

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 755—2024

海洋生物体 类固醇激素的测定 高效液 相色谱-串联质谱法

Marine Organisms—Determination of steroid hormones—High performance
liquid chromatography mass spectrometric method

2024 - 06 - 25 发布

2024 - 07 - 01 实施

广西标准化协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 干扰和消除	1
6 试剂和材料	1
7 仪器和设备	2
8 样品	2
9 分析步骤	3
10 结果计算及表示	7
11 精密度和正确度	8
12 质量保证和质量控制	8
13 废物处置	9
14 试验报告	9
附录 A（规范性） 方法检出限和测定下限	10
附录 B（规范性） 精密度和正确度	11

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、高桂兰、龙慧琴、王其春、房琴、韦业、苏子幸、杨爽、陈燕、贺亮、吴鑫、张文武、王永峰、邓元秋、黄仕英、赵辉、张际标、张鹏、赵利容、陈帅、吴茂银。

海洋生物体 类固醇激素的测定 高效液相色谱-串联质谱法

警示：使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本文件规定了测定海洋生物体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、17 β -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2.00 g，浓缩后定容体积为1.0 mL，进样体积为5.0 μ L时，方法检出限为0.5 μ g/kg~1.9 μ g/kg，测定下限为2.0 μ g/kg~7.6 μ g/kg，按附录A。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 17378.3 海洋监测规范 第3部分：样品采集、贮存与运输
- GB 17378.6 海洋监测规范 第6部分：生物体分析
- HJ 442.5 近岸海域环境监测技术规范 第五部分：近岸海域生物质量监测

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

采用乙酸乙酯和甲醇溶剂萃取，超声波提取技术对海洋生物体进行前处理，用高效液相色谱-三重四极杆质谱仪（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。

5 干扰和消除

5.1 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。

5.2 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。

6 试剂和材料

- 6.1 实验用水，GB/T 6682，一级。
- 6.2 乙酸乙酯（ $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ），色谱纯。
- 6.3 甲醇（ CH_3OH ），色谱纯。
- 6.4 氨水（ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ），优级纯。
- 6.5 氨水溶液：0.03%。取0.3 mL氨水（6.4）加入1 000 mL水中。

- 6.6 乙酸乙酯/甲醇混合溶液：1:1（体积比）。
- 6.7 甲酸（HCOOH）： ρ （HCOOH）=1.22 g/mL，优级纯。
- 6.8 甲酸溶液：0.1%。取1 mL甲酸（6.7）加入1 000 mL水中。
- 6.9 无水硫酸镁：颗粒状，优级纯。在400℃灼烧4h以上，冷却后转移至玻璃瓶中，密闭保存于干燥器中。
- 6.10 中性氧化铝：74 μ m~150 μ m。在400℃灼烧4h，冷却后加3%~4%水去活化，置于干燥器中保存。
- 6.11 N-丙基乙二胺（PSA）：40 μ m~60 μ m。
- 6.12 净化粉：0.5 g无水硫酸镁+0.5 g中性氧化铝+0.2 g PSA。
- 6.13 氯化钠：优级纯。在400℃灼烧4h以上，冷却后转移至玻璃瓶中，密闭保存于干燥器中。
- 6.14 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，并在有效期内使用。使用时应恢复至室温，并摇匀。
- 6.15 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（6.14）用甲醇（6.3）稀释至1.0 mg/L（参考浓度）。现配现用。
- 6.16 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）。贮备液在-20℃以下避光保存或参照制造商的产品说明，并在有效期内使用。使用时应恢复至室温，并摇匀。
- 6.17 内标使用液： ρ =1.0 mg/L。将内标储备液（6.16）用甲醇（6.3）稀释至1.0 mg/L（参考浓度）。现配现用。
- 6.18 针式过滤器：滤膜为0.22 μ m尼龙或聚四氟乙烯材质。
- 6.19 氮气：纯度 \geq 99.99%。
- 6.20 石英砂：粒径270 μ m~830 μ m。使用前应处理并检验，确认无干扰。

