

JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

有机同位素标记物标准物质研制技术规范

Metrological Technical Specification for Development of Reference

Materials – Stable Isotopic-Labeled Organic Compounds

(征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局发布

有机同位素标记物 标准物质研制技术规范

**Metrological Technical Specification for
Development of Reference Materials – Stable
Isotope-Labeled Organic Compounds**

JJF × × × × — 202 ×

本规范经国家市场监督管理总局于 202×年××月××日批准，并
自 202×年××月××日起施行。

归口单位：全国标准物质计量技术委员会

主要起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：国家食品安全风险评估中心

上海化工研究院有限公司

国家卫生健康委临床检验中心

上海安谱实验科技股份有限公司

本规范委托全国标准物质计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

参加起草人：

国家标准物质计量技术委员会规范征求意见稿

目录

引言.....	V
1. 范围.....	1
2. 引用文件.....	1
3. 术语.....	1
3.1 有机同位素标记物.....	1
3.2 目标标记物.....	1
3.3 非目标标记物.....	1
3.4 化学纯度.....	1
3.5 标记物丰度.....	2
3.6 目标标记物纯度.....	2
4. 通用要求.....	2
5. 策划.....	2
6. 原料的要求.....	3
6.1 纯度.....	3
6.2 稳定性.....	3
6.3 标记原子数量.....	3
7. 纯度测定和不确定度评定.....	3
7.1 化学纯度测定和不确定度.....	3
7.2 标记物丰度的测定及不确定度.....	4
7.3 定值结果与不确定度合成.....	6
8. 溶液标准物质研制.....	6
9. 比对核验.....	7
9.1 标准物质的比对验证.....	7
9.2 比对验证方法.....	7
10. 证书的编写要求.....	7

国家标准物质计量技术规范征求意见稿

引言

有机同位素标记物（以下简称标记物）作为内标物，在食品、环境、临床、药物等领域的同位素稀释质谱分析方法中（以下简称 ID-MS 法）有着广泛的应用。

本规范规定了有机同位素稀释质谱法分析用同位素标记物标准物质研制的要求。用于指导有机同位素标记物纯度、溶液标准物质的研制。

本规范为首次发布。

国家标准物质计量技术委员会规范征求意见稿

有机同位素标记物标准物质研制技术规范

1. 范围

本规范规定了用于有机同位素稀释质谱法分析的均质且有明确分子结构的同位素标记物标准物质研制的要求。适用于有机同位素标记物纯度、溶液标准物质的研制。

2. 引用文件

JJF1342 标准物质研制（生产）机构通用要求

JJF1343 标准物质定值的通用原则及统计学原理

JJF1855 纯度标准物质定值技术规范 有机物纯度标准物质

3. 术语

3.1 有机同位素标记物

有机化合物中一个或几个原子被其稳定同位素取代所形成的化合物，简称标记物。

注：稳定同位素通常包括 ^{13}C 、 $^2\text{H}(\text{D})$ 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{37}Cl 、 ^{81}Br 等。

3.2 目标标记物

标记物中作为内标使用的主成分。

3.3 非目标标记物

目标标记物以外的其他标记物。

注：例如用 ^{13}C 取代苯中 ^{12}C ，如果把 6 个 ^{12}C 都被 ^{13}C 取代的标记物作为目标标记物，其他可能存在的 (1-5) ^{12}C 被取代的标记物则为非目标标记物。

3.4 化学纯度

物质中标记物和被测物（非标记物）的含量。

3.5 标记物丰度

物质中标记元素个数（包括零标记物，即被测物）不同物质与标记物和被测物总量的相对比值。

3.6 目标标记物纯度

物质中目标标记物的含量，即化学纯度乘以目标标记物丰度。

4. 通用要求

4.1 除非本规范有特殊规定，JJF1342、JJF 1343 描述的生产设备、环境、研制（生产）计划及均匀性评估、稳定性评估、不确定度评估等要求适用于本标准物质。

