

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T XXXXX—XXXX
代替 WS/T 212-2001

血清中氟化物的测定 离子选择电极法

Determination for fluoride in serum — Ion selective electrode method

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 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。

本标准代替 WS/T 212-2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》。

与 WS/T 212-2001 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 修改了范围（见第1章，2001年版的第1章）；
- 修订了原理（见第3章，2001年版的第3章）；
- 修订了仪器（见5.2，2001年版的5.2、5.3、5.6）；
- 修订了试剂要求（见6.1，2001年版的第4章）；
- 增加了相关试剂的名称及分子式（见6.2、6.3、6.6）；
- 增加了溶液配制及氢氧化钠溶液的配制方法（见第7章、7.1）；
- 修订了氟化物标准贮备液及氟化物标准工作液的配制方法（见7.2.1、7.2.2、7.2.3、7.2.4，2001年版的4.1.1、4.2.2、4.2.3、4.1.6）；
- 增加了氟化物标准贮备液及氟化物标准工作液的储存方法（见7.2.1、7.2.2、7.2.3，2001年版的4.1.1、4.1.2、4.1.3）；
- 删去了5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 氟化物标准工作液的配制（见2001年版的4.1.4、4.1.5）；
- 修订了含氟总离子强度调节缓冲液的配制（见7.4，2001年版的4.2.2）；
- 修订了样本采集（见第8章，2001年版的第6章）；
- 删去了标准加入法测定（见2001年版的7.1.1.3、7.1.2）；
- 修订了电位值读取时对读数稳定的要求（见9.1.2，2001年版的7.1.1.2）；
- 修改了标准曲线绘制方法（见9.1.3，2001年版的7.2.1.2）；
- 修订了样品测定中需加入含氟总离子强度调节缓冲液时，对样品含氟量的要求（见9.2，2001年版的7.2.2）；
- 删去了标准加入法结果计算（见2001年版的8.1）；
- 修改了标准曲线法的结果计算方法（见第10章，2001年版的8.2）；
- 修订了测定范围（见11.1，2001年版的9.1）；
- 修改了精密度和准确度（见11.2、11.3，2001年版的9.2）；
- 删去了部分说明内容（见2001年版的9.3、9.4、9.5、9.6、9.7）；
- 增加了质量保证及质量控制建议（见11.4、11.5）。

本标准由国家卫生健康标准委员会地方病标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由中国疾病预防控制中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委疾病预防控制局负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：哈尔滨医科大学附属第一医院、中国疾病预防控制中心地方病控制中心地氟病研究所、中国医科大学公共卫生学院、黑龙江省疾病预防控制中心

本标准主要起草人：海鑫、王伟、郭晓英、邢智锋、郭美华、刘亮、纪晓红。

本标准所代替标准历次版本发布情况为：

WS/T 212—2001，2001年首次发布，2021年第一次修订。

血清中氟化物的测定 离子选择电极法

1 范围

本标准规定了测定血清中无机氟化物的离子选择电极法。
本标准适用于血清中无机氟化物含量的测定。

2 规范性引用文件

下列标准所包含的条文，通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时，所示版本均为有效。所有标准都会被修订，使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

氟离子选择电极的氟化镧单晶膜（电极膜）对氟离子有选择性，在电极膜两侧的不同浓度的氟化物溶液之间存在电位差，其大小与溶液中氟离子浓度有关。在一定浓度范围内，利用氟电极与甘汞电极组成的一对电化学电池的电动势（电位响应）与氟离子浓度的对数呈线性关系，可计算出血清中氟离子浓度。

5 仪器

- 5.1 离子活度计或精密酸度计：分辨率为 0.1 mV。
- 5.2 氟离子选择电极和饱和甘汞电极，或两种电极的复合电极或等效电极。
- 5.3 磁力搅拌器。
- 5.4 塑料微容池，聚乙烯包裹的搅拌子。

6 试剂

- 6.1 试剂要求：本标准使用的试剂纯度除氟化钠为优级纯外，其他试剂均为分析纯。实验用水为去离子水，应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。全部试剂储存于聚乙烯瓶中。
- 6.2 氯化钠（NaCl）；
- 6.3 柠檬酸钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）；
- 6.4 冰乙酸（冰醋酸）（ CH_3COOH ）；
- 6.5 氢氧化钠（NaOH）；
- 6.6 氟化钠（NaF）。

7 溶液配制

- 7.1 氢氧化钠溶液（5 mol/L）

称取20 g氢氧化钠（NaOH）溶解于水中，混匀并定容至100 mL。

7.2 氟化物标准溶液

7.2.1 氟化物标准贮备液 $[c(F^-) = 1\,000\ \mu\text{g/mL}]$:

精密称取干燥至恒重（105℃~120℃，2 h）的氟化钠0.2210 g，加水溶解后移入100 mL容量瓶中（残液用水多次冲洗转移），用水定容至刻度，混匀，转入聚乙烯瓶中，冷藏备用（2~8℃）。亦可使用国家认可的氟标准溶液配制。

7.2.2 氟化物标准工作液I $[c(F^-) = 100.0\ \mu\text{g/mL}]$:

精密量取氟化物标准贮备液（7.2.1）10.00 mL于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，转储于聚乙烯塑料瓶中，冷藏备用（2~8℃）。

7.2.3 氟化物标准工作液II $[c(F^-) = 10.0\ \mu\text{g/mL}]$:

精密量取氟化物标准工作液I（7.2.2）10.00 mL于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，转入聚乙烯塑料瓶中，冷藏备用（2~8℃）。

7.2.4 氟化物标准工作液III $[c(F^-) = 1.0\ \mu\text{g/mL}]$:

精密量取氟化物标准工作液II（7.2.3）10.00 mL于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。临用时现配。

7.3 总离子强度调节缓冲液（TISAB）

称取58.0 g氯化钠、0.4 g柠檬酸钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）溶于约500 mL水中，加入57 mL冰乙酸，用氢氧化钠溶液（7.1）调pH为5.0~5.2，加水定容至1000 mL。

7.4 含氟总离子强度调节缓冲液（含氟TISAB）

配制过程同7.3，在加水定容前，加氟化物标准工作液II（7.2.3）4.00 mL或加入氟化物标准工作液I（7.2.2）0.40 mL。此液含氟0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前现配。

8 样本采集与保存

使用一次性真空采血管（不含添加剂）采集空腹静脉血样1.5~2.0 mL，室温静置0.5h，于3000 r/min，离心10 min，分离出血清置于具塞聚乙烯塑料管中，严密封口以防水分蒸发。若不能及时分析，冷藏保存（4℃），一周内完成测定。也可保存于-18℃~-20℃冰箱内，2周内完成测定。

9 分析步骤

9.1 标准曲线制备

9.1.1 氟化物标准系列的配制:

取6个25 mL容量瓶，按表1配制标准系列。

表1 氟化物标准系列的配制

容量瓶号	1	2	3	4	5	6
1.0 μg/mL 氟化物标准工作液III, mL	0.50	1.25	2.50	5.00	—	—
10.0 μg/mL 氟化物标准工作液II, mL	—	—	—	—	1.25	2.50
TISAB液, mL	12.50	12.50	12.50	12.50	12.50	12.50
	用水定容至刻度					
氟(F)含量, μg/mL	0.02	0.05	0.10	0.20	0.50	1.00

9.1.2 氟化物标准系列的测定：

分别吸取上述各浓度的氟标准液0.80 mL于微容池内，放一个搅拌子，移至磁力搅拌器上搅拌混匀，插入氟电极和甘汞电极，测定溶液的电位值，从低浓度到高浓度逐个进行。待读数稳定后（即每分钟电极电位变化小于0.5 mV），读取电位值，同时记录测定时的温度。

9.1.3 计算标准曲线回归方程：

以氟化物标准系列溶液各个浓度的对应数值（lgC）为横坐标，以测得的对应的电位值（E）为纵坐标绘制标准曲线，并按式（1）计算标准曲线回归方程，同时计算回归方程的相关系数（r），要求 $r \geq 0.999$ 。

$$E = a + b \lg C \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

E — 电位值，单位为毫伏（mV）；

a — 标准曲线回归方程的截距；

b — 标准曲线回归方程的斜率；

C — 氟化物标准系列溶液中氟的质量浓度（F），单位为微克每毫升（μg/mL）。

9.2 样品测定：

准确量取0.40 mL恢复室温的血清样品于微容池内，再加入0.40 mL总离子强度调节缓冲液（7.3）[如样品含氟量低于0.04 μg/mL，测定时则加入0.40 mL含氟总离子强度缓冲液（7.4）]，放一个搅拌子，将微容池置于磁力搅拌器上搅拌混匀样液，插入氟电极和饱和甘汞电极测定。读数稳定后，读取电位值（E），根据标准曲线方程计算求得待测溶液中氟化物含量对数值（lgC），并按式（2）计算待测溶液中氟含量，再按式（3）、式（4）计算血清样品中氟含量。注：当样品加入TISAB液时，按式（3）计算血清样品中氟含量，当样品加入含氟TISAB液时，按式（4）计算血清样品中氟含量。

10 结果计算

$$C = 10^{(E-a)/b} \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$C_x = C \times 2 \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$C_x = (C - 0.02) \times 2 \quad \dots\dots\dots (4)$$