7 仪器和设备

- 7.1 采样瓶：旋盖广口棕色玻璃瓶，瓶盖具聚四氟乙烯内垫。
- 7.2 高效液相色谱—三重四极杆质谱仪：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。
- 7.3 色谱柱：C₁₈反相高效液相色谱柱。1.7 μ m \times 50 mm \times 2.1 mm（内径）或其他等效色谱柱。
- 7.4 固相萃取装置：自动或手动，流速可调节。
- 7.5 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。
- 7.6 佛罗里土（Florisil）SPE小柱：100~200目，规格为10 mL/2 g。
- 7.7 微量注射器或移液枪：10 μ L、100 μ L、1 mL、5 mL。
- 7.8 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。
- 7.9 超声波提取仪：功率不小于500 W，超声波输出功率可调节。
- 7.10 低温离心机：转速5 000 r/min或以上，温度范围-10℃~30℃。
- 7.11 聚丙烯离心管，15 mL，50 mL，旋盖具聚四氟乙烯内垫。
- 7.12 冷冻干燥仪。
- 7.13 涡旋混匀器。
- 7.14 匀浆机。
- 7.15 一般实验室常用仪器和设备。

8 样品

8.1 样品采集与保存

按照GB 17378.3和HJ 442.5的相关规定进行生物体样品的采集。采集种类以贝类为主，根据海区（滩涂）特征可增选鱼类、甲壳类和藻类。样品采集后，用现场海水冲洗干净，应及时冰冻保存（-10℃~-20℃）。

8.2 试样制备

8.2.1 冷冻干燥

将生物样品解冻后，取目标部分放入匀浆机（7.14）匀化成浆后，在冷冻干燥仪（7.13）上进行冷冻干燥。把冷冻干燥后的样品用玻璃棒轻轻捣碎，一部分用于测定含水率，一部分用于前处理。

8.2.2 含水率的测定

生物体样品含水率的测定按照GB 17378.6执行。

8.2.3 提取

称取冷冻干燥后的样品2.0g（精确到±0.01g），置于50mL离心管（7.11）中，加入2mL超纯水，在涡旋混合器（7.13）上涡旋1min后，准确加入10mL乙酸乙酯/甲醇混合液（6.6），涡旋1min，置于超声波提取仪（7.10）上超声20min，加入2.0g无水硫酸镁（6.9）和1.0g氯化钠（6.13），涡旋，快速混匀，置于低温离心机（7.10），以5000r/min离心5min。

8.2.4 净化

转移全部上清液于另一15mL离心管（7.11）中，此离心管已装入净化粉（6.11），涡旋混合1min，置于低温离心机（7.10），以5000r/min离心5min。准确移取上清液5mL经过佛罗里土SPE小柱（7.6）净化。

8.2.5 浓缩和定容

用浓缩装置（7.5）将上述溶液浓缩至1.0mL以下，用甲醇（6.3）定容至1.0mL，加入50μL内标物使用液（6.13），使用涡旋混匀器（7.13）混匀后用针式过滤器过滤（6.18），置于棕色进样瓶中，待测。

8.3 空白试样的制备

以石英砂（6.20）代替样品，按照与试样制备（8.2）相同操作步骤，进行实验室空白试样的制备。

9 分析步骤

9.1 仪器调试

9.1.1 液相色谱参考条件

9.1.1.1 流动相：雄激素、孕激素和糖皮质激素流动相A 甲酸溶液（6.8），流动相B 甲醇（6.3）；雌激素流动相A 氨水溶液（6.5），流动相B 甲醇（6.3）。流动相梯度及流速按表1和表2。

表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)	流速 (mL/min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	0.2	95	5
0.5	0.2	95	5
7.5	0.2	5	95
11.0	0.2	5	95
11.1	0.2	95	5
12.5	0.2	95	5

表2 液相色谱流动相梯度洗脱程序（雌激素）

时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	0.3	90	10
1	0.3	90	10
3	0.3	45	55
4	0.3	45	55
8	0.3	30	70
9	0.3	5	95
10	0.3	5	95
10.1	0.3	90	10
12	0.3	90	10

