

ICS 13.060.01

Z 16

团 体 标 准

T/GAIA XXX—2025

虾蟹类饲料中 β -蜕皮甾酮的测定 高效液相色谱法

Determination of beta-ecdysterone in shrimp and crab feeds—High performance liquid chromatography

征求意见稿

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

广东省分析测试协会 发布

前 言

本文件按照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。

本文件由广东省分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、广州市华莱科检测技术有限公司、广东蔚莱生物科技有限公司、西北农林科技大学、广东德宁水产科技有限公司、广州飞禧特生物科技有限公司、沈阳师范大学、长江大学、天津市农业生态环境监测与农产品质量检测中心。

本文件主要起草人：王和平、吴仕辉、孙凤刚、王建龙、陈宇航、黄燕华、杨庆余、阮国良、史艳艳、周漪波、黄芙蓉、夏旻灏、张飞、张丽、谢钦杰、吴斌、赵健、潘灿盛、梁洁怡、胡启之、周启动。

虾蟹类饲料中 β -蜕皮甾酮的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了虾蟹类饲料（包括单一饲料、配合饲料和预混合饲料）中 β -蜕皮甾酮的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于虾蟹类饲料（包括单一饲料、配合饲料和预混合饲料）中 β -蜕皮甾酮的测定。本文件适用于检测浓度范围为 0.200 mg/L~10.0 mg/L，对于超出检测浓度范围内的样品，可进行适当稀释进行检测。

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 683 化学试剂 甲醇

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 16631 高效液相色谱法通则

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中 β -蜕皮甾酮，经 40%甲醇溶液提取后，反相 C_{18} 液相色谱柱分离，紫外-可见光检测器检测，外标法定量。

5 试剂与材料

5.1 甲醇：优级纯。

5.2 水：GB/T 6682 规定的一级水。

5.3 β -蜕皮甾酮标准品（CAS：5289-74-7）： $\geq 99\%$ 。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 β -蜕皮甾酮标准储备液（200 mg/L）：准确称取 10.00 mg（精确至 0.1 mg） β -蜕皮甾酮标准品，用 40% 甲醇溶解，并定容至 50.0 mL 容量瓶中，摇匀，于 4 °C 下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.2 β -蜕皮甾酮标准系列工作液：用移液管分别准确吸取标准储备液（200 mg/L）适量，用 40% 甲醇稀释，配制成浓度分别为 10.0 mg/L，5.00 mg/L，2.00 mg/L，0.500 mg/L 和 0.200 mg/L 的标准工作溶液。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

6.2 分析天平：感量 0.1 mg。

6.3 超声波发生器（功率≥1800 W）。

7 分析步骤

7.1 试样制备

按照 GB/T 20195 制备试样，至少 200 g，粉碎使其通过 0.60 mm 孔径的分析筛，充分混匀，装入密闭容器中，备用。

7.2 样品前处理

称取试样约 1.0 g（精确至 0.1 mg）于 50 mL 具塞离心管内，以 40% 甲醇为提取剂，加入 30 mL 40% 甲醇超声提取 20 min，4000 r/min 离心 5 min，上清液转移至 50 mL 容量瓶，残渣再加入 15 mL 的 40% 甲醇，重复超声提取一次，合并上清液并定容至 50 mL，用 0.45 μm 微膜过滤，上机测试。

注：根据供试品溶液中 β-蜕皮甾酮的浓度高低，可进行适当的稀释，确保上机浓度在标准溶液的线性范围内。

7.3 空白试验

除不加试样外，按 7.2 与试样同时处理。

7.4 仪器参考条件

a) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 或具同等性能的色谱柱。

b) 流动相 A：一级水；

流动相 B：甲醇。梯度洗脱，见表 1。

表 1 梯度程序

时间/min	0	11	15	15.1	18
流动相 A/%	70	5	5	70	70
流动相 B/%	30	95	95	30	30

c) 流速：1.0 mL/min。

d) 波长：246 nm。

e) 柱温：35 °C。

f) 进样体积：10 μL。

7.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到试样中 β-蜕皮甾酮的浓度。

8 分析结果的表述

试样中 β -蜕皮甾酮的含量按照公式（1）计算。

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times k \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X——试样中被测组分的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

ρ ——试样溶液中被测组分的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

V——提取溶液的体积，单位为毫升(mL)；

m——试样质量，单位为克 (g)；

k——稀释倍数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留3位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

10 检出限和定量限

当取样量为 1.0 g，定容体积为 50 mL 时， β -蜕皮甾酮检出限为 2.0 mg/kg，定量限为 10.0 mg/kg。



附录A

 β -蜕皮甾酮液相色谱图