E — 电位值，单位为毫伏（mV）；

a — 标准曲线回归方程的截距；

b — 标准曲线回归方程的斜率；

C — 根据标准曲线方程计算求得的待测样品中氟的质量浓度（F），单位为微克每毫升（μg/mL）；

C_x — 血清样本中氟的质量浓度（F），单位为微克每毫升（μg/mL）。

11 说明

11.1 检出限和测定范围

本方法的检出限为0.012 $\mu\text{g/mL}$ （取血清样量为0.40 mL）。

本方法可准确测定含氟（ F^- ）量 $\geq 0.04 \mu\text{g/mL}$ 血清中的氟含量。

11.2 精密度

3个实验室共对含氟量0.061~1.935 $\mu\text{g/mL}$ 的28份不同浓度水平的血清样（包括21份人血清和7份大鼠血清），各做6次重复测定，批内相对标准偏差为0.2%~4.7%，批间相对标准偏差为0.3%~5.1%。

11.3 准确度

3个实验室共对含氟量0.058~1.714 $\mu\text{g/mL}$ 的28份不同浓度水平的血清样（包括21份人血清和7份大鼠血清）各做3批次重复测定加标回收率，加入氟标准浓度为0.1~0.5 $\mu\text{g/mL}$ ，回收率范围为90.7%~108.1%。

11.4 每批次样品测定应配制和测定标准系列。每次测定样品或标准系列后均应将电极用水清洗至空白电位。

11.5 宜采用测定平行样、加标回收样及质控标准物质作为质量控制手段。平行样测定的相对标准偏差应 $\leq 10\%$ ；加标回收率应在90%~110%范围；质控标准物质测定值应在阈值范围内。

《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》

标准编制说明

一、项目基本情况

（一）《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》标准修订项目由 2021 年由中国疾病预防控制中心公共卫生标准体系升级改造项目（中疾控标准便函〔2021〕868 号）下达。

（二）起草单位及主要起草人承担工作情况：

姓名	工作单位	主要承担工作
海鑫	哈尔滨医科大学附属第一医院	负责项目及实验方案制定、标准的修订、起草
王伟	中国疾病预防控制中心地方病控制中心	方法验证、标准的修订
郭晓英	中国医科大学公共卫生学院	方法验证、标准的修订
郭美华	哈尔滨医科大学附属第一医院	方法验证、标准的修订、起草、撰写编制说明
刘亮	哈尔滨医科大学附属第一医院	方法验证
邢智锋	黑龙江省疾病预防控制中心	收集资料、标准的修订
纪晓红	中国疾病预防控制中心地方病控制中心	收集资料、方法验证

（三）起草过程等

1. 开展前期实验和调研，拟定修订方案及实验方案：

在检索、收集、查阅国内外血清中氟化物、尿中氟化物测定等相关检测方法和标准方法的文献资料的基础上，综合我国现行《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》检测标准和已有的《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》的 WS/T 89-1996 版和 WS/T 89-2015 版等国家行业标准基础上，综合考虑我国的实验室技术的可行性、标准的先进性和可行性，提出修订测定血清氟化物的离子选择电极法标准方法，并拟定了修订方案及实验方案。

2. 专家立项评审，确定技术路线和制定原则：

本标准修订方案和技术路线经国家卫生健康委卫生政策法规司委托中国疾病预防控制中心标准处组织专家进行了立项评审，综合评审专家意见，确定了本标准修订技术路线和修订原则。

3. 开展标准方法的方法学评价及验证工作，起草标准征求意见稿：

经实验研究修订、起草了标准方法（项目组讨论稿），并依据 GBZ/T 210.5—2008 《职

业卫生标准制定指南 第 5 部分：生物材料中化学物质的测定方法》的要求开展方法评价测试和验证。3 个起草单位对标准方法（项目组讨论稿）进行了验证实验和系统的方法学评价测试。根据项目起草单位的方法研究测试结果和内部讨论，起草了《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》标准征求意见稿和编制说明。

4. 征求意见及提交标准送审稿：

《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》的标准征求意见稿和编制说明在网上征求意见及向专家征求意见后，汇总修改意见和建议，修订标准稿，编制标准送审稿，提交标准送审稿。

5. 标准修订的目的意义

氟化物广泛存在于天然水体中，有色冶金、钢铁和铝加工、焦炭、玻璃、陶瓷、电子、电镀、化肥、农药厂的废水及含氟矿物的废水中常常都存在氟化物。氟化物是环境中的重要污染物。血清氟水平是评价人群氟负荷的重要指标，它在表明机体受氟危害及氟中毒中具有较重要的价值。准确评价体内氟化物水平，为评估人群氟暴露程度及防龋的研究提供可靠依据，对开展地方性氟中毒防控及其效果评价具有重要意义。

排尿是人体中氟化物排泄的主要途径，虽然尿中氟化物含量可以反映近期氟暴露的水平，但尿中氟化物含量通常受到饮水量、体液蒸发等因素的影响，因而不能准确反映体内氟化物含量的即时的真实情况。而相对于尿液，血中的氟化物与组织分布可以达到快速的平衡，检测血中氟化物形态更能及时准确的反映出氟化物在人体内的情况，因此，建立血中氟化物检测的标准意义重大。我国早在 2001 发布了血清中氟化物的标准检验方法 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》，2001 版的标准具有较好的精密度和准确度，是我国各级地方病防治实验室及其他相关实验室测定血清氟含量的重要依据，在我国地方性氟中毒领域得到了广泛应用，对我国地方性流行病学调查、病区判断、人群氟暴露水平评估、防治措施落实等工作发挥了重要作用。该方法已发布近 20 年，随着分析技术的发展及当前体内氟化物的检测需求，该方法的部分内容描述及技术要求等不再适用。因此，为制定符合当前体内氟化物评价相关工作要求的检测血清氟化物标准化技术方法，为我国血清氟化物检测标准方法提供适用的方法依据，对现行的 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》进行修订，这项工作在公共卫生领域具有重要的意义和应用价值。

二、与相关规范文件和其他标准的关系

本标准方法与我国其他法律、法规和其他标准无冲突。

本标准编写格式依据 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准结构和编写》给出的规则编写。

在国内标准中，氟离子测定方法标准涉及到水处理、药物、畜禽饲料与添加剂、卫生、安全、劳动保护、各类金属及其合金、核材料、核燃料、铁矿、重金属矿、无机化工原料、食品、化工原料、大气环境、制盐、环境污染物、煤炭、医疗器械/设备与材料、动物检疫、兽医与疫病防治、人造板、锅炉及其辅助设备、固体燃料、冶金原料与辅助材料、疾病诊断、水环境、工业废水/污染物、茶叶制品、电子材料等各个领域。

关于离子选择电极法测定氟含量的国家标准的主要有：WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》、WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》（替代 WS/T 89-1996《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》）、WS/T 88-2012《煤及土壤中总氟测定方法 高温热水解-离子选择电极法》（替代 WS/T 88-1996《煤及土壤中总氟测定方法 高温热水解-离子选择电极法》）、GB/T 5750-2006《生活饮用水卫生标准检验方法》（氟化物测定 离子选择电极法）、GB 19965-2005《砖茶含氟量》、GB 7484-1987《水质 氟化物的测定 离子选择电极法》中的氟化物检测等。

我国目前现行的血清氟化物检测方法标准只有 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》，本标准是对现行血清氟化物检测标准方法的修订，提供能够满足当前体内氟化物评价相关工作要求的检测血清氟化物标准化技术方法。

在所有的国内氟含量测定标准方法中，与本标准最为相似的为 WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》，其与本标准，在检测方法、仪器、试剂、溶液配制、测定步骤、结果计算等方面均相似，区别在于适用样品、检测下限和样本采集等方面。

与本标准相关的标准应包括 GB/T 17017-2010《地方性氟中毒病区控制标准》和 GB/T 17018-2011《地方性氟中毒病区划分》，两个文件规定了 GB 19965-2005《砖茶含氟量》和 WS/T 106《地方性氟中毒病区饮水氟化物的测定方法》为该文件的配套文件，但暂未规定本标准为其配套标准。

三、国外相关规定和标准情况的对比说明

目前国外尚无血清氟化物测定方法标准，无相关标准供参考。

国外标准中，类似的方法标准主要有四种，包括①离子选择电极法（应用最广泛）；②电位滴定法；③离子色谱法；④电化学探针法等，涉及到水质、钢铁产品、饲料、有

色金属、核能工程、金属矿、食品、空气质量、调料、食品添加剂、煤、人体保健器具、农业和林业、木基板材、燃料、非金属矿、医学科学和保健装置、废物、茶、咖啡、可可、环保、保健和安全、实验室医学等等。

四、各项技术内容依据

标准中各项重要技术指标依据如下：

（一）标准的制修订与起草原则

本标准方法修订与起草的基本原则是：

（1）方法的检出限和测定范围能够满足地方性氟中毒评价相关工作对血清氟化物检测的要求；

（2）方法准确可靠，满足检测方法各项特性指标的要求；

（3）方法具有普遍适用性，易于推广使用。

根据当前体内氟化物相关评价工作的需求和我国标准化工作的新要求，既参考国际上生物样品测定的有关新的标准、方法和技术，又兼顾我国现有医疗卫生监测检验机构的检验能力和设备设施，参考国内外相关文献，经过方法学验证研究，修订本标准，以使制定的标准方法具有科学性、可行性和可操作性。对本标准方法的方法实验研究和方法验证是以 GBZ/T 210.5—2008《职业卫生标准制定指南 第5部分：生物材料中化学物质的测定方法》中的要求为依据，并参考其他相关生物样本中化学物质测定方法的技术规范及指南进行。

