterone） | 10 | 56.9～103 | 82.1±37.8 |
| 20 | 66.9～110 | 84.7±31.0 |
| 50 | 63.4～110 | 83.4±35.4 |
| 可的松  （Cortisone） | 10 | 62.8～112 | 84.5±38.4 |
| 20 | 68.1～102 | 82.4±22.6 |
| 50 | 66.2～114 | 86.2±32.7 |
| 氢化可的松  （Hydrocortisone） | 10 | 65.3～117 | 79.2±40.6 |
| 20 | 62.2～98.2 | 75.4±25.7 |
| 50 | 62.9～100 | 80.5±27.9 |
| 地塞米松  （Dexamethason） | 10 | 66.3～108 | 82.2±31.3 |
| 20 | 61.7～105 | 77.7±29.8 |
| 50 | 65.6～106 | 78.0±29.1 |
| 雌酮  （Estrone） | 10 | 66.2～121 | 90.7±40.9 |
| 20 | 65.5～104 | 76.1±30.0 |
| 50 | 80.0～110 | 93.3±24.9 |
| 17-α雌二醇  （17-alpha-Estradiol） | 10 | 72.0～115 | 91.5±37.9 |
| 20 | 68.8～117 | 84.4±37.3 |
| 50 | 73.2～116 | 98.2±32.3 |
| 17β-雌二醇  （17-beat-Estradiol） | 10 | 76.7～110 | 92.6±31.4 |
| 20 | 74.8～110 | 89.2±34.1 |
| 50 | 76.7～109 | 90.4±35.9 |
| 雌三醇  （Estriol） | 10 | 70.7～106 | 88.1±32.1 |
| 20 | 72.0～110 | 83.6±29.8 |
| 50 | 60.0～104 | 84.2±33.4 |