4.2 应根据标记物的危害程度，选择和采取相应的安全防护措施，废液处置依照有关环境保护的法律、行政法规和国家有关规定执行。

4.3 标记物定性分析

根据被测物特性，参照 JJF1855 4.2 方法进行。分析可以根据标记物谱图等信息，参照被测物的出峰时间、分析谱图、标准谱图等信息进行分析判断。

4.4 化学纯度定值和标记物丰度定值方式选取原则

参照 JJF1855 规定的原则进行选取。所选方法应在溯源性和不确定度水平上满足标准物质预期用途和目标不确定度的要求。

5. 策划

除通用要求外，策划时应重点关注：

5.1 原料中可能存在的结构类似物、被测物及非目标标记物，以便选择合适的纯度定值方法。

5.2 研制溶液标准物质时，应根据预期用途选用合适的溶剂和浓度。

6. 原料的要求

6.1 纯度

在合理成本的前提下，应选择纯度高的标记物，可以是市售、定制样品。

6.2 稳定性

标记物应该稳定，而且在研制和使用过程中不发生标记元素丢失、不与其他成分发生同位素交换。

6.3 标记原子数量

通常要求化合物中被稳定同位素取代的原子数量不少于 3 个，以降低被测物天然 ($M + 1$) 丰度的影响，但标记原子数量过多时，可能会引起标记物与被测物性质的明显差异。

注 1：采用高分辨质谱仪器测量稳定同位素元素标记物时，需确保分辨率能够满足分析物的天然同位素 ($M + 1$) 峰不影响。

注 2：D 标记元素数量较多 (>4) 时化合物性质可能有较大变化，如色谱分离等。

7. 纯度测定和不确定度评定

7.1 化学纯度测定和不确定度评定

化学纯度 (记为 P_c) 测定方法/模式主要包括质量平衡法、定量核磁法、热分析方法，以及利用已知有证标准物质进行比较定值 (简称比较法)。前三种方法原理、要求和不确定度评定详 JJF1855。比较法的原理和要求如下。

注：比较法适用于二级标准物质定值。

7.1.1 原理

采用一种测量程序，将待测物与一个有证标准物质 (非标记物) 进行比较，计算确定化学纯度。

7.1.2 要求

- 1) 配制溶液时，被测物与有证标物的基体应相同，浓度基本相同或相近。
- 2) 测量程序应清晰明了，通常为色谱法。
- 3) 标记物/被测物与其他杂质能完全分离。
- 4) 应尽可能采用两种不同原理方法或不同条件进行比较。

7.1.3 不确定度评定

比较法定值不确定度来源包括有证标物认定值的不确定度、测量结果重复性引入的不确定度及根据所选择的校准模型由校准技术引入的不确定度等。

7.2 标记物丰度的测定及不确定度评定

建议尽量采用至少两种不同原理的方法进行丰度定值，如果只有一种方法可用时，应该满足 JJF 1343、JJF1855 等规范对单一方法定值的要求。

7.2.1 常用测定方法

标记物丰度测量常用方法包括气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法及定量核磁共振法，色谱-质谱联用法包括低分辨质谱法和高分辨质谱法。定量核磁共振法原理、要求和不确定度评定详见 JJF1855。

7.2.2 色谱-质谱联用法测定丰度

7.2.2.1 原理

基于标记物与被测物物理化学性质相同及质量分数总和为 100% 的前提下，通过质谱分离、测定所有组分，对所有组分准确定量或使用面积归一化法确定各组分的含量，即标记物丰度。

7.2.2.2 要求

采用色谱-质谱联用-面积归一法测定时，要求：

- 1) 所有组分都有响应且响应因子相同；
- 2) 所有结构相关杂质与标记物能完全分离（色谱分离）；
- 3) 所有标记物与被测物能完全分离（质谱分离），并均能被检出且处于检测线性范围内；
- 4) 测量时扫描模式应相同，面积积分时不同组分（标记物）选择的离子应依次相差一个质量数。

