

YIMIAO ZHILIANG BIAOZHUN YU SHIYONG
JIANDU GUANLI SHOUC

疫苗

主编 范天吉

质量控制标准与使用 监督管理手册



吉林音像出版社

疫苗质量控制标准与使用 监督管理手册

(第四卷)

吉林音像出版社

第一章 生物药物分析检定概述

分析化学与其他学科相结合,迄今已繁衍出很多新的分支,生物药物分析即为其中之一。生物药物分析一般包括生化药物、生物技术药物和生物制品及其代谢产物的分析。

第一节 生物药物质量检验的程序与方法

生物药物检验工作的基本程序一般为取样、鉴别、检查、含量测定、写出检验报告。

一、药物的取样

分析任何药品首先是取样,要从大量的样品中取出少量样品进行分析。应考虑取样的科学性、真实性和代表性,不然就失去了检验的意义。取样的基本原则应该是均匀、合理。

二、药物的鉴别试验

鉴别就是依据生物药物的化学结构和理化性质,采用化学法、物理法及生物学方法进行某些特殊反应,或测试某些专属的物理常数如紫外吸收系数,或光谱图如紫外吸收与红外光谱等,来判断并确证生物药物及其制剂的真伪。通常需用标准品或对照品在同一条件下进行对照试验。药物的鉴别不是由一项试验就能完成,而是采用一组试验项目全面评价一种药物,力求使结论正确无误。常用的鉴别方法有:化学反应法、紫外分光光度法、色谱法、酶法、电泳法等。

三、药物的杂质检查

药物在不影响疗效及人体健康的前提下,可以允许生产过程和贮藏过程中引入的微量杂质的存在。药物的杂质检查主要是对生产中或引进的杂质,按照药品质量标准规定的项目,根据生产该药品所用的原料、制备方法、贮存容器与贮存过程可能发生的变化等情况,考虑可能存在的杂质,再联系这

些杂质的毒性，经综合考虑进行检查，一般情况下，对杂质规定有一定限量，不能超过这个限量，否则即不合格。判断药品的纯度是否符合限量规定要求，也称为纯度检查。药物的杂质检查分为一般杂质检查和特殊杂质检查，特殊杂质检查主要是指从生产过程中引入或原料中带入的杂质。

四、药物的安全性检查

生物药物应保证符合无毒、无菌、无热源、无致敏原和降压物质等一般安全性要求，故中国药典 2000 版附录列出了下列安全性检查：异常毒性试验、无菌检查（许多生物药物是在无菌条件下制备的，且不能高温灭菌，因此无菌检查就更有必要）、热源检查、过敏试验、降压物质检查等，此外，某些生物药物还需要进行药代动力学和毒理学（致突变、致癌、致畸等）的研究。

五、药物的含量（效价）测定

含量测定就是采用化学分析方法或物理分析方法，测定药品的有效成分的含量是否符合规定的含量标准。测定方法力求简便快速，易于推广和掌握。同时，还要考虑所用仪器是否容易获得。含量测定也可用于判定药物的优劣。生物药物的含量表示方法通常有两种：一种用百分含量表示，适用于结构明确的小分子药物或经水解后变成小分子的药物；另一种用生物效价或酶活力单位表示。适用于多肽、蛋白质和酶类等药物。

所以，判断一个药品的质量是否符合药品质量标准的规定要求，必须全面考虑鉴别、检查与含量测定三方面的检验结果。以上三方面中只要有任何一项不符合规定要求者，根据药品质量标准的规定，这个药品即为不合格品。除此之外，尚有药物的性状（外观、色泽、气味、晶形、物理常数等）也能综合地反映药物的内在质量。

六、检验报告的书写

上述药品检验及其结果必须有完整的原始记录，实验数据必须真实，不得涂改，全部项目检验完毕后，还应写出检验报告，并根据检验结果做出明确的结论。药物分析工作者在完成药品检验工作，写出书面报告后，还应对不符合规定的药品提出处理意见，以便供有关部门参考，并尽快地使药品的质量符合要求。

第二节 生物制品的质量检定

生物制品的质量检定的依据是《生物制品规程》，它是国家技术法规。规程中对每个制品的检定项目、检定方法和质量指标都有明确的规定。生物制品的检定一般分理化检定、安全检定和效力检定三个方面。

