

Table S.1 Experimental abundances of natural testosterone.

m/z	Avge (n=6)	SD	RSD
289 > 95	0,0362	0,0013	3,5%
289 > 96	0,0046	0,0003	6,1%
289 > 97	0,780	0,003	0,4%
289 > 98	0,00033	0,00005	15,9%
290 > 95	0,0046	0,0004	8,6%
290 > 96	0,00336	0,00021	6,3%
290 > 97	0,1113	0,0014	1,3%
290 > 98	0,0507	0,0012	2,4%
290 > 99	0,00010	0,00006	63,6%
291 > 97	0,0089	0,0005	5,8%

Table S.2 Experimental abundances of labelled testosterone.

m/z	Avge (n=6)	SD	RSD
290 > 98	0,0127	0,0003	2,5%
291 > 97	0,0104	0,0003	2,8%
291 > 98	0,0071	0,0003	4,9%
291 > 99	0,8075	0,0018	0,2%
292 > 97	0,00164	0,00009	5,6%
292 > 98	0,00143	0,00011	8,0%
292 > 99	0,1156	0,0016	1,3%
292 > 100	0,0345	0,0008	2,4%
293 > 99	0,0092	0,0003	3,1%

Table S.3 Example of Reverse Isotope Dilution calculation.

	Abundances		
	Labeled	Natural	Mix
289 > 95	0	0,036197	0,011
289 > 97	0	0,779939	0,233
290 > 97	0	0,111252	0,034
290 > 98	0,012692	0,050715	0,025
291 > 97	0,010432	0	0,010
291 > 99	0,807504	0	0,579
292 > 99	0,115554	0	0,083
292 > 100	0,034502	0	0,025

Linear regression

Nat	Lab	Nat	Lab
0,2983317	0,7173887	0,2937144	0,7062856
0,0015834	0,0015324		
0,9999765	0,0012514		
127418,83	6		
0,399068	9,396E-06		

m 13C2-T	0,0308 g	Mw 13C2-T	290,38966
m T	0,1992 g	Mw T	288,42442
N natT	6,798E-10 mol	d MeOH	0,791 g/mL
N labT	1,635E-09 mol		
[13C2-T]	12,191444 mg/L		

Table S.4

Sample: A

Injection 1		Abundances		Ab mix	Linear Regression		Molar fractions	
m/z	Area	Labelled	Natural		Nat	Lab	Nat	Lab
289.2 > 96.9	11651,055	0	0,779938905	0,127642838				
290.2 > 96.9	1678,353	0	0,111252333	0,018387154	0,163689725	0,925451614	0,150292454	0,849707546
291.2 > 98.9	68217,188	0,8075039	0	0,747351678	0,000331974	0,000320621		
292.2 > 98.9	9731,968	0,1155536	0	0,106618329	0,999999767	0,00026154		
Sum	91278,564			1				

Injection 2		Abundances		Ab mix	Linear Regression		Molar fractions	
m/z	Area	Labelled	Natural		Nat	Lab	Nat	Lab
289.2 > 96.9	11482,987	0	0,779938905	0,125801574				
290.2 > 96.9	1704,46	0	0,111252333	0,018673168	0,161427287	0,906053109	0,151222718	0,848777282
291.2 > 98.9	66792,43	0,8075039	0	0,731742778	0,00091199	0,000880802		
292.2 > 98.9	9491,98	0,1155536	0	0,103989147	0,999998164	0,000718496		
Sum	89471,857			0,980206667				

	N lab	X nat	X lab	N nat	[T] ng/mL (ppb)
Inj 1	1,03E-10	0,150292454	0,849707546	1,83E-11	2,11
Inj 2	1,03E-10	0,151222718	0,848777282	1,84E-11	2,13

A		
Testosterone in sample (ng/mL)		
Mean	SD	RSD
2,119	0,011	0,51%

Table S.5 Intra-laboratory uncertainty calculations.

Sample	REFERENCE VALUES		
	Mean	SD	RSD
A	2,0	0,4	20%
B	4,0	0,4	10%
C	11,2	1,2	11%
D	20	3	14%
E	57	6	10%
F	76	10	13%
n=		17	

Sample	Combined uncertainty (%)		
	Cal_IS	w-Cal_IS	IPD
uref	3,1%		
RMSbias	10,4%	8,3%	6,9%
ubias	10,9%	8,8%	7,6%
A	17,9%	9,4%	7,8%
B	13,2%	9,6%	7,8%
C	11,7%	10,0%	7,9%
D	12,0%	10,0%	8,4%
E	11,2%	9,1%	7,8%
F	11,3%	9,1%	7,7%