注：测量时通常采用选择离子监测（SIM）或多离子反应监测（MRM）模式。

7.2.2.3 测定

测量时，首先应根据仪器的灵敏度、线性范围、进样量要求等配制适当浓度的标记物溶液，其次通过对色谱柱、流动相等条件的优化，确保结构相关杂质与标记物能完全分离。目标标记物丰度记为 P_{ZL} ，通常，可采用面积归一化法进行丰度计算时，公式如下：

$$P_{ZL} = \frac{A_{ZL}}{A_{ZL} + A_0 + \sum_{i=1}^n A_i} \quad (1)$$

P_{ZL} ：目标标记物丰度；

A_{ZL} ：目标标记物的峰面积；

A_0 ：被测物的峰面积；

A_i ：非目标标记物 i 的峰面积；

n ：非目标标记物的个数。

注：1. 如果被测物和非目标标记物含量低，无法准确定量，应以被测物或主体标记物为参考标准，根据仪器的定量限，估算其在标记物中的含量范围，例如被测物含量小于 0.1mg/g 或 0.01%。

2. 其他非目标标记物丰度计算参照公式（1）计算，可以不进行不确定度评估。

当仪器线性范围太窄，无法使用面积归一化法时，可使用国家有证标准物质或纯度准确定值的非标记物作为参考标准，根据配制的标

记物溶液中各组分的含量情况，采用精确匹配的方式，对所有可测组分进行准确定量，根据公式（2）计算标记物丰度。

$$P_{ZL} = 1 - \frac{C_0 + \sum_{i=1}^n C_i}{C} \quad (2)$$

P_{ZL} : 目标标记物丰度;

C : 标记物和被测物的总浓度，根据称样量、化学纯度和配制体积计算;

C_i : 非目标标记物 i 的测得浓度;

C_0 : 被测物的测得浓度。

7.2.3 不确定度评定

$$u_{\text{rel}}(P_{ZL}) = \sqrt{u_{\text{rel1}}^2 + u_{\text{rel2}}^2 + u_{\text{rel3}}^2 + u_{\text{rel4}}^2}$$

$u_{\text{rel}}(P_{ZL})$: 目标标记物丰度值的相对标准不确定度;

u_{rel1} : 测量重复性引入的相对标准不确定度，通常等于测量的相对标准偏差 (RSD);

u_{rel2} : 响应因子差异引入的相对标准不确定度，通常认为相同，该部分可忽略不计;

u_{rel3} : 仪器检测线性引入的相对标准不确定度，如果分析过程均在仪器检测线性范围内，该部分可忽略不计;

u_{rel4} : 仪器检出限(LOD)引入的相对标准不确定度，根据仪器可检测到的杂质最低浓度与待测物溶液的浓度的比值计算。

7.3 定值结果与不确定度合成

首先，将不同原理定值方法得到的化学纯度乘以目标标记物丰度，即得到该方法对目标标记物纯度测定结果。然后按照 JJF1855 方法进行数据处理和不确定度评定。

8. 溶液标准物质研制

在保证稳定的前提下，应尽可能配制成低浓度溶液，按有机溶液

标准物质研制要求进行定值和不确定度评定。配制值根据配制体积（或溶液总质量）、称样量和目标标记物纯度计算，同时备注标记物丰度值或含量范围。

9. 比对核验

9.1 标准物质的比对验证

可以采用已获批标记物或被测物标准物质进行验证，采用具有良好精密度的方法进行验证。纯度标准物质要配制成合适浓度、基体一致的溶液。溶液标准物质要基体一致，浓度相同或相近。如果基体不一致或浓度相差较大，应采用称量法转换为一致的基体和相同或相近浓度。

9.2 比对验证方法

对于被测物和非目标标记物含量相对于不确定度来说可以忽略的标准物质，可以采用气相色谱法、液相色谱法。当不可忽略时，可采用气相/液相-质谱联用法进行测量。

10. 标准物质证书的编写要求

证书的编写除满足 JJF1186 的要求外，还应包括目标标记物的化学结构式和标记物丰度或者范围，例如标记物阿特拉津-D₅，D₄ 丰度 ≤ 0.1%。