一、生物制品的理化检定

生物制品中的某些有效成分和无效有害成分，需要通过物理的或化学的方法才能检查出来，这是保证制品安全有效的一个重要方面。近年来，由于蛋白质化学、分子生物学和基因工程技术的迅猛发展，纯化菌苗、亚单位疫苗和基因工程产品的不断问世，因而理化检定更显重要。

（一）物理性状检查

1. 外观检查制品外观异常往往会涉及制品的安全和效力，因此必须认真进行检查。通过特定的人工光源检测澄明度，对外观类型不同的制品（透明液、混悬液、冻干品）有不同的要求。

2. 真空度及溶解时间冻干制品进行真空封口，可进一步保持制品的生物活性和稳定性。因此真空封口的冻干制品应进行真空度和溶解时间检查，通常可用高频火花真空测定器检查其真空程度，凡有真空度者瓶内应出现蓝紫色辉光。取一定量冻干制品，按规程要求，加适量溶剂，检查溶解时间，其溶解速度应在规定时限内。

（二）蛋白质含量测定

类毒素、抗毒素、血液制品、基因工程产品等需要测定蛋白质含量，以检查其有效成分，计算纯度和比活性。目前常用的测定蛋白质含量的方法有：(a) 半微量凯氏定氮法；(b) 酚试剂法（Lowry）；(c) 紫外吸收法。

（三）防腐剂含量测定

生物制品在制造过程中，为了脱毒、灭活和防止杂菌污染，常加入适量的苯酚、甲醛、氯仿、汞制剂等作为防腐剂或灭活剂。规程中对各种防腐剂的含量都要求控制在限度内。(a) 苯酚含量测定常用溴量法测定；(b) 汞类防腐剂（硫柳汞或硝酸汞苯）含量测定可用双硫腺法测定；(c) 氯仿含量测定；(d) 游离甲醛含量测定。

（四）纯度检查

精制抗毒素、类毒素、血液制品以及基因工程产品在制造过程中经过精

制提纯后，求检查其纯度是否达到规程要求。检查纯度的方法通常采用区带电泳、免疫电泳、凝胶层析和其他层析技术。

（五）其他测定项目

1. 水分含量测定冻干制品中残余水分的含量高低，可直接影响制品的质量和稳定性，一些活菌苗和活疫苗含残余水分过高，易造成活菌苗、活疫苗的死亡而失效；含水分过低，使菌体脱水，亦可造成活菌苗、活疫苗死亡。冻干血浆、白蛋白、抗毒素等则要求水分越低越好，有利于长期保存，不易变性。水分测定方法很多，如烘干失重法、五氧化二磷真空干燥失重法和费休氏水分测定法等。

2. 氢氧化铝与磷酸铝含量测定精制破伤风类毒素、白喉类毒素、流脑多糖菌苗等常用氢氧化铝作吸附剂，以提高制品的免疫原性，因此吸附制剂应测定氢氧化铝的含量。制品的铝含量用络合物滴定法测定。

3. 磷含量测定流脑多糖菌苗需要测定磷含量，以控制其有效成分的含量。用钼蓝法测定。

二、生物制品的安全检定

生物制品在生产全过程中需进行安全性方面的全面检查，排除可能存在的不安全因素，以保证制品用于人体时不致引起严重反应或意外事故。为此，必须抓好菌毒种和主要原材料的检查、半成品检查和成品检查三方面的安全性检查。检查的项目有如下几项。

（一）一般安全性检查

包括安全试验、无菌试验和热源质试验。

（二）杀菌、灭活和脱毒情况的检查

灭活疫苗、类毒素制品，常用甲醛或苯酚作为杀菌剂或灭活剂。这类制品的菌毒种多为致病性强的微生物，如未被杀死或解毒不完善，就会在使用时发生严重事故，因此通常需要进行活毒检查、解毒试验和残余毒力试验等安全性检查。

