



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 22260—2008

## 饲料中甲基睾丸酮的测定 高效液相色谱串联质谱法

Determination of methyltestosterone in feeds—  
High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

2008-08-01 发布

2008-11-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会

发布

## 前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所〔国家饲料质量监督检验中心（北京）〕。

本标准主要起草人：赵根龙、苏晓鸥、苏淑清、孙志文、索德成。

# 饲料中甲基睾丸酮的测定

## 高效液相色谱串联质谱法

### 1 范围

本标准规定了以高效液相色谱串联质谱法(LC/MS/MS)测定饲料中甲基睾丸酮含量的方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中甲基睾丸酮的测定,配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料的定量限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 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(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

### 3 原理

饲料样品中的甲基睾丸酮以甲醇溶液超声提取,提取液离心后经  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱净化,以甲醇洗脱,用高效液相色谱串联质谱仪、电喷雾正离子方式进行测定。

### 4 试剂和材料

除特殊注明外,本标准所用的试剂均为分析纯,水为蒸馏水,色谱用水符合 GB/T 6682 一级用水的规定。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 甲醇溶液 I:分别用量筒量取 500 mL 甲醇(4.1)和 500 mL 水,混匀。

4.3 甲醇溶液 II:分别用量筒量取 200 mL 甲醇(4.1)和 800 mL 水,混匀。

4.4 甲基睾丸酮标准品:纯度 97%~103%。

4.5 甲基睾丸酮标准溶液

4.5.1 甲基睾丸酮标准储备液:准确称取甲基睾丸酮标准品(4.4)0.050 0 g,置于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(4.1)溶解并定容至刻度,摇匀,其浓度为 1 mg/mL,贮于 4  $^{\circ}\text{C}$ ~6  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中,有效期三个月。

4.5.2 甲基睾丸酮标准工作液:准确吸取甲基睾丸酮标准储备液(4.5.1)5.00 mL,置于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(4.1)溶解并定容至刻度,摇匀,其浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。再以此稀释液配置 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 ng/mL、10 ng/mL 的标准工作液。有效期一个月。

4.6  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱:载体 60 mg;承载液体积 3 mL。

### 5 仪器

5.1 实验室常用仪器、设备。

5.2 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.001 g 各一台。

5.3 超声水浴。

5.4 离心机:4 000 r/min~5 000 r/min。

- 5.5 固相萃取装置。
- 5.6 配备电喷雾离子源(ESI)的液相色谱串联质谱仪。
- 5.7 可控温 30 °C~50 °C 氮吹装置。

6 试样制备

按照 GB/T 20195 制备样品,全部通过 0.28 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存,备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取饲料样品 5 g(准确至 0.001 g),置于 100 mL 离心管中,准确加入提取溶剂(4.2)50.00 mL,加塞,充分摇动 1 min,再置超声水浴中超声提取 20 min,其间充分摇动两次。取出后于离心机上 5 000 r/min 离心 10 min。

7.2 净化

分别用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化固相萃取柱(4.6),准确移取 5 mL 离心液(7.1)分次上柱,控制过柱速度在 1 mL/min 以内。再用 3 mL 水和 3 mL 甲醇溶液(4.3)洗涤固相萃取柱,抽近干后用甲醇(4.1)2 mL 洗脱。在氮吹装置(5.7)上 40 °C 下用氮气吹干。准确加入 2 mL 甲醇(4.1),涡旋振荡 1 min,过 0.45 μm 滤膜,上机测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱条件

色谱柱:C<sub>18</sub>柱,柱长 150 mm,柱内径 2.1 mm,粒度 3.5 μm 或性能类似的分析柱。  
 柱温:室温。  
 流动相组成:甲醇+0.1%乙酸溶液=80+20(V<sub>1</sub>+V<sub>2</sub>)。  
 流动相流速:300 μL/min。  
 进样量:20 μL。

7.3.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI)正离子方式检测。  
 喷雾电压:5 000 V。  
 壳气流速:0.26 L/min。  
 辅助气流速:6.9 L/min。  
 毛细管温度:310 °C。  
 母离子 303,二级子离子为 285、267。  
 碰撞能量见表 1。