（二）对国内外相关分析方法的调查分析

本方法技术内容的确定是在国内外相关标准方法及文献调查分析的基础上进一步制定研制方案和进行研究实验。目前，国内外关于氟测定的标准方法，超过 100 项，适用范围涵盖环境、卫生健康、农业、林业、地质气象等等多个领域（见前述）。国内外相关标准及文献报道，测定氟化物的方法主要有离子选择电极法、氟试剂分光光度法、离子色谱法、电位滴定法等。但关于血清中的氟化物测定方法的文献及相关标准极少报道，目前国外尚无统一的血清氟化物测定方法标准，无相关标准供参考。国内关于血清氟化物测定标准为 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》。在所有的氟测定的标准及相关文献中，应用最广泛的方法为离子选择电极法，其次为离子色谱法。离子选择电极法测定氟含量，方法技术成熟、仪器成本较低、方法灵敏度高、稳定性好，易于推广，普适性佳。

现行的氟测定的国家卫生行业标准分别为 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》、WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》（替代 WS/T 89-1996《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》）、WS/T 88-2012《煤及土壤中总氟测定方法 高温热水解-离子选择电极法》（替代 WS/T 88-1996《煤及土壤中总氟测定方法 高温热水解-离子选择电极法》），均采用离子选择电极法。其中，现行的血清氟化物测定标准方法为 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》。此标准方法具有较好的精密度和准确度，是我国各级地方病防治实验室及其他相关实验室测定血清氟含量的重要依据，在我国地方性氟中毒领域得到了广泛应用，对我国地方性流行病学调查、病区判断、人群氟暴露水平评估、防治措施落实等工作发挥了重要作用。因此，在本次修订现行标准 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》时，仍保留离子选择电极法进行血清中氟化物的测定，并进行了验证和评估。

（三） 本方法技术原理

氟化物标准系列溶液和血清样品用总离子强度调节缓冲液稀释后，插入氟电极和参比电极，当氟电极与含氟离子的试液接触时，氟离子选择电极的氟化镧单晶膜对氟离子有选择性，在氟电极的氟化镧单晶膜（电极膜）两侧的不同浓度的氟化物溶液之间存在电位差，通常称为膜电位，其大小与溶液中氟离子活度（浓度）有关。在一定活度（浓度）范围内，利用氟电极与甘汞电极组成的一对电化学电池的电动势与氟离子活度（浓度）的对数呈线性关系，绘制标准曲线，计算出血清中氟离子浓度。

（四） 实验方案的主要内容

本方法实验方案 GBZ/T 210.5—2008《职业卫生标准制定指南 第5部分：生物材料中化学物质的测定方法》的要求为依据，并参考了其他相关生物样本中化学物质测定方法的技术规范及指南安排。实验方案主要包括以下内容：①标准曲线线性评价；②检出限测试；③测定精密度评价；④测定准确度评价，包括：样品加标回收率测定、生物样品标准物质测定。⑤血清样品中氟的稳定性验证（血清样品的保存方法验证）。⑥实际应用。

（五） 方法验证的实验材料

1. 主要仪器与试剂

均与现行标准 WS/T 212—2001 所规定的仪器及试剂一致。

2. 血清样品

实验中高于 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 含氟量的血清样为血清加入氟离子标液充分混匀得到，加入

依据如下:

按标准曲线的线性范围为 $0.02\sim 1.0\ \mu\text{g/mL}$, 但样品测定时需要加入 1 倍量的总离子强度调节缓冲液(样品测定: 吸取 $0.40\ \text{mL}$ 血清置于微容池中, 再加入 $0.40\ \text{mL}$ 总离子强度调节缓冲液), 因此, 标准曲线可测定的实际血清浓度范围为: $0.04\sim 2.0\ \mu\text{g/mL}$ 。为检验在标准曲线 $0.04\sim 2.0\ \mu\text{g/mL}$ 氟离子浓度范围的中、高浓度段的测定精密度和准确度, 在本实验中高于 $0.10\ \mu\text{g/mL}$ 含氟量的血清样各为多份不同人的血清样合并(总体积各大于 $10.0\ \text{mL}$)后, 分别加入 $1000\ \mu\text{g/mL}$ 氟离子标液 $1\sim 20\ \mu\text{L}$ 充分混匀得到。

注 1: 含氟量为 $1000\ \mu\text{g/mL}$ 的标液配制: 准确称取干燥至恒重($105\ ^\circ\text{C}\sim 120\ ^\circ\text{C}$ 烘干 $2\ \text{h}$)并冷却至室温的氟化钠 $0.2210\ \text{g}$, 加水溶解后, 用水将氟化钠溶液洗入 $100\ \text{mL}$ 容量瓶中, 用水定容至刻度, 混匀, 转储于聚乙烯塑料瓶中, 置于冰箱内冷藏备用。

注 2: $1000\ \mu\text{g/mL}$ 氟标液 $1\ \mu\text{L}$ 加到 $10\ \text{mL}$ 血清中, 等于其氟浓度增加值为 $0.10\ \mu\text{g/mL}$ 。相对于标准曲线 $0.02\sim 1.0\ \mu\text{g/mL}$ 氟浓度范围, 标准曲线可测定的实际血清浓度范围为: $0.04\sim 2.0\ \mu\text{g/mL}$, 暂且将 $<0.1\ \mu\text{g/mL}$ 、 $0.1\sim 1.2\ \mu\text{g/mL}$ 、 $>1.2\ \mu\text{g/mL}$ 各段含氟量血清样分别称为低、中、高含氟量血清样。

3. 生物样品标准物质——尿中氟质量控制样本

我国尚无人血清氟化物标准物质, 测定尿氟标准物质的准确度仍可反映本方法消除生物样品基体影响的能力。因此, 本标准在验证准确度的过程中, 使用了尿中氟质量控制样品进行方法验证。尿中氟质量控制样品 GDOHNYBZ026-1、GDOHNYBZ026-2 来自于广东省职业卫生检测中心, 其参考值能溯源到国家标准物质。另外, 本标准在验证准确度的过程中, 还使用了不同浓度的水氟标准物质, 水氟标准物质 GSB 07-1194-2000 为国家一级标准物, 来自生态环境部标准样品研究所。

(六) 测定方法的主要内容

1. 氟化物标准溶液的配制:

(1) 氟化物标准贮备液 [$c(\text{F}^-)=1\ 000\ \mu\text{g/mL}$]:

精密称取干燥至恒重($105\ ^\circ\text{C}\sim 120\ ^\circ\text{C}$, $2\ \text{h}$)的氟化钠 $0.2210\ \text{g}$, 加水溶解后移入 $100\ \text{mL}$ 容量瓶中(残液用水多次冲洗转移), 用水定容至刻度, 混匀, 转入聚乙烯瓶中, 冷藏备用($2\sim 8\ ^\circ\text{C}$)。亦可使用国家认可的氟标准溶液配制。

(2) 氟化物标准工作液 [$c(\text{F}^-)=100.0\ \mu\text{g/mL}$]:

精密量取氟化物标准贮备液 $10.00\ \text{mL}$ 于 $100\ \text{mL}$ 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 转储于聚乙烯塑料瓶中, 冷藏备用($2\sim 8\ ^\circ\text{C}$)。

(3) 氟化物标准工作液II [$c(F^-) = 10.0 \mu\text{g/mL}$]:

精密量取氟化物标准工作液I 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，转入聚乙烯塑料瓶中，冷藏备用（2~8℃）。

(4) 氟化物标准工作液III [$c(F^-) = 1.0 \mu\text{g/mL}$]:

精密量取氟化物标准工作液II 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。临用时现配。

2. 总离子强度调节缓冲液（TISAB）

称取 58.0 g 氯化钠、0.4 g 柠檬酸钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）溶于约 500 mL 水中，加入 57 mL 冰乙酸，用氢氧化钠溶液调 pH 为 5.0~5.2，加水定容至 1000 mL。

3. 含氟总离子强度调节缓冲液（含氟 TISAB）

配制过程同上述“2”，在加水定容前，加氟化物标准工作液II 4.00 mL 或加入氟化物标准工作液I 0.40 mL。此液含氟 $0.04 \mu\text{g/mL}$ 。临用前现配。

4. 测定

4.1 氟化物标准系列的配制

取 6 个 25 mL 容量瓶，按表 2 配制标准系列。

表2 氟化物标准系列的配制

容量瓶号	1	2	3	4	5	6
1.0 $\mu\text{g/mL}$ 氟化物标准工作液III, mL	0.50	1.25	2.50	5.00	—	—
10.0 $\mu\text{g/mL}$ 氟化物标准工作液II, mL	—	—	—	—	1.25	2.50
TISAB 液, mL	12.50	12.50	12.50	12.50	12.50	12.50
	用水定容至刻度					
氟含量, $\mu\text{g/mL}$	0.02	0.05	0.10	0.20	0.50	1.00

4.2 氟化物标准系列的测定

(1) 氟化物标准系列的测定：分别吸取上述各浓度的氟标准液 0.80 mL 于微容池内，放一根搅拌棒，移至磁力搅拌器上，插入氟电极和甘汞电极，测定溶液的电位值，从低浓度到高浓度逐个进行。待读数稳定后（即每分钟电极电位变化小于 0.5 mV），读取电位值，同时记录测定时的温度。