（三）外源性污染检查

主要有野毒检查、支原体检查、乙肝表面抗原（HBsAg）和丙肝抗体（HcAg）的检查和残余细胞DNA检查。

（四）过敏性物质检查

某些生物制品（如抗毒素）是采用异种蛋白为原料所制成，因此需要检查其中过敏原的去除是否达到允许限度。此外，有些制品在生产过程中可能

污染一些能引起机体致敏的物质。上述情况都需要进行过敏性物质的检查。通常做过敏性试验、牛血清含量测定和血型物质的检测等。

三、生物制品的效力检定

生物制品是具有生物活性的制剂，它的效力一般采用生物学方法测定。生物测定是利用生物体来测定待检品的生物活性或效价的一种方法，它以生物体对待检品的生物活性的反应为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计，通过比较待检品和相应标准品或对照品在一定条件下所产生特定生物反应的剂量间的差异，来测得待检品的效价。理想的效力试验应具备下列条件：

1. 试验方法与人体使用应大体相似；
2. 试验方法应简便易行，重现性好；
3. 结果应明确；
4. 试验结果要能与流行病学调查基本取得一致；
5. 所用实验动物应标准化。

（一）动物保护力试验（或称免疫力试验）

动物保护力试验是将疫苗或类毒素免疫动物后，再用同种的活菌、活毒或毒素攻击，从而判定制品的保护水平。这种方法可直接观察制品的免疫效果，较之测定动物免疫后的抗体水平为好。保护力试验可分为以下三类。

1. 定量免疫定量攻击法先以定量抗原免疫原鼠或小鼠数周后，再以相应的定量毒菌或毒素攻击，观察其存活数或不受感染数，以判定制品的效力。但试验前需测定一个最小感染量 MID（或一个最小致死量 MLD）的毒菌或毒素的剂量水平，同时要设立对照组。只有在对照组成立时，试验组的检定结果才有效。此法一般多用于活菌苗或类毒素的效力检定。

2. 变量免疫定量攻击法也称之为 50% 有效免疫剂量 ED_{50} 测定法。将疫苗或类毒素经系列稀释成不同的免疫剂量，分别免疫各组动物（小鼠），间隔一定时期后，各免疫组均用同一剂量的活菌、活毒或毒素攻击，观察一定时间，用统计学方法计算出能使 50% 动物获得保护的免疫剂量。

3. 定量免疫变量攻击法也称之为保护指数（免疫指数）测定法。动物经抗原免疫后，其耐受毒菌或活毒攻击相当于未免疫动物耐受量的倍数，称为保护指数。如对照组用 10 个毒菌即可使动物死亡一半，而免疫组必须用 1000 个毒菌才能使动物死亡一半，那么免疫组的耐受量为对照组的 100 倍，表明免疫组能保护 100 个 LD_{50} ，即该疫苗的保护指数为 100，此法常用于疫

苗的效力检定。

（二）活疫苗的效力测定

1. 活菌数测定先用比浊法测出制品含菌浓度，然后稀释 10 倍，由最后几个稀释度（估计接种后能长出 1 ~ 100 个菌）取一定量菌液涂布接种于适宜的平皿培养基上，培养后计取菌落数，并计算活菌率。活菌苗多以制品中的抗原菌的存活数表示其效力。

2. 活病毒滴度测定常用组织培养法或鸡胚感染法测定。活疫苗多以病毒滴度表示其效力。

（三）抗毒素和类毒素的单位测定

1. 抗毒素单位（U）测定能与一个 L₅₀ 量（致死限量）的毒素作用后，注射小鼠仍能使该小鼠在 96h 左右死亡的最小抗毒素量，称为一个抗毒素单位。目前国际上都采用国际单位（U）数表示抗毒素的效价。

2. 絮状单位（Lf）测定能和一个单位抗毒素首先发生絮状沉淀反应的类毒素（或毒素）量称为一个絮状单位（Lf），常用絮状单位数表示类毒素或毒素效价。

（四）血清学试验

用血清学试验可检查抗体或抗原的效价。所谓血清学试验系指体外抗原抗体试验。抗原抗体反应具有高度的特异性，已知抗原，即可检测抗体；反之亦然。抗原抗体在体外结合时，可因抗原的物理性状不同或参与反应的成分不同而出现各种类型的反应，如凝集反应、沉淀反应、中和反应和补体结合反应，以上四种类型反应是经典血清学反应。在此基础上经过不断的技术改进，又衍生出许多快速而灵敏的抗原抗体反应，诸如间接凝集试验、反向间接凝集试验、各种免疫扩散、免疫电泳以及荧光标记、酶标记、同位素标记等高度敏感的检测技术。预防用的生物制品免疫动物或人体后，可刺激机体产生相应抗体。抗体形成水平，也是反映制品质量的一个重要方面。