表 1 甲基睾酮母离子及子离子碰撞能量表

母离子	子离子	碰撞能量/eV
303	285	23
303	267	22

其相对丰度比见表 2。

表 2 甲基睾酮的子离子及相对丰度比

子离子(m/z)	285	267
相对丰度/%	100	95±19

### 7.3.3 定性定量测定

取适量由 7.2 获得的样品制备液和相应浓度的甲基睾酮标准工作液(4.5.2)进行测定,以保留时间和二级子离子  $m/z$  285、267 进行定性。定性方法:试样保留时间与标准品的相对偏差不大于 15%,特征离子丰度与标准品相差不大于 20%。定量方法:以二级子离子  $m/z$  285、267 峰面积之和进行单点或多点校正定量。

## 8 结果计算与表述

### 8.1 结果计算

甲基睾酮在饲料中的质量分数  $X$ ,以微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )表示,可用式(1)计算:

$$X = \frac{m_1}{m} \times n \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$m_1$ ——选择性子离子色谱峰对应的甲基睾酮质量,单位为纳克( $\text{ng}$ );

$m$ ——试样质量,单位为克( $\text{g}$ );

$n$ ——稀释倍数。

### 8.2 结果表示

平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

## 9 重复性

在同一实验室由同一操作人员完成的两个平行测定的相对偏差不大于 10%。

附录 A  
(资料性附录)  
甲基睾酮标准图谱

A.1 100 ng/mL 甲基睾酮标准图谱见图 A.1。

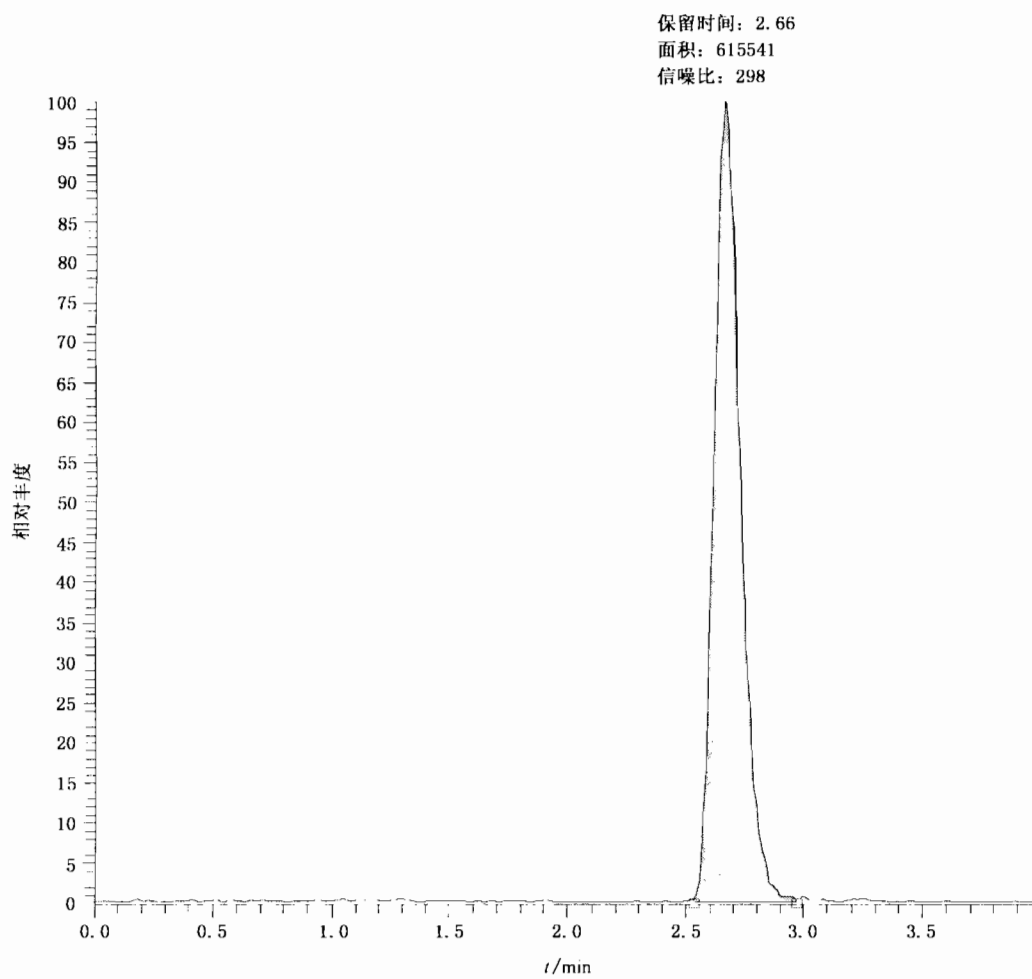


图 A.1 100 ng/mL 甲基睾酮标准图谱

A.2 甲基睾丸酮一级质谱图见图 A.2。

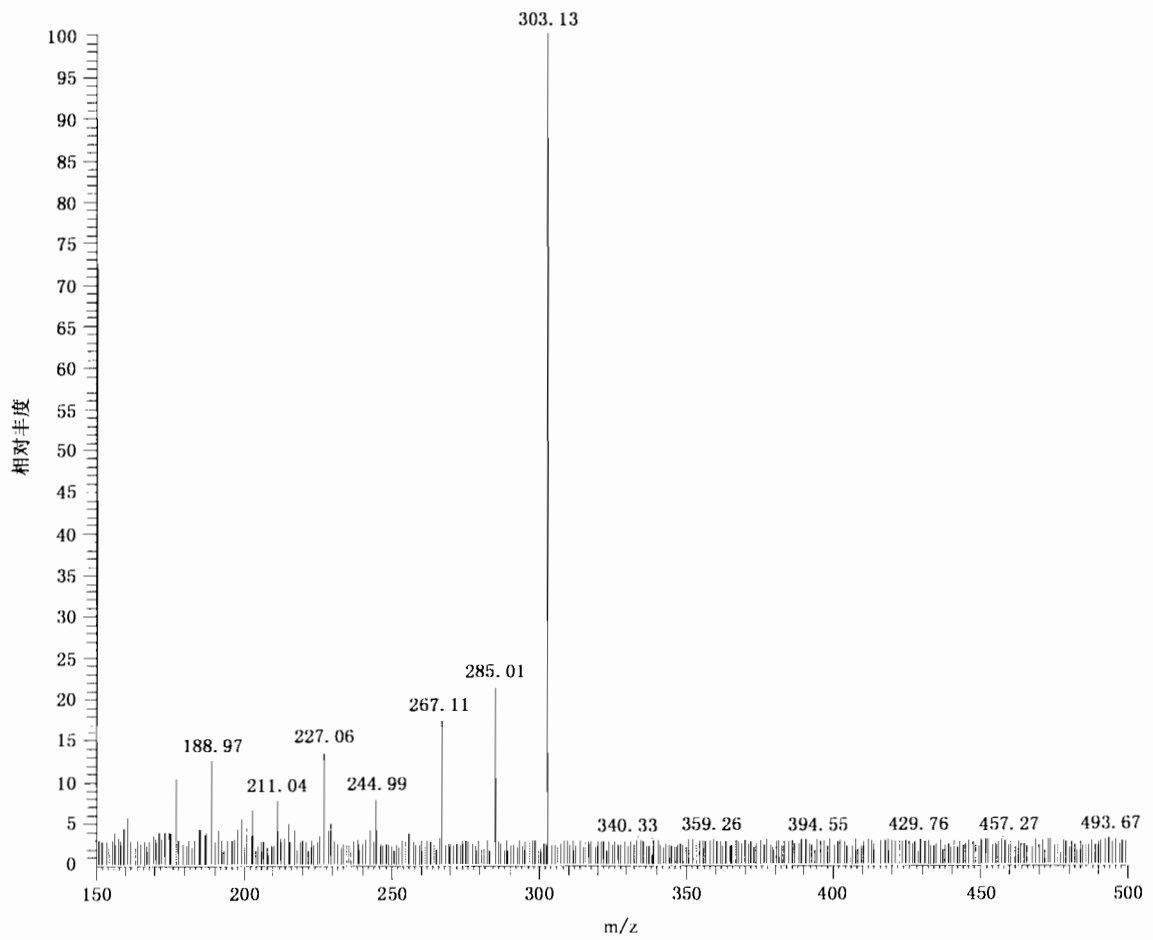


图 A.2 甲基睾丸酮一级质谱图

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
饲料中甲基睾丸酮的测定  
高效液相色谱串联质谱法  
GB/T 22260—2008

\*

中国标准出版社出版发行  
北京复兴门外三里河北街16号  
邮政编码:100045

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 11 千字

2008年9月第一版 2008年9月第一次印刷

\*

书号:155066·1-33921 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 22260-2008