9.1.1.2 柱温：40℃。

9.1.1.3 进样体积：5.0 μL。

9.1.2 质谱参考条件

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

9.1.2.2 毛细管电压：4.0 kV。

9.1.2.3 干燥气温度：350℃。

9.1.2.4 干燥气流速：11 L/min。

9.1.2.5 雾化气气压：1.72×10⁵ Pa（25 psi）。

9.1.2.6 多反应监测（MRM）方式，具体条件按表3。

表3 目标化合物的多反应监测条件

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 (Nandrolone)	275.2	109.1*	0.021	35	25
			257.3		35	10
	雄烯二酮 (Androstenedione)	287.3	96.8	0.021	40	24
			108.9*		40	23
	表睾酮 (Epitestosterone)	289.4	96.9*	0.021	35	25
			108.9		35	27
	睾酮-D ₃ (Testosterone-D ₃)	292.3	97.0*	0.021	30	20
			109.0		30	25
	甲睾酮 (17-Methyltestosterone)	303.2	97.2	0.021	33	23
			109.2*		33	23
孕激素	炔诺酮 (Norethindrone)	299.2	109.1*	0.021	38	27
			231.1		38	20
	孕酮 (Progesterone)	315.2	97.1*	0.021	28	23
			297.1		28	16
	孕酮(黄体酮)-D ₃ (Progesterone-D ₃)	324.4	100.2*	0.021	28	20
			113.1		28	20

表3 目标化合物的多反应监测条件(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)
孕激素	甲地孕酮 (Megetrol)	343.3	97.0*	0.021	25	25
			224.0		25	25
	甲羟孕酮 (Medroxyprogesterone)	345.2	97.1*	0.021	26	26
			123.2		26	24
糖皮质激素	可的松 (Cortisone)	359.2	121.0	0.021	30	27
			163.1*		30	25
	氢化可的松 (Hydrocortisone)	363.2	309.2	0.021	30	14
			327.2*		30	15
	氢化可的松-1,2-d ₂ (Cortisone-1,2-d ₂)	365.1	311.2	0.021	30	14
			329.2*		30	14
	地塞米松 (Dexamethason)	393.2	355.2*	0.021	30	10
			373.2		30	11
雌激素	雌酮 (Estrone)	269.2	142.9	0.038	30	48
			144.9*		30	36
	17- α -雌二醇 (17- α -Estradiol)	271.2	144.9*	0.038	30	40
			239.2		30	39
	17 β -雌二醇 (17- β -Estradiol)	271.1	144.9*	0.038	30	40
			182.9		30	36
	雌三醇 (Estriol)	287.2	145.0	0.038	30	39
			171.0*		30	37
	雌三醇-D ₃ (Estriol-D ₃)	290.2	147.0*	0.038	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。

9.1.3 质谱仪的调谐

按照仪器说明书调谐仪器并确认仪器性能，仪器性能正常后测定样品。

9.2 标准曲线的建立

9.2.1 用微量注射器或移液枪(7.7)移取一定量类固醇激素标准使用液(6.10)和内标使用液(6.12)，用甲醇(6.3)稀释。配制至少5个浓度点的标准系列，质量浓度分别为0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 、2.0 $\mu\text{g/L}$ 、5.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ （此为参考浓度），内标质量浓度均为50 $\mu\text{g/L}$ （此为参考浓度），贮存在棕色进样瓶中，待测。标准曲线应临用现配。

9.2.2 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，以目标化合物的质量浓度($\mu\text{g/L}$)为横坐标，以其对应的响应值与内标物响应值的比值和内标物浓度的乘积为纵坐标，建立标准曲线。