第三节 药物代谢与药物动力学中的分析方法

一、药物代谢与药物动力学的研究

药物的代谢转化是指药物进入人体后，在体内进行一些反应，发生结构变化，使脂溶性的药物获得极性基团，增加水溶性，而利于从肾及胆道排泄的过程。药物在体内的整个过程通常用 ADME 表示。A 表示吸收（absorp-

tion), 为药物被生物体的吸收; D 为分布 (dis - tribution), 为药物在生物体内的分布; M 为代谢 (metabolism), 即药物在体内的代谢转化; E 为排泄 (excretion), 即药物及其代谢产物自体内的排除。药物化学结构与存在状态都可能发生变化。化学结构的变化主要是药物在体内受代谢酶的作用产生一个或多个代谢物, 存在状态的变化主要是药物及代谢物可与血浆蛋白结合。因此, 除少数情况外, 一般都需要将药物自生物基质中分离出来, 并经纯化、富集后测定, 即需要对样品进行预处理。研究药物及其制剂在体内的过程, 阐明药物剂型因素、生物因素与疗效之间的关系, 生化代谢与调控理论及其研究手段是重要的理论基础。药物的代谢转化一般分为两类反应: 第一类反应包括氧化、还原、水解、水合、脱硫乙酰化、异构化等; 第二类反应为结合反应, 主要包括葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、谷胱甘肽结合、乙酰化、甲基化、氨基酸结合、脂肪酸结合以及缩合等。药物的两相转化反应均需要体内多种酶的参与。经过一类反应后, 药物分子上形成羧基、羟基、醇基、胺基等, 便于进行第二类结合反应, 形成极性更高、水溶性更大的代谢产物, 有利于从肾及胆道排出体外。药物经过机体的转化, 可能发生相应理化性质的改变, 从而改变其药理和毒理活性, 如代谢失活、代谢活化、药理活性增强或减弱, 以及形成毒物及致癌物等。因此研究药物的代谢转化过程, 明确药物的代谢转化途径, 有助于理解药物的药理作用及毒副反应的机理, 指导临床合理用药。应用生化药学的理论与技术手段研究药物作用的分子机制以及药物在体内的代谢转化和代谢动力学是近代药理学的主要发展方向。

当前国际上药物代谢与药物动力学的主要研究领域有: 药物代谢的化学基础、药物代谢的生物学和生物化学基础、药物代谢与生物活性的关系研究以及影响药物动力学参数和药物代谢的因素。近年来的研究热点包括: 根据药代动力学性质对化合物进行高通量筛选, 药物转运的细胞机制与分子机制, 药物代谢酶的遗传药理学研究, 特定类别药物的吸收、转运和靶向性机制, 药代动力学和药效学的相关性, 人体药代动力学、制剂生物利用度和生物等效性预测, 手性药物立体选择性体内过程研究等。

药物代谢产物动力学是定量研究代谢物在体内生成的量及其生成速率, 可正确判断生物转化的药理学意义。在体内形成药物代谢产物的新药, 特别是药物代谢产物具有重要的药理与 (或) 毒理作用的情况下, 除研究母药的药代动力学之外, 还必须进行药物代谢产物的动力学研究。

二、药物代谢研究的分析方法

药物代谢转化的研究一般有两种途径：一种途径为通过色谱等手段从体内体外代谢样品中分离、检测、制备代谢物纯品，然后利用紫外、红外、核磁共振、质谱等手段进行结构鉴定；另一途径是以质谱为结构鉴定基础的色谱-质谱联用方法，并辅以同位素标记、衍生化反应以及纯品对照等手段，对代谢产物进行结构鉴定。后者尤其适合于生物体液中药物及其代谢产物的定性、定量测定与药物代谢动力学方面的研究。