(2) 绘制标准曲线：以各氟化物标准系列溶液各个浓度的对应数值（ $\lg C$ ）为横坐标，以测得的对应的电位值（ E ）为纵坐标绘制标准曲线，并按式①计算标准曲线回归方程，同时计算回归方程的相关系数（ r ），要求 r 大于 0.999。

$$E = a + b \times \lg C \quad \dots\dots\dots \text{①}$$

式中：

E — 电位值，单位为毫伏（mV）；

a — 标准曲线回归方程的截距；

b — 标准曲线回归方程的斜率；

C — 氟化物标准系列溶液中氟的质量浓度（F⁻），单位为微克每毫升（μg/mL）。

4.3 样品测定

准确量取0.40 mL恢复室温的血清样品于微容池内，再加入0.40 mL总离子强度调节缓冲液 [如样品含氟量低于0.04 μg/mL，测定时则加入0.40 mL含氟总离子强度缓冲液]，放一个搅拌子，将微容池置于磁力搅拌器上搅拌混匀样液，插入氟电极和饱和甘汞电极测定。读数稳定后，读取电位值（ E ），根据标准曲线方程计算求得待测溶液中氟化物含量对数值（lg C ），并按式（2）计算待测溶液中氟含量，再按式（3）、式（4）计算血清样品中氟含量。注：当样品加入TISAB液时，按式（3）计算血清样品中氟含量，当样品加入含氟TISAB液时，按式（4）计算血清样品中氟含量。

$$C=10^{(E-a)/b} \quad \dots\dots\dots \textcircled{2}$$

$$C_x=C \times 2 \quad \dots\dots\dots \textcircled{3}$$

$$C_x=(C-0.02) \times 2 \quad \dots\dots\dots \textcircled{4}$$

式中：

E — 电位值，单位为毫伏（mV）；

a — 标准曲线回归方程的截距；

b — 标准曲线回归方程的斜率；

C — 根据标准曲线方程计算求得的待测样品中氟（F⁻）含量，μg/mL；

C_x — 血清样本氟（F⁻）含量，μg/mL。

（七） 标准的主要修订情况及修订依据

根据前述制修订原则，结合当前体内氟化物相关评价工作的需求和按照我国标准化工作的新要求，既参考国际上生物样品测定的有关新的标准、方法和技术，又兼顾我国现有医疗卫生监测检验机构的检验能力和设备设施，参考国内外相关文献，经过方法学验证研究，本标准主要进行了以下修订：

1. 删除了前言中有关标准制定的目的意义及制定的方法等信息（见2001年版的前言）

依据：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》中关于“前言中需要说明的内容”的规定。

2. 修改了范围（见第1章，2001年版的第1章）

依据：①为编辑性改动，使表达更清晰顺畅；②采纳征求意见。

3. 修订了规范性引用文件（引用标准）（见第2章，2001年版的第2章）

依据：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》中相关规定。

4. 修订了原理（见第4章，2001年版的第3章）

依据：①为编辑性改动，使描述更详细更清晰；②WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中对于原理的表述；③采纳征求意见。

5. 调整了试剂与仪器的顺序（见第5、6章，2001年版的第5、4章）

依据：结构调整。

6. 修订了仪器（见5.2，2001年版的5.2、5.3、5.6）

依据：①GB/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》中关于“使用商品名和商标的限制”的规定；②删去常规实验量器；③采纳征求意见。

7. 修订了试剂要求（见6.1，2001年版的第4章）

依据：整合现行标准中对试剂的要求，明确对实验用水的要求。

8. 增加了相关试剂的名称及分子式（见6.2、6.3、6.6）

依据：整合现行标准中对试剂的要求，明确列出相关试剂的名称及分子式。

9. 将原试剂项下的有关标准溶液等的配制内容另列为溶液配制（见7.1、7.2、7.3、7.4，2001年版的4.1、4.2）

依据：结构调整。

10. 增加了氢氧化钠溶液（5 mol/L）的配制方法（见7.1）

依据：WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中氢氧化钠溶液（10 mol/L）的配制。

在原标准中，未给出5mol/L氢氧化钠（NaOH）的配制方法，为了方便实际工作，在本次修订中，参考WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中氢氧化钠溶液的配制方法，规定了标准中5mol/L氢氧化钠的配制方法：氢氧化钠溶液（5 mol/L）称取20 g氢氧化钠（NaOH）溶解于水中，混匀并稀释至100 mL。

11. 修订了氟化物标准贮备液及氟化物标准工作液的配制方法（见7.2.1、7.2.2、7.2.3、

7.2.4, 2001 年版的 4.1.1、4.2.2、4.2.3、4.1.6)

依据：①编辑性改动，使表达更清晰；②WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中氟化物标准溶液的制备；③2020 年版《中华人民共和国药典》相关规定；④采纳征求意见。

12. 增加了氟化物标准贮备液及氟化物标准工作液的储存方法（见 7.2.1、7.2.2、7.2.3，2001 年版的 4.1.1、4.1.2、4.1.3）

依据：①编辑性改动，使表达更清晰；②WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中氟化物标准溶液的制备；③结合征求意见。

13. 删去了 5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 氟化物标准工作液的配制（见 2001 年版的 4.1.4、4.1.5）

依据：删去标准加入法后，标准中不再涉及此浓度水平的氟化物标准工作液的使用。

14. 修订了含氟总离子强度调节缓冲液(含氟 TISAB)的配制(见 7.4, 2001 年版的 4.2.2)、对低于定量限的待测血清样品含氟量的要求（见 9.2，2001 年版的 7.2.2）和方法测定范围（见 11.1，2001 年版的 9.1）

依据：按标准曲线的线性范围为 0.02~1.0 $\mu\text{g/mL}$ ，但样品测定时需要加入 1 倍量的总离子强度调节缓冲液（样品测定：吸取 0.40 mL 血清置于微容池中，再加入 0.40 mL 总离子强度调节缓冲液），因此，标准曲线可测定的实际血清浓度范围为：0.04~2.0 $\mu\text{g/mL}$ 。因此，对方法测定范围的描述应该修改为：本方法可准确测定含氟量 ≥ 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 血清中无机氟含量。

对于低于定量范围的待测样本因超出线性范围，不能准确定量。现行标准中对待测血清样品含氟量低线性范围的规定为：如样品含氟量低于 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ，测定时则加入 0.40 mL 含氟总离子强度缓冲液（含氟 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ），显然不合理，因为含氟 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 的含氟总离子强度缓冲液与等体积氟量低于 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 待测血清混合后，其浓度必然低于 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ，低于标准曲线的定量范围。因此，应该修改为：如样品含氟量低于 0.04 $\mu\text{g/mL}$ ，测定时则加入 0.40 mL 含氟总离子强度缓冲液；相应的含氟总离子强度调节缓冲液的配制浓度应该修改为含氟 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。

15. 修订了样本的采集（见第 8 章，2001 年版的第 6 章）

依据：①逻辑性调整；②采纳征求意见；③根据本标准适用于血清样本测定，按照临床血清样本采集要求，规定使用一次性真空采血管（不含添加剂）采集血样。

16. 删去了标准加入法测定（见 2001 年版的 7.1.1.3、7.1.2）、标准加入法结果计算（见 2001 年版的 8.1）及有关标准加入法等说明内容（见 2001 年版的 9.3、9.4、9.5、9.6、

9.7)

依据:

(1) 标准加入法多用于光谱法分析检测中,如紫外分光光度法、原子吸收光谱法等等,当样品基体成分变化不定或样品中含有固体物质而对吸收的影响难以保持一定时,采用标准加入法合适的。

(2) 标准加入法存在一些局限性,应用的前提包括:在测定溶液中的干扰物质浓度必须恒定;加入标准物质产生的相应值与原样本中待测元素产生的响应值相同;样品基体效应不得随着被测元素含量对于干扰组分的比值改变而改变;不含被测元素的纯基体制作的标准加入法曲线,应该是通过坐标原点的直线。试样标准加入法曲线也要具有直线关系且与纯基体标准加入法曲线平行等等。

(3) 标准曲线法是最常用的定量方法,其快速、简便,在国内外生物样本检测相关指南或指导原则中均推荐应用。在绝大多数测定中,其可以与标准加入法相互代替,甚至更优于标准加入法。

(4) 标准加入法能消除一些基质成份对测定的干扰,但对测定的未知成分含量要粗略估计一下,加入的标准液要和样品液浓度接近,测定步骤复杂繁琐。

(5) 按现行标准,标准加入法和标准曲线法两种方法均有良好的精密度与准确度,可以相互替代。

(6) 标准曲线法适用于标准曲线的基体和样品的基体大致相同的情况,但当样品基体影响定量时,需要加入性质相似的物质进行内标校正。标准加入法可以有效克服上面所说的缺点,因为他是把样品和标准液混在一起同时测定的(“标准加入法”的叫法就是从这里来的),当基质中存在干扰测定的成分时,应采用标准加入法。按原标准中,两种方法均可应用,说明不存在这种问题。

在本次修订过程中,通过样品和标准品混在一起进行的加标回收率实验,及同时采用2种方法测定同一批样本,结果证明标准曲线法的准确度良好,与标准加入法测定结果无显著性差异,且二种方法相关性好(见验证报告相关数据)。证明样品基质不影响测定及定量,即样本基质不干扰测定,标准曲线法可替代标准加入法。

