



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3029—2006

水产品中甲基睾酮残留量的测定 液相色谱法

**Determination of methyltestosterone residues in fishery products
Liquid chromatography method**

2006-07-10 发布

2006-10-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：中国海洋大学、国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：林洪、江洁、李兆新、曹立民、付晓婷。

水产品中甲基睾酮残留量的测定

液相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中甲基睾酮残留量的液相色谱测定方法。

本标准适用于水产品可食部分中甲基睾酮残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

以乙醚提取样品中的甲基睾酮,经过液-液萃取,用 C_{18} 柱进行色谱分离,利用甲基睾酮具有紫外特征吸收,外标法定量。

4 试剂

所有试剂应无干扰峰,分析纯试剂应重蒸。水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。

4.1 甲基睾酮标准品:纯度 $\geq 98\%$ 。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 甲醇溶液:甲醇:水=4:1。

4.4 石油醚:分析纯。

4.5 无水乙醚:分析纯。

4.6 甲基睾酮标准储备液:准确称取甲基睾酮 0.001 0 g,用甲醇溶解,定容于 50 mL 容量瓶中,使成浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液, -18°C 存放,存放时间不超过 6 个月。

4.7 甲基睾酮标准工作液:使用前用甲醇稀释成 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 工作液,可 4°C 暂时存放。

5 仪器

5.1 液相色谱仪:配紫外检测器。

5.2 电子天平:感量 0.000 1 g。

5.3 匀浆机。

5.4 磁力搅拌器。

5.5 离心机:最大转速 5 000 r/min。

5.6 振荡器。

5.7 减压旋转蒸发器。

5.8 鸡心瓶:50 mL。

5.9 具塞玻璃离心管:10 mL。

5.10 离心管:50 mL。

5.11 聚四氟乙烯膜:孔径 0.45 μm。

6 操作方法

6.1 样品处理

取水产品可食部分,切为不大于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的小块后混匀,充分匀浆,取 5.00 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 烧杯中。

6.2 分离纯化

6.2.1 提取

向烧杯中加入 15 mL 乙醚,磁力搅拌 15 min,转移至 50 mL 离心管中,用 5 mL 乙醚洗净烧杯,合并至离心管,5 000 r/min 离心 10 min,所得上清液转移至鸡心瓶;残渣用 15 mL 乙醚按上述方法再提取一次,所得上清液合并至鸡心瓶,在 40℃ 左右水浴条件下减压旋转蒸发至干,残渣中加入 5 mL 甲醇溶液清洗瓶壁,溶液转移至 10 mL 具塞玻璃离心管中。

6.2.2 纯化

加入 4 mL 的石油醚至上述离心管中,加塞剧烈振荡 1 min~2 min,4 000 r/min 离心 10 min,用滴管吸弃上层石油醚层;下层加入 4 mL 的石油醚按上述方法再洗涤一次。下层甲醇溶液在 40℃ 左右水浴条件下减压旋转蒸发至约 0.5 mL,转移至 10 mL 具塞离心管。加入 2 mL 水清洗瓶壁,合并水溶液,加入 4 mL 的乙醚,震荡 1 min~2 min,混匀,4 000 r/min 离心 10 min,吸取上层乙醚层于鸡心瓶中;下层用 4 mL 乙醚再提取一遍,吸取上层,合并至鸡心瓶中。在 40℃ 左右水浴条件下减压旋转蒸发至干,准确加入 1 mL 流动相溶解残渣。经聚四氟乙烯膜过滤,待上机分析。

6.3 测定

6.3.1 测定条件

6.3.1.1 色谱柱:C₁₈柱,250 mm×4.6 mm,柱填料粒径 5 μm;或相当者。

6.3.1.2 流动相:甲醇:水=70:30;流速:0.8 mL/min。

6.3.1.3 柱温:30℃。

6.3.1.4 进样量:20 μL。

6.3.1.5 检测波长:254 nm。

6.3.2 色谱分析

分别注入 20 μL 浓度为 1 μg/mL 标准工作溶液和样品提取溶液于液相色谱仪中,按上述色谱条件进行色谱分析,记录峰面积,响应值均应在仪器检测的线性范围之内。根据标准样品的保留时间定性,外标法定量。标准品色谱图见附录 A。

7 结果

7.1 计算

样品中甲基睾酮的含量按公式(1)计算。

$$X = \frac{A \times C_S \times V \times 1000}{A_S \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X——样品中甲基睾酮含量,单位为微克每千克(μg/kg);

C_S——标准溶液中甲基睾酮含量,单位为微克每毫升(μg/mL);

- A —— 试样液中甲基睾酮的峰面积；
V —— 样品提取物溶液体积,单位为毫升(mL)；
 A_S —— 标准溶液中甲基睾酮的峰面积；
 m —— 样品重量,单位为克(g)。

7.2 方法回收率

本方法的回收率 $\geq 75\%$ 。

7.3 方法检测限

本方法检测限： $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

7.4 方法重复性

本方法重复性小于 10% 。

7.5 方法的线性范围

本方法的线性范围： $0.05 \mu\text{g}/\text{mL} \sim 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

附录 A
(资料性附录)
甲基睾酮标准品的液相色谱图

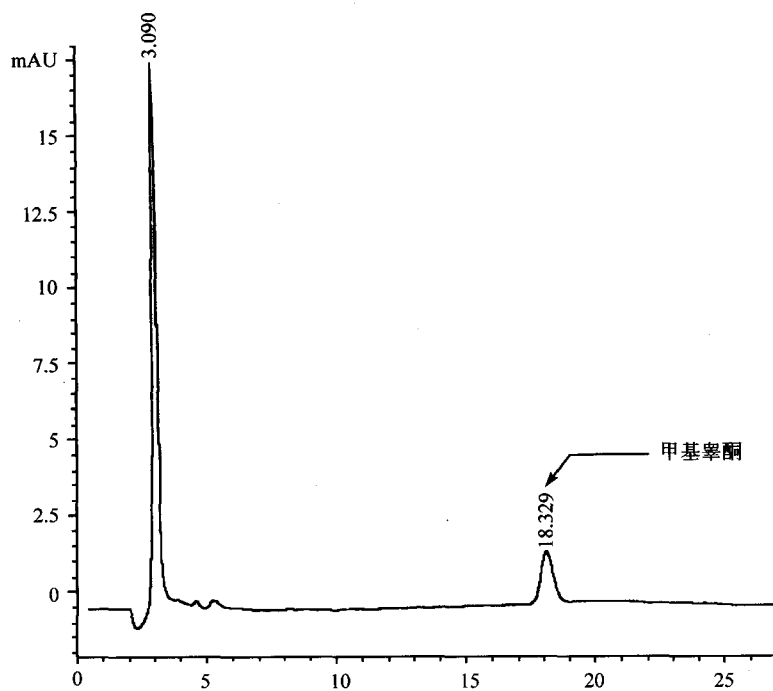


图 A.1 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲基睾酮标准品的液相色谱图