（一）以色谱等分离制备为基础的分析方法

这一类分析方法主要包括代谢物的分离、检测、纯品制备与结构鉴定几方面的工作。药物的分离检测，主要方法有柱色谱、TLC、GC 与 HPLC，常用于药物及其代谢产物的同时分离与检测。根据药物代谢的一般规律，代谢物的极性较原药大，所以在 RP-HPLC 系统中代谢物一般先于原药被洗脱出来，特别有利于代谢产物的识别。与 RP-HPLC 结合的检测方法主要有电化学方法（EC）、荧光检测（FD）、紫外吸收检测（UV）与放射性检测（RA）。二极管阵列检测器（DAD）由于能同时进行多波长检测，并同步记录色谱峰的吸收光谱、检测峰纯度，与 HPLC 配合，已成为快速分离检测未知代谢产物的有力工具，适合于体外代谢研究的代谢条件的优化，以及体液中未知代谢产物的分离检测。

柱色谱、TLC、制备 HPLC 由于样品容量大，操作条件灵活，适合于代谢产物的制备与纯化。对体外、体内代谢进行色谱分离前，需要对样品先进行提取分离，必要时先做去蛋白处理。常用的提取方法有液液提取与液固提取。液液提取中常用的溶剂有乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、乙醚等。根据药物及其可能形成的代谢产物的性质，可能需要调节溶液的 pH 值，或加入离子对试剂等，以尽可能全面地提取出主要代谢产物。液固提取由于需要的溶剂量相对较少，提取时没有乳化现象，提取的代谢物极性范围较广等优点，而日益受到重视。常用的固相提取材料有 SepPaK C₁₈ 柱，XAD-2，Bond Elut 柱等。而 MG Horning 等介绍的盐-溶剂对提取法，适合于多种生物体液中弱酸性、中性、碱性代谢物的提取，并且回收率高。

分离制备得到的代谢物纯品的结构鉴定主要借助于紫外、红外、核磁共振、质谱等手段。由于代谢物的结构与原药密切相关，因此比较它们波谱信息的异同，可以推断代谢产物的化学结构。质谱中各种软电离技术，如场解吸（FD）、快原子轰击（FAB）等的使用，有利于提供代谢产物的分子量信

息。¹HNMR 谱、³CNMR 谱以及其他有关的 NMR 谱, 如 NOE 等技术在药物代谢产物研究中已有广泛的应用, 能够提供有关代谢产物分子结构较为详尽的信息, 能够用于区别位置异构体及立体异构体。

(二) 色谱-质谱联用分析方法

色谱-质谱联用方法由于将色谱的高度分离能力与质谱的高检测灵敏度、定性专属性集于一身, 在药物代谢的分离与鉴定工作中已得到广泛应用。这类方法的主要依据是药物发生代谢转化后, 一般仅是在原药的基础上进行部分结构修饰, 药物的母体结构一般不会发生太大变化, 因此代谢产物与原药常有相似的质谱特征离子, 据此可以对代谢产物进行识别, 再结合其他碎片特征, 对其结构做出合理的判断。实际应用中, 常结合同位素标记来辅助代谢物的识别, 并将代谢物的 EI/MS 行为与合成品对照, 进一步证实其化学结构。色谱-质谱联用方法由于灵敏度高, 特异性强, 特别适用于体液中痕量代谢物的检出及质谱行为较相似的系列化合物代谢转化规律的研究工作。

气相色谱-质谱联用技术 (GC/MS) 由于商品化仪器出现较早, 在药物代谢研究中应用较为广泛。但气相色谱对样品的极性与热稳定性有一定要求, 因此在用 GC/MS 分析前, 样品的预处理颇为重要, 药物及其代谢产物的热稳定性、挥发性、极性可能差异较大, 需要根据具体情况对样品先进行水解处理或衍生化处理, 其中硅醚化衍生方法在药物代谢研究中应用最为普遍。衍生化后的代谢物不但色谱行为改善, 而且其质谱行为对代谢物的结构阐明能提供更多证据。

近年来, 各种液相色谱-质谱 (LC/MS) 接口的研制成功及商品化, 使 LC/MS 成为药物代谢及药物代谢动力学研究的有力工具。与 GC/MS 技术相比, LC/MS 的样品前处理简单, 一般不需要水解或衍生化处理, 可直接用于药物及其代谢产物的同时分离与鉴定。较早的 LC/MS 接口有传送带 (MB)、粒子束 (PB)、热喷雾 (TS)、其中 TS/LC/MS 较为成熟, 灵敏度较高, 在药物代谢研究中应用已较多。新近出现的大气压电离技术、电喷雾 (ES) 和大气压化学电离 (APCI) 技术, 是液相色谱-质谱联用接口方面的一大进步, 国外已有商品供应, 正在受到药物研究工作者的重视与欢迎, 应用日益广泛。电喷雾技术作为一种相对“软”的电离技术, 特别适合于药物第二相结合物, 如葡萄糖醛酸结合物、硫酸酯结合物等的检出。大流量电喷雾技术 (megafLOW-ES) 与大气压化学电离技术还能与内径 2.1mm 或 4.6mm 的常规 HPLC 柱直接联用。同时在 APCI 技术中, 通过灵活改变锥电压