Sample	Mean			SD			RSD			bias		
	Cal_IS	w-Cal_IS	IPD	Cal_IS	w-Cal_IS	IPD	Cal_IS	w-Cal_IS	IPD	Cal_IS	w-Cal_IS	IPD
A	1,847	2,039	2,097	0,263	0,064	0,037	14,2%	3,2%	1,8%	-9,8%	-0,4%	2%
B	3,585	3,781	3,866	0,269	0,141	0,065	7,5%	3,7%	1,7%	-9,4%	-4,4%	-2%
C	10,083	10,297	10,484	0,442	0,471	0,216	4,4%	4,6%	2,1%	-10,2%	-8,3%	-7%
D	17,148	17,370	17,671	0,871	0,831	0,621	5,1%	4,8%	3,5%	-12,6%	-11,5%	-10%
E	51,745	52,034	52,925	1,348	1,095	0,898	2,6%	2,1%	1,7%	-9,6%	-9,1%	-8%
F	67,775	68,094	69,231	1,938	1,575	0,938	2,9%	2,3%	1,4%	-10,7%	-10,3%	-9%

Table S.6 Example of Kragten calculation for an IPD measurement in Sample C.

	Param.	natT-1	natT-2	labT-1	labT-2	B-1	B-2	B-3	B-4	[13C2-T]	V 13C2-T	V sample
	Mean	0,779939	0,111252	0,807504	0,115554	0,404296	0,058734	0,465375	0,066689	1,202	25,00	2,5
	SD	0,002937	0,001424	0,001774	0,001558	0,004796	0,002356	0,004769	0,000271	0,006	0,40	0,025
Par / Calc	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
natT-1	0,779939	0,782876	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939	0,779939
natT-2	0,111252	0,111252	0,112677	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252	0,111252
labT-1	0,807504	0,807504	0,807504	0,809278	0,807504	0,807504	0,807504	0,807504	0,807504	0,807504	0,807504	0,807504
labT-2	0,115554	0,115554	0,115554	0,115554	0,117112	0,115554	0,115554	0,115554	0,115554	0,115554	0,115554	0,115554
B-1	0,404296	0,404296	0,404296	0,404296	0,404296	0,409092	0,404296	0,404296	0,404296	0,404296	0,404296	0,404296
B-2	0,058734	0,058734	0,058734	0,058734	0,058734	0,058734	0,061090	0,058734	0,058734	0,058734	0,058734	0,058734
B-3	0,465375	0,465375	0,465375	0,465375	0,465375	0,465375	0,465375	0,470144	0,465375	0,465375	0,465375	0,465375
B-4	0,066689	0,066689	0,066689	0,066689	0,066689	0,066689	0,066689	0,066689	0,066960	0,066689	0,066689	0,066689
[13C2-T]	1,202	1,202	1,202	1,202	1,202	1,202	1,202	1,202	1,202	1,208	1,202	1,202
V 13C2-T	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25,40	25
V sample	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,525
N lab	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0348E-10	1,0398E-10	1,0514E-10	1,0348E-10
X nat	0,4736188	0,4727	0,473555515	0,474155072	0,473687037	0,476500091	0,473821733	0,471128279	0,4735985	0,4736188	0,4736188	0,4736188
X lab	0,5263812	0,5273	0,526444485	0,525844928	0,526312963	0,523499909	0,526178267	0,528871721	0,5264015	0,5263812	0,5263812	0,5263812
N nat	9,311E-11	9,277E-11	9,30884E-11	9,33125E-11	9,31375E-11	9,41941E-11	9,31879E-11	9,21863E-11	9,31E-11	9,356E-11	9,46E-11	9,311E-11
[T]	10,742316	10,702796	10,73958921	10,76544689	10,74525645	10,86715168	10,75106339	10,63550654	10,741439	10,793945	10,914193	10,635956
$\Delta 2$	-	0,0015618	7,43386E-06	0,000535051	8,64789E-06	0,015584015	7,65216E-05	0,011408203	7,68E-07	0,0026656	0,0295417	0,0113124
$sR2 = \sum \Delta 2$	0,0727021											
U	0,2696333	3%										