9.3 标准参考谱图

见图1、图2。

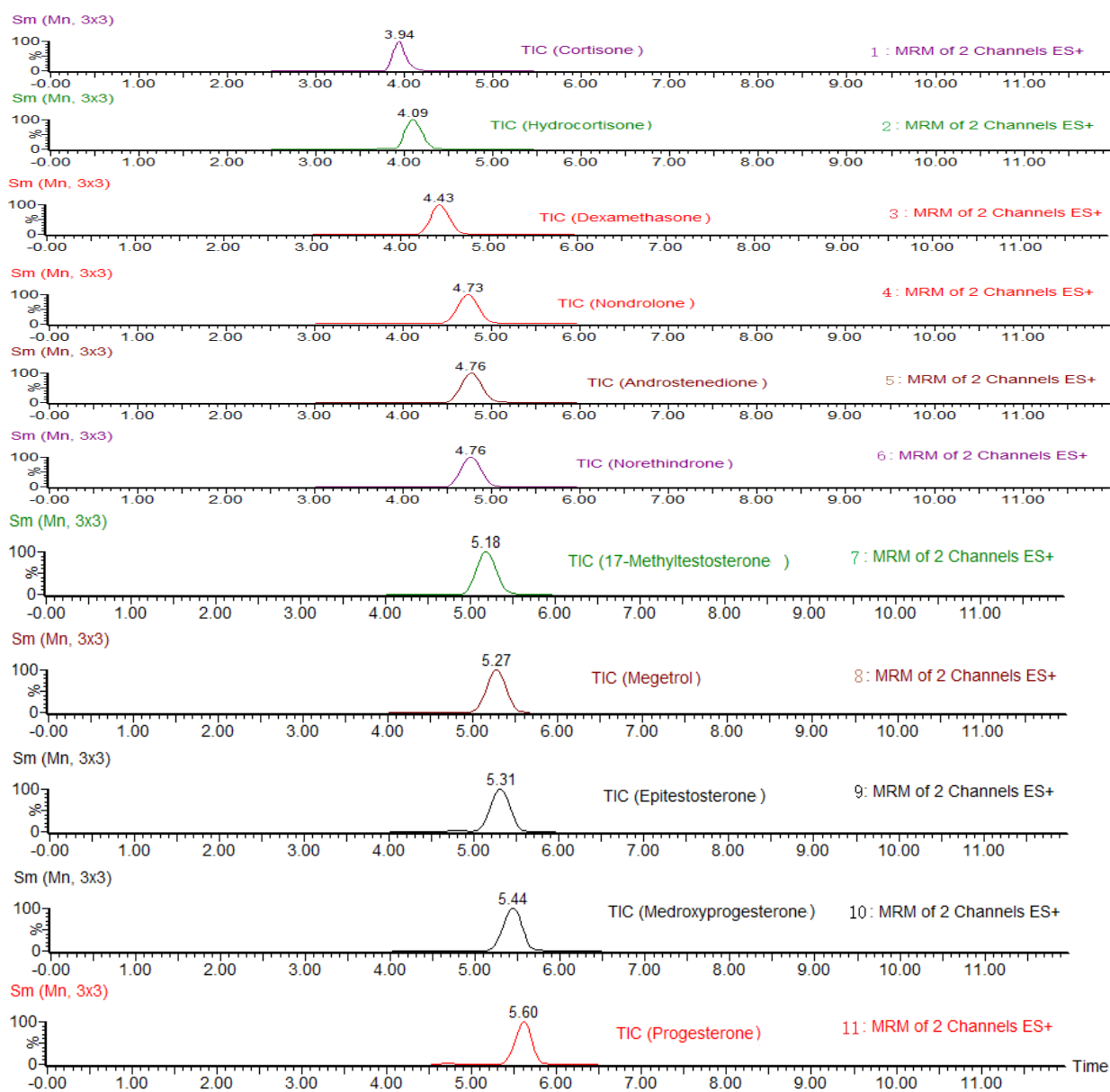


图 1 类固醇激素的 MRM 参考色谱图 (正离子模式)