(7) 在与本标准类似的标准 WS/T 89-1996《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》的修订中,删去了标准加入法,只保留了标准曲线法(见 WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》)。

综上，标准加入法复杂繁琐、适用于性差，标准曲线法快速简便准确，可替代标准加入法（见验证报告的相关数据：经配对 t 检验，两种方法测定结果无统计学差异（ $P > 0.05$ ）；标准曲线法（ X ）和标准加入法（ Y ）的结果相关分析为 $Y = 1.0134X - 0.0007$ ， $r = 0.9986$ ，两种方法的偏差范围在 $-9.7\% \sim 6.9\%$ ，偏差的绝对值平均值为 4.2% ），因此，修订过程中取消了原标准中的标准加入法的测定过程，使检测快速简便，易操作，同时减少化学药品的使用量，既节省了开支，又利于环保。

17. 修订了电位值读取时对读数稳定的要求（见 9.1.2，2001 年版的 7.1.1.2）

在原标准中，对于电位值读取时读数稳定的要求为每分钟电极电位变化小于 1 mV ，为了增加测定的准确性，在本次修订中，参考 WS/T 89-2015 尿中氟化物的测定 离子选择电极法，将电位值读取时读数稳定的要求修改为每分钟电极电位变化小于 0.5 mV 。

依据：①起草单位内部讨论；②WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》中平衡电位的规定；③测定用的离子活度计或精密酸度计的分辨率为 0.1 mV 。

18. 修改了标准曲线绘制方法（见 9.1.3，2001 年版的 7.2.1.2）和结果计算方法（见第 10 章，2001 年版的 8.2）

依据：在现行标准中，标准曲线法测定时，标准曲线的绘制方法为：用对数坐标纸，以等距离表示电位值，对数坐标表示氟离子浓度，绘制标准曲线。对应的结果计算方法为：按标准曲线查得试样浓度（ C ）后，按 $C_x = C \times 2$ 计算血清氟含量（ C_x ）；当样品加含氟总离子强度调节缓冲液时，按 $C_x = (C - 0.01) \times 2$ 计算血清氟含量（ C_x ）。这种方式绘制标准曲线，操作复杂、准确性差，且无法直接计算回归方程及计算回归方程的相关系数，对测定方法的计算结果造成误差。用坐标纸绘制标准曲线的方法，随着电子计算机的普及已经逐渐被淘汰。利用电子计算机，进行标准曲线绘制及回归方程计算又快又简单，并且可以同时计算回归方程的相关系数（ r ），利用相关系数（ r ）可以评价标准曲线的线性，保障了测定结果的准确性，兼具科学性与实用性。

按照 GBZ/T 210.5—2008 《职业卫生标准制定指南 第 5 部分：生物材料中化学物质的测定方法》中的对标准曲线绘制的要求：“标准曲线（或工作曲线）的绘制：每个浓度至少测定 3 次，以 3 次测定的均值与相应的浓度绘制标准曲线（或工作曲线），计算回归方程和相关系数”。目前，应用测定的均值与相应的浓度进行标准曲线绘制并计算回归方程的方法，在现行的标准方法中广泛应用，如：WS/T 89-2015《尿中氟化物的测定 离子选择电极法》、WS/T 88-2012《煤及土壤中总氟测定方法 高温热水解-离子选择电极法》等等。因此，为了方便实际工作，保证测定的准确性，在本次修订中，将

标准曲线法部分的标准曲线的绘制及相应的结果计算修改为：“以氟化物标准系列溶液各个浓度的对应数值 ($\lg C$) 为横坐标，以测得的对应的电位值 (E) 为纵坐标绘制标准曲线，并按式 (2) 计算标准曲线回归方程 ($E = a + b \times \lg C$)，同时计算回归方程的相关系数 (r)。”和“按标准曲线回归方程和 $C = 10^{(E-a)/b}$ 计算试样浓度 (C) 后， $C_x = C \times 2$ 计算血清氟含量 (C_x)；当样品加含氟总离子强度调节缓冲液时，按 $C_x = (C - 0.02) \times 2$ 计算血清氟含量 (C_x)。”

19. 增加了标准曲线相关系数的规定

依据：在本次修订中，参考 GBZ/T 210.5—2008 职业卫生标准制定指南 第 5 部分：生物材料中化学物质的测定方法，规定了标准曲线相关系数 (r) 应 ≥ 0.999 ，方法验证结果相关系数 (r) 范围为：0.99915~0.99995，本方法符合要求。

20. 修改了精密度和准确度（见 11.2、11.3，2001 年版的 9.2）；

依据：验证实验报告数据结果：3 个实验室共对 28 个不同血清样（含氟量：0.061~1.924 $\mu\text{g/mL}$ ）进行了测定，批内相对标准偏差 ($RSD\%$) 为 0.2%~4.7%，平均为 2.1%；3 个实验室共对 28 个不同血清样（含氟量：0.064~1.935 $\mu\text{g/mL}$ ）进行了测定，批间 RSD 为 0.3%~5.1%，平均为 2.7%；3 个实验室共对 28 个不同血清样（含氟 0.058 ~ 1.714 $\mu\text{g/mL}$ ）做加标回收率验证，加入氟标准浓度为 0.1000 ~ 0.4000 $\mu\text{g/mL}$ ，氟的回收率范围为 90.7%~108.1%，总平均为 98.2%。

21. 增加了质量保证及质量控制建议（见 11.4、11.5）。

依据：①起草单位内部讨论；②验证实验过程及实验结果数据。

修订后标准与现行标准 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》的主要内容比较见表 3。

表 3 修订后标准与现行标准主要内容比较

	修订后标准	现行标准（WS/T 212—2001）
前言中标注的标准制定的目的意义等	删去了有关内容	血清氟水平是评价人群氟负荷的重要指标，它在表明机体受氟危害及氟中毒中具有较重要的意义。因此，在地方性氟中毒的防治研究及防龋的研究中经常进行该指标的检测。 本标准规定的血清中无机氟测定方法，是在参考了国内外多年来报道的各种血清氟测定方法的基础上并结合我国的国情制定的适于一般实验室可操作的方法。本标准规定的操作步骤及技术指

		标均经过实验室和现场验证。
范围	本标准规定了测定血清中无机氟化物的离子选择电极法。 本标准适用于各种人及动物血清中无机氟化物浓度的测定。	本标准规定了用离子选择电极法测定血清中无机氟化物的浓度。 本标准适用于各种人群及动物血清中无机氟化物浓度的测定。
引用标准	规范性引用文件 …… GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法	引用标准 …… GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法
原理	氟离子选择电极的氟化镧单晶膜（电极膜）对氟离子有选择性，在电极膜两侧的不同浓度的氟化物溶液之间存在电位差，其大小与溶液中氟离子浓度有关。在一定浓度范围内，利用氟电极与甘汞电极组成的一对电化学电池的电动势（电位响应）与氟离子浓度的对数呈线性关系，可计算出血清中氟离子浓度。	氟离子选择电极的氟化镧单晶膜对氟离子有选择性，由电极膜分开的两种不同浓度的氟溶液之间存在电位差即膜电位，其大小与溶液中氟离子活度有关。利用电动势与氟离子活度的线性关系，可直接求出血清中氟离子浓度。
仪器	5.1 离子活度计或精密酸度计：分辨率为 0.1 mV。 5.2 氟离子选择电极和饱和甘汞电极，或两种电极的复合电极或等效电极。 5.3 磁力搅拌器。 5.4 塑料微容池，聚乙烯包裹的搅拌子。	5.1 离子活度计或精密酸度计：分辨率为 0.1 mV。 5.2 氟离子选择电极：CSB-F-III型（长沙特种硬质合金工业公司产）。 5.3 232 型甘汞电极。 5.4 磁力搅拌器。 5.5 塑料微容池，具有聚乙烯包裹的搅拌子。 5.6 可调微量移液器或微量加样器 2~20 μL ($\pm 0.02 \mu\text{L}$)。
试剂要求	本标准使用的试剂纯度除氟化钠为优级纯外，其他试剂均为分析纯。实验用水为去离子水，应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。全部试剂储存于聚乙烯瓶中。	本标准使用的试剂纯度除特别说明外均为分析纯。实验用水应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。全部试剂贮于聚乙烯瓶中。
试剂	氯化钠 (NaCl)。 柠檬酸钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。 冰乙酸（冰醋酸） ($\text{CH}_3\text{COOH}$)。 氢氧化钠 ($\text{NaOH}$)。 氟化钠 ($\text{NaF}$)。	包括氯化钠、柠檬酸钠、冰乙酸、氢氧化钠、氟化钠（优级纯），未明确单独列出。
氢氧化钠溶液配制	称取 20 g 氢氧化钠 (NaOH) 溶解于水中，混匀并稀释至 100 mL。	——
氟化物标准溶液	7.2.1 氟化物标准贮备液 [$c(\text{F}^-)=1\ 000 \mu\text{g/mL}$]：精密称取干燥至恒重 ($105^\circ\text{C}\sim 120^\circ\text{C}, 2\text{ h}$) 的氟化钠 0.2210	4.1.1 氟化物标准贮备液：准确称取经 120°C 干燥 2 h 并冷却至室温的氟化钠（优级纯）0.2210 g，用水溶解后移入 100