Mw 13C2-T	290,3897
Mw T	288,4244

Table S.7 Hampel test calculation example for Sample A

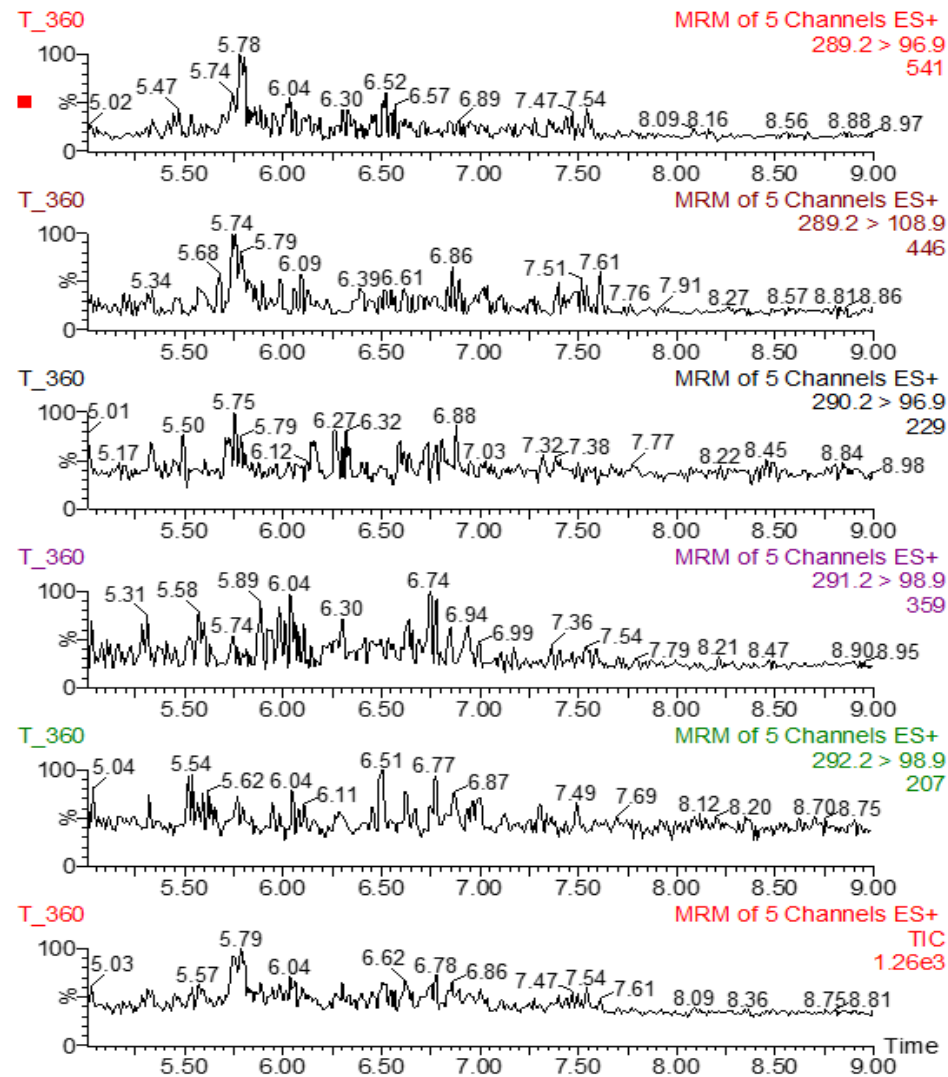
Method	Lab	Mean	SD	Abs Dev	Hampel score	w/o outliers
IPD	IUPA	2,097	0,037	0,058	0,177	2,097
	Oslo	1,943	0,060	0,096	0,293	1,943
	IMIM	2,233	0,071	0,194	0,592	2,233
	Ghent	2,572	0,003	0,533	1,629	2,572
	Oviedo	2,517	0,021	0,478	1,459	2,517
wCal	IUPA	2,039	0,064	0,000	0	2,039
	Oslo	2,020	0,064	0,019	0,057	2,020
	IMIM	2,969	0,099	0,930	2,841	2,969
	Ghent	2,190	0,002	0,152	0,463	2,190
	Oviedo	1,818	0,016	0,221	0,674	1,818
non-wCal	IUPA	1,847	0,263	0,192	0,587	1,847
	Oslo	1,635	0,064	0,404	1,234	1,635
	IMIM	3,653	0,082	1,614	4,931	
	Ghent	1,860	0,002	0,179	0,547	1,860
	Oviedo	1,648	0,017	0,391	1,193	1,648
Std Add	IUPA	2,127	0,086	0,088	0,269	2,127
GC-MS/MS	Oslo	2,47	-	0,431	1,317	2,470
GC-MS/MS	Ghent	1,58	-	0,459	1,402	1,580
LC-HRMS	Ghent	1,28	0,22	0,759	2,318	1,280
Median		2,039	MAD	0,221	Consensus	2,047
					SD	0,410

Hampel test was applied to all samples, giving from 0 to 2 outlier results.

Thus, a n=17 instead of 19 was used for uncertainty estimation since it was the lowest number of valid results.

Figure S.8 Chromatograms of a blank solution (MeOH/H₂O) and a real sample containing 0.84 ng/mL natural T (plus 10 ng/mL ¹³C₂-labelled T for quantification).

MeOH/H₂O



Sample 15