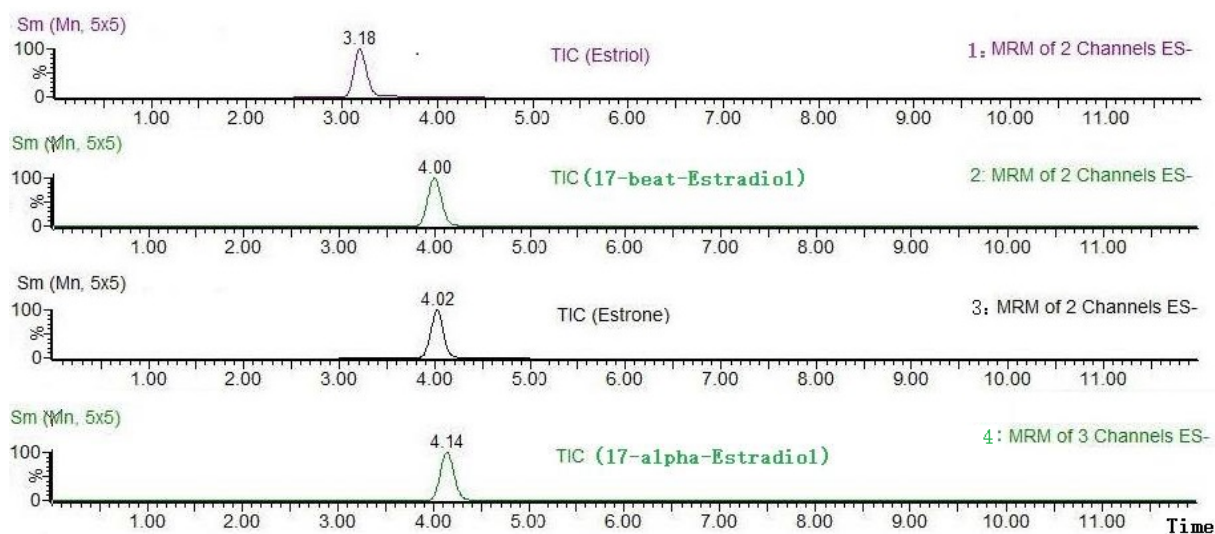


图2 类固醇激素的MRM参考色谱图（负离子模式）

9.4 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。

9.5 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。

10 结果计算及表示

10.1 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 $\pm 2.5\%$ 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（ K_{sam} ）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（ K_{std} ）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。

表4 定性确证时离子的相对丰度最大允许偏差

离子的相对丰度 $K_{std}(\%)$	$K_{std} > 50$	$20 < K_{std} \leq 50$	$10 < K_{std} \leq 20$	$K_{std} \leq 10$
K_{sam} 最大允许偏差（%）	± 20	± 25	± 30	± 50

10.2 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*点目标化合物的相对响应因子RRF_{*i*}，按照公式（1）计算。

$$RRF_i = \frac{A_i}{A_{is}} \times \frac{\rho_{is}}{\rho_i} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

RRF_i ——标准系列中第*i*点目标化合物的相对响应因子，无量纲；

A_i ——标准系列中第*i*点目标化合物的峰面积（或峰高）；

A_{is} ——标准系列中第*i*点内标物的峰面积（或峰高）；

ρ_{is} ——标准系列中内标物的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_i ——标准系列中第*i*点目标化合物的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ 。

目标化合物的平均相对响应因子 \overline{RRF} 用公式(2)计算。

$$\overline{RRF} = \frac{\sum_{i=1}^n RRF_i}{n} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

\overline{RRF} ——目标化合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。

试样中目标化合物的质量浓度按公式(3)计算。

$$\rho_x = \frac{A_x \times \rho_{is}}{A_{is} \times \overline{RRF}} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

ρ_x ——试样中目标化合物的质量浓度, $\mu\text{g/L}$;

A_x ——试样中目标化合物的峰面积(或峰高);

A_{is} ——试样中内标物的峰面积,(或峰高);

ρ_{is} ——试样中内标物的质量浓度, $\mu\text{g/L}$;

\overline{RRF} ——目标化合物的平均相对响应因子, 无量纲;

样品中目标化合物的质量浓度按公式(4)计算。

$$W_s = \frac{\rho_x \times V_1 \times 2}{m \times (1 - w_{H_2O})} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

W_s ——样品中目标化合物的质量浓度, 单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$);

ρ_x ——试样中目标化合物的质量浓度, 单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V_1 ——试样定容体积, 单位为毫升(mL);

m——取样量, 单位为克(g);

2——稀释倍数;

w_{H_2O} ——干样含水率(%)。

10.3 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。

11 精密度和正确度

见附录B。

12 质量保证和质量控制

12.1 空白分析

12.1.1 每次分析至少做1个试剂空白和实验室空白。

12.1.2 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。

12.2 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 $\leq 40\%$ 。

12.3 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 $50\% \sim 130\%$ 。

12.4 校准

12.4.1 标准曲线的相关系数 $r \geq 0.995$ ，标准系列目标物相对响应因子的相对标准偏差应 $\leq 20\%$ 。

12.4.2 选择标准曲线的中间浓度点进行连续校准，每分析 20 个样品或每批次（少于 20 个样品/批）进行 1 次连续校准，测定结果相对偏差 $\leq 20\%$ ，否则需重新建立标准曲线。