	g, 加水溶解后移入 100 mL 容量瓶中 (残液用水多次冲洗转移), 用水定容至刻度, 混匀, 转入聚乙烯瓶中, 冷藏备用 (2~8°C)。或使用国家认可的氟标准溶液配制。 7.2.2 氟化物标准工作液 I [$c(F^-) = 100.0 \mu\text{g/mL}$]: 精密量取氟化物标准贮备液 (7.2.1) 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 转储于聚乙烯塑料瓶中, 冷藏备用 (2~8°C)。 7.2.3 氟化物标准工作液 II [$c(F^-) = 10.0 \mu\text{g/mL}$]: 精密量取氟化物标准工作液 I (7.2.2) 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 转入聚乙烯塑料瓶中, 冷藏备用 (2~8°C)。 7.2.4 氟化物标准工作液 III [$c(F^-) = 1.0 \mu\text{g/mL}$]: 精密量取氟化物标准工作液 II (7.2.3) 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀。临用时现配。	mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀, 倒入聚乙烯瓶中备用。此液 1 mL 含氟 1 000 μgF^-。 4.1.2 氟化物标准工作液 I [$c(F^-) = 100.0 \mu\text{g/mL}$]: 吸取氟化物标准贮备液 (4.1.1) 10.00 mL, 移入 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。 4.1.3 氟化物标准工作液 II [$c(F^-) = 10.0 \mu\text{g/mL}$]: 吸取氟化物标准工作液 I (4.1.2) 10.00 mL, 移入 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。 4.1.4 氟化物标准工作液 III [$c(F^-) = 5.0 \mu\text{g/mL}$]: 吸取氟化物标准工作液 I (4.1.2) 5.00 mL, 移入 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。 4.1.5 氟化物标准工作液 IV [$c(F^-) = 2.0 \mu\text{g/mL}$]: 吸取氟化物标准工作液 I (4.1.2) 2.00 mL, 移入 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。 4.1.6 氟化物标准工作液 V [$c(F^-) = 1.0 \mu\text{g/mL}$]: 吸取氟化物标准工作液 II (4.1.3) 10.00 mL, 移入 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。 氟化物标准工作液 (4.1.4 ~ 4.1.6) 临用时现配。
含氟总离子强度调节缓冲液配制	配制过程同 7.3, 在加水定容前, 加氟化物标准工作液 II (7.2.3) 4.00 mL 或加入氟化物标准工作液 I (7.2.2) 0.40 mL。此液含氟 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前现配。	配制同总离子强度调节缓冲液配制, 在加水稀释前, 加氟化物标准工作液 II 2.00 mL。此液含氟 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 。临用前现配。
标准曲线的氟浓度范围	0.02 ~ 1.0 $\mu\text{g/mL}$	0.02 ~ 1.0 $\mu\text{g/mL}$
标准系列溶液浓度点	0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 $\mu\text{g/mL}$	0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 $\mu\text{g/mL}$
测定取标准系列溶液及血清样体积	0.40 mL	0.40 mL
标准系列测定	分别吸取各浓度的氟标准液 0.80 mL 于微容池内, 放一个搅拌子, 移至磁力搅拌器上搅拌混匀, 插入氟电极和甘汞电极, 测定溶液的电位值, 从低浓度到高浓度逐个进行。待读数稳定后 (即每分钟电极电位变化小于 0.5 mV), 读取电位值, 同时记录测定时的温度。	分别吸取各浓度的氟标准液 0.80 mL 于微容池内, 放一根搅拌棒, 移至磁力搅拌器上, 插入氟电极和甘汞电极, 测定溶液的电位值, 从低浓度到高浓度逐个进行。待读数稳定后 (即每分钟电极电位变化小于 1 mV), 读取电位值, 同时记录测定时的温度。
样本采集与保存	样本采集与保存 使用一次性真空采血管 (不含添	采样 采集空腹肘静脉血 1.5~2 mL, 置于

	加剂)采集空腹静脉血样 1.5~2.0 mL, 室温静置 0.5h, 于 3000 r/min, 离心 10 min, 分离出血清置于具塞聚乙烯塑料管中, 严密封口以防水分蒸发。若不能及时分析, 冷藏保存(2~8℃), 一周内完成测定。也可保存于-18℃~-20℃冰箱内, 2 周内完成测定。	无氟具塞的聚乙烯管中, 采集后立即离心(3 000 r/min, 10 min)取血清测氟。若不能及时分析, 保存冰箱(4℃)中, 一周内完成测定。也可保存于-18℃~-20℃冰盒内 2 周测定。
样品测定	准确量取 0.40 mL 血清于微溶池内, 加 0.4 mL 总离子强度调节缓冲液(如样品含氟量低于 0.04 μg/mL, 测定时则加入 0.40 mL 含氟 0.04 μg/mL 的含氟总离子强度调节缓冲液)。	准确吸取 0.40 mL 血清于微溶池内, 加 0.4 mL 总离子强度调节缓冲液(如样品含氟量低于 0.02 μg/mL, 测定时则加入 0.40 mL 含氟 0.02 μg/mL 的含氟总离子强度调节缓冲液)。
测定方法	离子选择电极法	离子选择电极法
分析方法: 标准加入法	删去原标准中标准加入法	见 WS/T 212—2001 方法
分析方法: 标准曲线法	标准曲线的绘制: 以氟化物标准系列溶液各个浓度的对应数值($\lg C$)为横坐标, 以测得的对应的电位值(E)为纵坐标绘制标准曲线, 并按式(2)计算标准曲线回归方程($E = a + b \times \lg C$), 同时计算回归方程的相关系数(r), 要求 $r \geq 0.999$ 。	标准曲线的绘制: 用对数坐标纸, 以等距离表示电位值, 对数坐标表示氟离子浓度, 绘制标准曲线(没有规定计算回归方程及相关系数)。
	结果计算: 按标准曲线回归方程和 $C = 10^{(E-a)/b}$ 计算试样浓度(C)后, $C_x = C \times 2$ 计算血清氟含量(C_x); 当样品加含氟总离子强度调节缓冲液时, 按 $C_x = (C - 0.02) \times 2$ 计算血清氟含量(C_x)。	结果计算: 按标准曲线查得试样浓度(C)后, 按 $C_x = C \times 2$ 计算血清氟含量(C_x); 当样品加含氟总离子强度调节缓冲液时, $C_x = (C - 0.01) \times 2$ 。
检出限(检测下限)	检出限为 0.012 μg/mL	检测下限为 0.012 μg/mL
测定范围	本方法可准确测定含氟量 ≥ 0.04 μg/mL 血清中无机氟含量。	本方法可准确测定含氟量大于 0.02 μg/mL 血清中无机氟含量。
精密度与准确度	精密度 3 个实验室共对含氟量: 0.061~1.935 μg/mL 的 28 个不同浓度水平的血清样, 各做 6 次重复测定, 批内相对标准偏差为 0.2%~4.7%, 批间相对标准偏差为 0.3%~5.1%。 准确度 3 个实验室共对含氟 0.058~1.714 μg/mL 的 28 个不同血清样各做 3 次批重复测定加标回收率, 加入氟标准浓度为 0.1~0.4 μg/mL, 氟的回收率范围为 90.7%~108.1%。	精密度和准确度: 同一实验室对含氟量 0.059 μg/mL、0.090 μg/mL 和 0.203 μg/mL 的血清样品 8 次测定的相对标准偏差分别为 3.39%、1.89%、0.99%。当血清样品的本底氟值为 0.054 μg/mL、0.089 μg/mL、0.205 μg/mL 进行加标回收实验, 回收率分别为 96.7%±3.01%、101.2%±2.50%、99.8%±2.79%。 四个实验室对含氟 1.03 mg/L±0.06 mg/L、5.07 mg/L±0.13 mg/L 牛血清游离氟成分标准物质(GBW09143、GBW09144)进行测定, 均值分别为 0.98±0.066 μg/mL, 5.00±0.08 μg/mL, 相对标准偏差分别为 6.73%、1.56%。相对误差分别为 4.85%、1.38%, 均小于 5%。

其他说明	删去了有关标准加入法等说明内容。 增加了质量保证及质量控制建议： 每批次样品测定应配制和测定标准系列。每次测定样品或标准系列后均应将电极用水清洗至空白电位。 宜采用测定平行样、加标回收样及生物样品氟标准物质作为质量控制手段。平行样测定的相对偏差应$\leq 10\%$；加标回收率应在$90\% \sim 110\%$范围；质控标准物质测定值应在给定值范围。	标准加入法，样品中的加标浓度可根据测得的E_1来判断可能的浓度范围，决定加$2 \sim 10 \mu\text{g/mL}$那个浓度，使ΔE为$20 \sim 30$或$20 \sim 40$为宜，减少测定误差。 标准加入法计算所用的电极斜率(S)，一定要用被测液加标前、后所测得的E_1和E_2所对应的氟标准液浓度范围内的电极实测斜率。 测样前电极插入$0.02 \mu\text{g/mL}$氟标准液中20 min，使样品测定平衡时间缩短。由于电极有“记忆”功能，应使它尽量少接触含高氟的溶液。在测含高氟的样品后，一定将电极洗至要求的空白电位。 电极插入微容池溶液内不可太深，刚好在液面下$2 \text{ mm} \sim 3 \text{ mm}$即可，免得把样液挤出池外，再做标加时不准确。 标准加入法，向被测液中加入标准溶液时，应在搅拌状态下加在两电极中间部位。这样使被加的标准溶液能被充分混匀。
方法验证结果	符合生物样本检测要求	符合生物样本检测要求