(cone voltage), 可以获得与 MS/MS 中碰撞诱导解离 (CID) 相比拟的分子诱导碰撞碎片信息, 克服一般化学电离技术碎片信息少的缺点。LC/MS/MS、MS/MS 联用技术中, CID 技术使药物代谢产物的分离、检测与结构鉴定的过程变得更为方便和快捷。总之, 随着质谱技术以及液质接口技术的不断发展, 液相色谱 - 质谱联用技术终将成为研究药物代谢及药物代谢动力学中十分有利的分析手段。

三、我国生物大分子药物的代谢与动力学研究

多糖类、蛋白多肽类、寡核苷酸类等大分子药物的研究与开发, 是当前备受国内外关注的热点课题。我国对大分子生物活性药物的医学应用极为重视, 已发现许多多糖类药物具有良好的生物活性并预期有广泛的临床应用范围, 多种生物工程药物的医学应用课题已列入国家重大计划。但是由于传统方法对生物样品中原型药物、代谢产物、内源性物质的检测和区别能力不够, 导致对生物大分子的代谢与动力学研究滞后, 影响了这些药物的进一步开发。

近二三十年, 我国的药物代谢与药物动力学领域取得的巨大进展, 首先得益于新技术、新方法、新概念的运用。我国在未来的生物大分子类新药研究中要取得重大突破就必须大力加强与药物代谢与药物动力学相关的新方法研究, 要大力采用化学、免疫学、同位素标记示踪、生物检定等技术, 综合运用化学、生物学、物理学、电子计算机的最新技术, 通过良好的试验设计, 开发快速、灵敏、准确测定生物样品中药物及代谢产物浓度的方法, 建立组织培养、细胞培养、微生物转化、基因工程酶表达等体外代谢模型, 研究 LC/MS、LC/MS/MS、LC/NMR、放射标记示踪技术等结合型代谢及代谢产物结构的鉴定方法, 以及与研究药物代谢参与酶及其表达有关的细胞生物学、分子生物学方法等。

第二章 分析质量控制

在进行分析测试时,所使用仪器设备的性能和准确性、试剂的质量、分析测试的环境和条件、技术人员的技术熟练程度、采样的代表性及所选用的分析方法的灵敏度等,都会受到当前科学技术水平和人的生理条件的制约,不可避免地产生测定误差,影响到分析结果的准确性。为了把误差包括系统误差、随机误差减少到预期水平,需要采取一些措施,对整个分析过程进行质量控制,以确保分析结果的准确可靠。

第一节 分析质量保证

一、质量

在分析测试中,从采样、样品制备到分析的全过程,直到计算结果,各个环节都存在质量问题,“质量”这一概念在分析实验室中常包含数据本身的质量、分析方法的质量和体系的质量。

二、分析质量保证 (analytical quality assurance)

分析质量保证就是通过采取包括组织、人员培训、分析质量监督、检查、审核等一系列的活动和措施,对整个分析过程包括取样、样品处理、方法选择、测定过程、实验记录、数据检查、数据的统计分析,直到分析结果的表达等进行质量控制,使分析结果达到预期可信赖的要求。它既是一项具体的技术工作,也是一项实验室管理工作,主要包括质量控制和质量评价两个方面。

第二节 标准物质和标准分析方法

一、标准

1983年7月国际标准化组织发布的ISO第二号指南对“标准”的定义

是：由有关各方根据科学技术成就与先进经验，共同合作起草，一致或基本上同意的技术规范或其他公开性文件。

二、标准的分类

根据 1988 年颁布的《中华人民共和国标准化法》，我国标准分为国家标准、行业标准、地方标准和企业标准。

三、标准物质

（一）标准物质（standard material）

标准物质包括化学成分分析标准物质、物理性质与物理化学特性测量标准物质、工程技术特性测量标准物质，是一种或多种经确定了高稳定度的物理、化学和计量学特性，并经正式批准可作为标准使用，以便用来校准测量器具、评价分析方法或给材料赋值的物质或材料。