13 废物处置

实验过程中产生的废弃物应分类收集，集中保管，并做好相应标识，依法委托有资质单位进行处置。

14 试验报告

试验报告至少应给出以下几个方面的内容：

- 试验对象；
- 所使用的标准（包括发布或出版年号）；
- 所使用的方法（如果标准中包括几个方法）；
- 结果；
- 观察到的异常现象；
- 试验日期。



附 录 A
(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。

表A.1 方法的检出限和测定下限

序号	化合物名称	CAS号	检出限	测定下限
1	诺龙 (Nandrolone)	434-22-0	1.3	5.2
2	雄烯二酮 (Androstenedione)	63-05-8	1.6	6.4
3	表睾酮 (Epitestosterone)	481-30-1	1.5	6.0
4	甲睾酮 (17-Methyltestosterone)	58-18-4	1.9	7.6
5	炔诺酮 (Norethindrone)	68-22-4	1.1	4.4
6	孕酮 (Progesterone)	57-83-0	1.0	4.0
7	甲地孕酮 (Megestrol)	3562-63-8	1.9	7.6
8	甲羟孕酮 (Medroxyprogesterone)	520-85-4	1.9	7.6
9	可的松 (Cortisone)	53-06-5	1.8	7.2
10	氢化可的松 (Hydrocortisone)	50-23-7	1.4	5.6
11	地塞米松 (Dexamethason)	50-02-2	1.2	4.8
12	雌酮 (Estrone)	53-16-7	0.6	2.4
13	17- α 雌二醇 (17- α -Estradiol)	57-91-0	0.8	3.2
14	17- β -雌二醇 (17- β -Estradiol)	50-28-2	0.9	3.6
15	雌三醇 (Estriol)	50-27-1	1.1	4.4

附录 B
(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。

表B.1 方法的精密度

化合物名称	精密度统计结果					
	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总均值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	再现性限R ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
诺龙 (Nandrolone)	5	4.2	9.0~16.8	23.4	1.5	3.0
	10	8.7	3.9~9.4	20.3	1.8	5.2
	25	20.9	6.1~10.9	20.9	5.2	14.9
雄烯二酮(Androstenedione)	5	4.3	4.3~17.7	16.9	1.4	2.4
	10	7.4	5.8~16.4	12.1	2.3	3.3
	25	20.8	6.7~14.2	19.7	7.0	13.1
表睾酮 (Epitestosterone)	5	4.3	5.3~14.2	19.8	1.4	2.7
	10	8.6	7.6~13.7	22.8	2.5	5.9
	25	21.4	8.1~13.0	26.7	6.5	17.1
甲睾酮 (17-Methyltestosterone)	5	3.9	7.5~13.9	13.1	1.2	1.8
	10	7.6	3.3~9.1	18.7	1.4	4.2
	25	19.6	2.6~9.0	18.4	3.6	10.6
炔诺酮 (Norethindrone)	5	4.0	6.2~10.7	12.8	1.1	1.8
	10	8.1	4.6~12.6	12.2	2.2	3.4
	25	19.2	6.5~12.5	15.3	5.6	9.7
孕酮(黄体酮) (Progesterone)	5	3.9	5.0~17.2	14.7	1.1	1.9
	10	7.8	3.0~14.7	12.1	2.2	3.3
	25	18.2	3.3~8.9	14.6	3.8	8.2
甲地孕酮 (Megestrol)	5	4.5	5.4~11.1	14.4	1.1	2.1
	10	8.4	3.8~12.9	16.7	2.6	4.6
	25	22.2	6.8~10.3	16.7	6.0	11.7
甲羟孕酮 (Medroxyprogesterone)	5	4.1	4.6~13.1	13.9	1.1	1.9
	10	8.1	3.3~12.2	18.2	2.1	4.6
	25	21.4	1.8~5.4	12.8	10.2	12.4
可的松 (Cortisone)	5	4.1	8.4~11.0	21.3	1.1	2.7
	10	8.8	8.8~12.4	16.5	2.9	4.8
	25	20.7	3.5~11.9	15.3	5.8	10.3
氢化可的松 (Hydrocortisone)	5	4.2	8.4~12.4	21.0	1.3	2.7
	10	8.3	6.2~11.6	19.6	2.3	5.0
	25	23.0	4.1~12.9	16.4	6.2	12.0
地塞米松 (Dexamethason)	5	4.1	7.5~10.3	15.4	1.0	2.0
	10	8.6	7.5~10.3	15.4	1.9	4.1
	25	21.7	3.9~10.2	16.4	5.2	11.0
雌酮 (Estrone)	5	4.4	4.4~11.0	20.9	1.1	2.8
	10	8.8	4.1~13.1	17.6	2.3	4.8
	25	23.7	5.5~13.2	11.4	7.1	10.0