(八) 方法验证结果汇总

哈尔滨医科大学附属第一医院（编号1）、中国疾病预防控制中心地方病控制中心（编号2）、中国医科大学公共卫生学院（编号3）参与了标准方法的研制及验证。

各实验室对本方法的标准曲线线性、检出限、测定精密度与重现性、血清样加标回收率等进行了实验验证，数据汇总如下：

1. 方法标准曲线线性

3个实验室测定得到的血清氟化物 $0.02 \sim 1.0 \mu\text{g/mL}$ 标准曲线线性结果的汇总见表4。回归方程线性相关系数 r^2 范围为： $0.9983 \sim 0.9999$ ，即 r 范围为： $0.99915 \sim 0.99995$ ，都得到很好的标准曲线线性。

表4 血清氟化物 $0.02 \sim 1.0 \mu\text{g/mL}$ 标准曲线线性测试结果汇总表

实验室 编号	重复 次数	标准曲线回归方程 (E 为测得的对应的电位值， C 为氟化物标准系列 溶液浓度)	标准曲线线性相关系数 r^2	
			最小	最大
1	25	$E = a + b \times \lg C$	0.9983	0.9998
2	16	$E = a + b \times \lg C$	0.9997	0.9999
3	10	$E = a + b \times \lg C$	0.9986	0.9999

2. 方法检出限测试结果汇总

3 个实验室的检出限结果汇总见表 5，平均为 0.012 $\mu\text{g/mL}$ 。因此，方法的检出限（检测下限）为 0.012 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 5 方法对血清氟化物检出限测试结果汇总表

实验室编号	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.013
2	0.012
3	0.011

3. 方法精密度测试结果汇总

方法的批内精密度：实验室 1 对低、中、高氟的 15 份不同浓度的血清样（每浓度 5 份样品）采用本方法同批次每份样品各测定 6 个平行样，结果汇总见表 6（测定血清氟化物的批内精密度实验结果汇总表-1）。实验室 2 对 7 份不同氟浓度水平的血清样各采用本方法同批次各测定 3 个平行样，实验室 3 对 6 份不同氟浓度水平的血清样各采用本方法同批次各测定 3 个平行样，结果汇总见表 7（测定血清氟化物的批内精密度实验结果汇总表-2）。

3 个实验室共对 28 个不同血清样[含氟量：0.061~1.924 $\mu\text{g/mL}$ ，基本代表了标准曲线可测定范围（0.04~2.0 $\mu\text{g/mL}$ ）内的各浓度水平进行了测定及计算，批内精密度结果：相对标准偏差（ $RSD\%$ ）为 0.2%~4.7%，平均为 2.1%。

方法的批间精密度：实验室 1 对 15 份不同氟浓度水平（高、中、低 3 水平，每水平 5 份样本）的血清样各采用本方法每份样品每批次各测定 3 个平行样求平均值，重复测定 3 批次，结果汇总见表 8。实验室 2 对 7 份不同氟浓度水平的血清样各采用本方法每批次各测定 3 个平行样求平均值，重复测定 6 批次；实验室 3 对 6 份不同氟浓度水平的血清样各采用本方法每批次各测定 3 个平行样求平均值，重复测定 6 批次，结果汇总见表 9。

3 个实验室共对 28 个不同血清样[（含氟量：0.065~1.935 $\mu\text{g/mL}$ ），基本代表了标准曲线可测定范围（0.04~2.0 $\mu\text{g/mL}$ ）内的各浓度水平]进行了测定与计算，批间精密度结果： RSD 为 0.3%~5.1%，平均为 2.7%。

结果显示本方法测定血清氟有较好的批内精密度和批间精密度。

表 6 测定血清氟化物的批内精密度实验结果汇总表-1 (n=15, 每份样品 6 平行样)

实验室 编号	低氟血清样 (共5份不同血清样)		中氟血清样 (共5份不同血清样)		高氟血清样 (共5份不同血清样)	
	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)
1	0.105±0.003	3.21	0.856±0.021	2.47	1.827±0.022	1.20
	0.102±0.002	2.09	0.889±0.018	2.07	1.692±0.016	0.96
	0.094±0.003	2.70	1.105±0.033	2.98	1.621±0.023	1.43
	0.068±0.003	4.67	0.934±0.017	1.79	1.508±0.017	1.11
	0.065±0.003	4.73	0.891±0.020	2.25	1.869±0.037	1.96

表 7 测定血清氟的批内精密度实验结果汇总表-2 (n=13, 3 平行样)

实验室 编号	低氟血清样 (共4份不同血清样)		中氟血清样 (共5份不同血清样)		高氟血清样 (共4份不同血清样)	
	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)
2	0.074±0.003	3.5	0.163±0.003	2.0	1.375±0.005	0.4
	0.099±0.002	2.0	0.430±0.005	1.2	1.709±0.004	0.2
			0.905±0.009	1.0		
3	0.087 ±0.004	4.7	1.090 ±0.004	0.4	1.339 ±0.110	1.6
	0.091 ±0.001	0.7	1.110 ±0.013	1.1	1.297 ±0.041	3.1

表 8 测定血清氟的批间精密度实验结果汇总表-1 (n = 15, 3 批次重复测定)

实验室 编号	低氟血清样 (共5份不同血清样)		中氟血清样 (共5份不同血清样)		高氟血清样 (共5份不同血清样)	
	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μgm/L)	RSD (%)
1	0.109±0.006	5.10	0.861±0.040	4.69	1.792±0.057	3.20
	0.104±0.002	1.74	0.910±0.046	5.02	1.720±0.069	4.01
	0.096±0.004	4.04	1.105±0.056	5.10	1.616±0.047	2.90
	0.067±0.003	3.89	0.945±0.039	4.18	1.536±0.016	1.03
	0.066±0.004	5.64	0.898±0.033	3.63	1.880±0.051	2.70

表 9 测定血清氟的批间精密度实验结果汇总表-2 (n = 13, 6 批次重复测定)

实验室 编号	低氟血清样 (共4份不同血清样)		中氟血清样 (共5份不同血清样)		高氟血清样 (共4份不同血清样)	
	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)	平均值±标准差 (μg/mL)	RSD (%)
2	0.072±0.003	3.8	0.161±0.003	1.8	1.400±0.013	0.9
	0.095±0.002	2.1	0.431±0.003	0.8	1.712±0.007	0.4

			0.915±0.009	1.0		
3	0.086 ±0.003	4.0	1.088±0.004	0.3	1.310 ±0.012	0.9
	0.091 ±0.001	1.5	1.104 ±0.006	0.6	1.310 ±0.10	0.8

4. 方法准确度测试（1）——血清样加氟标回收率测试结果汇总

在血清氟 0.04~ 2.0 µg/mL（加 TISAB 液后待测样品溶液 0.02~ 1.0 µg/mL）范围内，各实验室各自对低、中、高氟不同浓度血清样采用本方法进行加氟标回收率考察实验，对同一血清样，实验 2 种不同加标浓度，本底和加标回收实验均为 3 个平行样测定求平均值。批重复测定 3 次。3 个实验室共对 28 个不同血清样（含氟 0.058 ~1.714µg/mL）做加标回收，加入氟标准浓度为 0.1000 ~0.5000 µg/mL，氟的回收率范围为 90.7%~108.1%，总平均为 98.3%。结果汇总见表 10。结果表明，本方法有较好的对血清样加氟标回收率。

表 10 血清样加氟标回收实验结果汇总表

实验室 编号	血清样	本底均值 (µg/mL)	加标浓度 (µg/mL)	实测均值 (µg/mL)	平均回收率 (%)	回收率范围
1	血清-1	0.0884	0.1000	0.1875	99.1	回收率范围： 90.7%~108.1%，总 平均回收率为 97.8%。
			0.4000	0.4670	94.7	
	血清-2	0.0635	0.1000	0.1612	97.7	
			0.4000	0.4681	101.2	
	血清-3	0.0607	0.1000	0.1643	103.6	
			0.4000	0.4598	99.8	
	血清-4	0.8437	0.2000	1.0302	93.3	
			0.4000	1.2448	100.3	
	血清-5	1.0423	0.2000	1.2395	98.6	
			0.4000	1.4394	99.3	
	血清-6	0.8844	0.2000	1.0892	102.4	
			0.4000	1.2528	97.3	
	血清-7	1.5160	0.2000	1.7146	99.3	
			0.4000	1.8975	95.4	
	血清-8	1.5537	0.2000	1.7409	93.6	
			0.4000	1.9268	94.9	
	血清-9	1.4296	0.2000	1.6197	95.1	
			0.4000	1.8100	95.1	
2	血清-1	0.074	0.100	0.177	103.3	回收率范围： 94.0%~105.0%，总 平均回收率： 99.9%。
			0.200	0.268	96.9	
	血清-2	0.098	0.100	0.194	96.5	
			0.200	0.294	98.3	
	血清-3	0.162	0.100	0.264	102.1	
			0.200	0.361	99.6	
	血清-4	0.429	0.200	0.625	98.0	