（二）标准物质的分类方法

1. 国际理论与应用化学联合会（IUPAC）的分类方法①相对原子量标准的参比物质（reference of atomic weight standard）；②基准标准物质（ultimate standard）；③一级标准物质（primary standard）；④工作标准物质（working standard）；⑤二级标准物质（secondary standard）；⑥标准参考物质（standard reference materail）。

2. 我国标准物质的等级我国的标准物质等级按照从国际单位制传递下来的准确度等级分为两级，即国家一级标准物质和二级标准物质。

一级标准物质指由绝对测量法或其他准确可靠的方法确定物质特性量值，准确度达到国内最高水平，均匀性在准确度范围之内，稳定性在一年以上，或达到国际上同类标准物质的先进水平，经中国计量测试学会标准物质专业委员会技术审查和国家计量局批准而颁布的，附有证书的标准物质。

二级标准物质的特性量值通过与一级标准物质直接对比或用其他准确可靠的分析方法测试而获得，准确度和均匀性能满足一般测量的需要，稳定性在半年以上，或能满足实际测量需要，经有关主管部门审查批准，报国家计量局直接备案。

（三）标准物质的用途

①用于评价测量方法和测量结果的准确度；②用作校准各种测试仪器；③作为分析的标准；④研究和验证标准分析方法，建立新方法；⑤用于分析质量保证计划；⑥用于分析质量控制。国际上明确规定：如果一个实验室在

分析工作中使用标准物质,则称该实验室采用了分析质量控制技术,该实验室的分析结果会被国际上采用;⑦用于仲裁依据。

四、标准分析方法

标准分析方法必须满足以下条件:

1. 按照规定的程序编制;
2. 按照规定的格式编写;
3. 方法的成熟性得到公认,通过协作实验确定了方法的误差范围;
4. 由权威机构审批和发布。

撰写标准分析方法要用规范化的术语和准确的文字对分析程序的各个环节进行描述和作出规定,必须对实验条件做出明确的规定。同时,还要规定结果的计算方式(包括单位)并用统计的方法对结果的好坏进行判断。

第三节 分析质量控制

分析质量控制(analytical quality control)是用现代科学管理技术和数理统计方法来控制分析实验室质量,把分析误差控制在允许限度内,保证分析结果有一定的精密度和准确度,使分析数据在给定的置信水平内,有把握达到所要求的质量。实验室质量控制主要包括实验室内部质量控制和实验室间质量控制。

一、实验室内部质量控制

实验室内部质量控制是实验室分析人员对分析质量进行自我控制的全过程,它是保证实验室提供准确可靠分析结果的必要基础,如应用某种质量控制图来控制分析质量。它主要反映分析质量的稳定性。

(一) 常规质量控制

1. 空白实验空白实验的方法是用纯水代替试液,与样品同时进行平行测定,分析步骤与样品测定完全相同,每天测定两个空白试样,共测5~6d,计算测定结果的标准偏差,并按规定方法计算检出限,该值应低于标准分析方法中的规定值。空白试验值的大小及其重复性,在相当大的程度上较全面地反映分析实验室及其分析人员的水平。如实验室用水、试剂纯度、容器的洁净度、分析仪器的精度和使用情况,实验室内的环境污染状况及分析人员的水平和经验等。

2. 校准曲线的绘制校准曲线是用于描述待测物质的浓度（或量）与相应的测量仪器的响应量之间定量关系的曲线。校准曲线通常包括：工作曲线——绘制校准曲线的标准溶液的分析步骤与样品分析步骤完全相同，标准曲线——绘制校准曲线的标准溶液的分析步骤与样品分析步骤相比有所省略。按统一标准方法测定绘制在线性范围内的校准曲线。一般用 4~6 个浓度的标准溶液进行测定，根据标准溶液的浓度及其测量信号绘制校准曲线，求出直线回归方程式和相关系数。

3. 方法精密度评价一般用高、中、低三种浓度的标准溶液，用相同的方法分别进行多次平行测定，并应分散在一段适当长的时间里进行分析，计算相对标准偏差，评价实验方法精密度。