表B.1 方法的精密度 (续)

化合物名称	精密度统计结果					
	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总均值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	再现性限 R ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
17- α 雌二醇 (17- α -Estradiol)	5	4.6	5.2~11.0	12.6	1.1	1.9
	10	8.8	4.4~12.1	9.5	2.4	3.2
	25	23.0	6.9~12.2	12.7	6.6	10.1
17 β -雌二醇 (17- β -Estradiol)	5	4.5	7.5~13.3	14.6	1.3	2.2
	10	8.9	4.6~11.7	12.6	2.4	3.8
	25	22.2	3.4~11.4	13.5	5.7	9.9
雌三醇 (Estriol)	5	4.4	6.0~11.3	14.6	1.2	2.1
	10	8.5	3.5~12.7	15.9	2.4	4.4
	25	21.0	5.9~11.8	13.1	5.5	9.2

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 (%)	$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
诺龙 (Nandrolone)	10	59.0~112	83.7 \pm 38.9
	20	73.7~120	88.3 \pm 34.0
	50	63.8~110	84.0 \pm 39.5
雄烯二酮 (Androstenedione)	10	71.7~110	86.6 \pm 29.5
	20	59.7~82.3	73.9 \pm 17.8
	50	65.7~101	83.0 \pm 32.6
表睾酮 (Epitestosterone)	10	76.0~99.8	85.5 \pm 34.1
	20	57.7~112	85.5 \pm 38.8
	50	57.5~110	85.5 \pm 45.8
甲睾酮 (17-Methyltestosterone)	10	65.7~91.3	78.1 \pm 20.4
	20	60.3~98.5	75.60 \pm 28.4
	50	62.9~100	78.5 \pm 28.6
炔诺酮 (Norethindrone)	10	65.5~94.2	79.5 \pm 20.4
	20	72.3~97.3	80.9 \pm 19.7
	50	64.3~98.6	76.8 \pm 23.5
孕酮(黄体酮) (Progesterone)	10	65.7~85.7	77.9 \pm 22.9
	20	62.3~89.3	77.7 \pm 18.8
	50	62.7~92.6	72.9 \pm 21.4
甲地孕酮 (Megestrol)	10	76.9~99.8	90.4 \pm 26.2
	20	67.0~101	84.0 \pm 28.2
	50	71.6~108	88.7 \pm 29.4
甲羟孕酮 (Medroxyprogesterone)	10	70.0~100	82.2 \pm 22.9
	20	68.3~99.9	86.0 \pm 20.6
	50	73.3~105	83.3 \pm 23.2
可的松 (Cortisone)	10	71.6~85.7	84.1 \pm 36.7
	20	72.0~103	87.7 \pm 28.0
	50	76.6~108	82.8 \pm 25.7

表B.2 方法的正确度 (续)

化合物名称	加标量 (ng)	加标回收率范围 (%)	$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
氢化可的松 (Hydrocortisone)	10	63.5~106	84.5±35.5
	20	68.3~103	82.5±32.3
	50	71.2~108	92.0±30.1
地塞米松 (Dexamethason)	10	66.4~102	81.6±25.1
	20	70.0~91.8	85.9±26.3
	50	78.0~107	86.7±28.6
雌酮 (Estrone)	10	62.3~110	87.8±36.6
	20	68.4~109	88.2±30.7
	50	74.6~103	94.8±21.7
17- α 雌二醇 (17- α -Estradiol)	10	70.0~101	91.3±23.0
	20	75.6~97.4	88.4±16.9
	50	72.6~108	91.8±23.2
17- β -雌二醇 (17- β -Estradiol)	10	71.7~107	90.1±26.3
	20	73.3~101	89.0±22.4
	50	84.9~109	88.7±23.7
雌三醇 (Estriol)	10	75.0~106	88.7±26.0
	20	76.0~103	85.1±26.8
	50	75.5~98.2	84.1±22.0

广西标准化协会

中华人民共和国团体标准

海洋生物体 类固醇激素的测定 高效液相色谱-串联质谱法

T/GXAS 755—2024

广西标准化协会统一印制

版权专有 侵权必究