			0.500	0.925	99.1	
	血清-5	0.912	0.200	1.112	100.1	
			0.500	1.433	104.3	
	血清-6	1.404	0.200	1.597	96.6	
			0.500	1.918	102.8	
	血清-7	1.714	0.100	1.817	102.4	
0.200			1.910	98.0		
3	血清-1	0.0849	0.1000	0.1818	99.5	回收率范围： 92.0%~107.0%，总 平均回收率： 97.3%。
		0.0887	0.4000	0.4880	99.8	
	血清-2	0.0950	0.1000	0.1926	97.6	
		0.0957	0.2000	0.2930	98.7	
	血清-3	0.155	0.100	0.256	100.7	
		0.162	0.200	0.361	99.7	
	血清-4	0.530	0.200	0.717	93.5	
		0.538	0.500	1.024	97.1	
	血清-5	1.320	0.200	1.509	94.7	
		1.318	0.500	1.792	94.7	
	血清-6	1.411	0.200	1.600	94.2	
		1.428	0.500	1.917	97.7	
合计：回收率范围：90.7%~108.1%，总平均回收率：98.3%。						

5. 方法准确度测试（2）——标准物质测试结果汇总

目前我国没有人血清氟标准物质。本方法测定了含氟不同浓度的尿中质量控制样品和水氟标准物质。结果均在给定的标准值的不确定度范围内，且相对偏差均小于 5%。

实验室 1 采用本方法测定了 2 个不同氟浓度水平的尿中氟质量控制样品，每水平重复测定 5 份，尿中氟质量控制样品（批号：20210328）来自广东省职业卫生检测中心。结果均在标准值的不确定度范围内，相对偏差符合要求。见表 11。

实验室 2 采用本方法测定 5 个不同浓度的水氟标准物质，水氟标准物质为国家一级标准物，来自生态环境部标准样品研究所。在每批次测定中各测定 3 个平行样，并进行了 3 批次的重复测定。结果均在标准值的不确定度范围内，见表 12。

表 11 尿中氟质量控制样本测定结果

尿中氟质量控制样品号	测定浓度	尿中氟质量控制样品号	测定浓度
GDOHNYBZ026-1-1	0.936	GDOHNYBZ026-2-1	1.969
GDOHNYBZ026-1-2	0.959	GDOHNYBZ026-2-2	1.953
GDOHNYBZ026-1-3	0.940	GDOHNYBZ026-2-3	1.898
GDOHNYBZ026-1-4	0.910	GDOHNYBZ026-2-4	1.953
GDOHNYBZ026-1-5	0.943	GDOHNYBZ026-2-5	1.937
均值±SD(μg/mL)	0.937±0.018	均值±SD(μg/mL)	1.942±0.027
参考值±不确定度(μg/mL)	0.978±0.098	参考值±不确定度(μg/mL)	1.999±0.200

相对偏差 (%)	-4.23	相对偏差 (%)	-2.91
----------	-------	----------	-------

表 12 水氟标准物的测定结果

水氟标准物 标准号	标准值±不确定度 (μg/mL)	重复 批次	测定结果 均值±SD(μg/mL)	相对偏差 (%)
GSB 07-1194-2000 (批号 201754)	0.768±0.050	1	0.772±0.008	1.0
		2	0.775±0.011	1.4
		3	0.783±0.010	1.3
GSB 07-1194-2000 (批号 201751)	1.410±0.060	1	1.403±0.051	3.6
		2	1.410±0.024	1.7
		3	1.408±0.023	1.6
GSB07-1194-2000 (批号 201744)	1.530±0.060	1	1.522±0.025	1.7
		2	1.538±0.020	1.3
		3	1.524±0.028	1.8
GSB 07-1194-2000 (批号 201743)	0.403±0.024	1	0.403±0.004	1.0
		2	0.405±0.005	1.2
		3	0.408±0.004	1.0
GSB 07-1194-2000 (批号 201739)	0.803±0.034	1	0.802±0.016	2.0
		2	0.799±0.010	1.3
		3	0.800±0.018	2.2

6. 血清样品中氟的稳定性验证结果——血清样品的保存方法验证

本方法对血清的样品采集和保存与 WS/T 212-2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》的样品采集和保存方法相同。WS/T 212-2001 中血清样品的保存方法为：

6 采样

采集空腹肘静脉血 1.5~2 mL, 置于无氟具塞的聚乙烯管中, 采集后立即离心(3 000 r/min, 10 min)取血清测氟。若不能及时分析, 保存冰箱(4℃)中, 一周内完成测定。也可保存于-18℃~-20℃冰盒内 2 周测定。

以本方法对此进行验证。样品稳定性考察实验方法为：取多份新鲜血液样品分离血清样品, 加标制备成高、中、低 3 个浓度水平(每个水平制备 5 份样品)的均匀的混合样品, 分成 2 组, 一组于当天和冷藏(4℃)保存 7 天后测定各血清样品中的氟浓度, 每份样品测定 3 个平行样, 取平均值, 计算浓度变化率[以偏差计算(%), 负变化率为下降, 正变化率为上升]。另一组, 于当天和低温(-18℃~-20℃)保存 14 天后测定各血清样品中的氟浓度, 每份样品测定 3 个平行样, 取平均值, 计算浓度变化率。结果汇总见表 14, 由结果可知, 冷藏(4℃)保存 7 天后样品中氟浓度变化率为:-6.41%~3.29%, 低温(-18℃~-20℃)保存 14 天后样品中氟浓度变化率为:-5.58%~3.06%,

浓度变化率绝对值均 $\leq 10\%$ 。

因此，采集全血，制取血清后，在冷藏（4℃）下可保存至少 7 天，在冷冻（-18℃~-20℃）至少可保存 2 周。

表 14 血清样品中氟的稳定性验证结果

实验室编号	血清样品		初始浓度	保存第 7 天 (4℃)	偏差 (%)	保存第 14 天 (-18℃~-20℃)	偏差 (%)
1	低氟血清样本 (共 5 份)	低浓度-1	0.1053	0.0508	-3.63	0.1011	-4.02
		低浓度-2	0.1015	0.0516	1.71	0.1045	2.92
		低浓度-3	0.0943	0.0456	-3.32	0.0970	2.84
		低浓度-4	0.0681	0.0326	-4.40	0.0650	-4.57
		低浓度-5	0.0648	0.0319	-1.68	0.0658	1.53
	中氟血清样本 (共 5 份)	中浓度-1	0.8560	0.4343	1.47	0.8099	-5.54
		中浓度-2	0.8892	0.4270	-4.05	0.8581	-3.57
		中浓度-3	1.1045	0.5708	3.29	1.1361	2.82
		中浓度-4	0.9341	0.4381	-6.41	0.9592	2.65
		中浓度-5	0.8911	0.4399	-1.27	0.8581	-3.78
	高氟血清样本 (共 5 份)	高浓度-1	1.8265	0.8973	-1.77	1.8722	2.47
		高浓度-2	1.6922	0.8309	-1.81	1.6004	-5.58
		高浓度-3	1.6210	0.7794	-3.91	1.5484	-4.58
		高浓度-4	1.5080	0.7761	2.88	1.5420	2.23
		高浓度-5	1.8690	0.9205	-1.51	1.9271	3.06
	冷藏（4℃）保存 7 天后样品中氟浓度变化率绝对值平均为：2.9%； 冷冻（-18℃~-20℃）保存 14 天后样品中氟浓度变化率绝对值平均为：3.5%；						

7. 实际应用

分别采用标准加入法和标准曲线法同时测定 40 份人血清样，标准加入法测定的样本氟含量范围为 0.028~0.254 $\mu\text{g/mL}$ ，标准曲线法测定的样本氟含量范围为 0.028~0.252 $\mu\text{g/mL}$ 。经配对 t 检验，两种方法测定结果无统计学差异（ $P > 0.05$ ）；标准曲线法（ X ）和标准加入法（ Y ）的结果相关分析为 $Y = 1.0134X - 0.0007$ ，相关系数 $r = 0.9986$ ，两种方法的偏差范围为 -9.7%~6.9% 的绝对值平均值为 4.2%。

标准中方法设置的氟标准曲线范围为 0.02~1.0 $\mu\text{g/mL}$ ，实际可测范围为 0.04~2.0 $\mu\text{g/mL}$ 。应用本方法测定了 40 份不同人血清样，结果得到的血清氟含量范围为 0.028~0.252 $\mu\text{g/mL}$ ，所有浓度值在氟标准曲线范围可测定范围内；苗章发等采用离子选择电极法测定了 482 例正常人血清中的氟含量：0.01~0.51 $\mu\text{g/mL}$ ，也在氟标准曲线范围可测定范围内；因此，标准中标准曲线可测定范围可以满足低氟血清、正常氟血清及高氟血清的氟含量测定需求。

五、 征求意见和采纳情况

现阶段共征求了35家单位和个人的意见，收到意见 条， 条（其中 条为重复意见）意见已经采纳， 条（其中 条为重复意见）意见未采纳。不采纳意见的理由见征求意见汇总表。

六、 重大意见分歧的处理结果和依据

在征求意见和会审过程中，对××指标有重大分歧，最终处理结果 。

依据

七、 实施标准的建议

本标准建议发布后六个月实施。

本标准涉及医疗机构临床检验人员、各级疾控机构人员、高校实验室人员等。

修订后标准与现行标准（WS/T 89-2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》）不一致，建议自本标准实施之日起，WS/T 89-2001《血清中氟化物的测定 离子选择电极法》中的相应内容废止。另外，建议我国的生物样标准物质研制部门尽快研制提供血清氟标准物质或质控样品，以提供在本标准方法应用中进一步的质量控制。