4. 方法准确度评价可以用测量标准参考物质或将不同浓度的标准物质加到实际样品中做回收率测定等方法评价分析方法的准确度。

（二）质量控制图

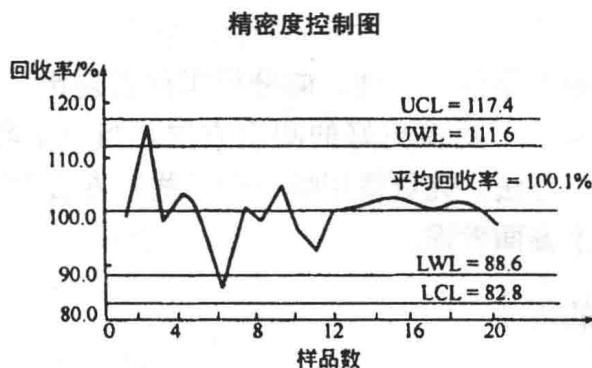
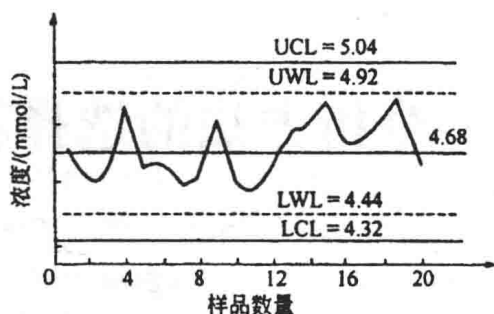
绘制质量控制图是记录与控制所获得的精密度和准确度的最好方法。将均匀、稳定的“控制标准样”（已知值的标准物质）与样品一起进行分析测试，将获得的数据绘图以检验测量系统是否在统计控制之下。制作质量控制图常用的方法是：在常规样品分析过程中，每分析一批样品插入一个“控制标准样”，或者在分析大批样品时，每隔 10~20 个样品插入一个“控制标准样”，其分析方法应与试样完全相同，并至少独立分析 20 次以上，然后以实验测定结果为纵坐标，实验顺序为横坐标，在普通方格纸上绘制而成。常用的质量控制图有精密度控制图和准确度控制图。

1. 精密度控制图

即均值控制图。以测定结果的平均值 $\bar{X}$ 为控制图的中心线，并计算出测量值的标准偏差 S ，以 $\bar{X} + 2S$ 作为上、下警告限（上警告限，UWL；下警告限，LWL），用虚线表示； $\bar{X} + 3S$ 作为上、下控制限（上控制限，UCL，下控制限，LCL）绘制控制图。

2. 准确度控制图

也称回收率控制图。向不同浓度的样品中加入不同的已知量的标准物，积累测得的回收率数据，计算百分平均回收率 P 及其标准偏差 S_p ，以 $P \pm 2S_p$ 为上、下警告限， $P \pm 3S_p$ 为上、下控制限，绘制成准确度控制图。在进行样品分析时，将“控制标准样”插入样品组内，在相同条件下进行分析测定。如果“测定结果”在控制图的警告限内，说明测定过程处于控制状态；如果“测定结果”在警告限外，但仍在控制限内，则提示分析结果开始变



劣，应进行初步检查；如“测定结果”超出控制限，表示测定过程失控，应找出原因并纠正；如果虽然所有“测定结果”均在控制限内，但有七个“测定结果”连续在中心线的同一侧，亦为异常，应查明原因并加以纠正。

二、实验室间质量控制

实验室间质量控制是检查各实验室间是否存在明显的系统误差，由上级检测机构对实验室及其分析人员的分析质量定期或不定期实行考察，方法如下。

(一) 用标准物质作平行测定

实验室间质量控制通常由中心实验室指导和负责，向各个实验室分发均匀、稳定、已知准确浓度的标准溶液，各实验室使用统一规定的方法测定后报分析结果，中心实验室可以根据每个实验室测定标准物质的结果与“证书值”的相符程度来判定该实验室分析未知样品结果的可靠性。

(二) 双样品法

在没有标准物质的情况下，中心实验室可将两个浓度不同但很类似的样品同时分发给各实验室，各实验室分别对样品进行单次测定，将数据上报。中心实验室对数据进行处理，如发现实验室间存在着影响分析结果的可比性的系统误差，则应立即找出原因并采取相应的措施。