ICS
C

团　　体　　标　　准

T/DGAS XXX—2023

冬虫夏草中有机氟化物的检测

Determination of organic fluoride in *Cordyceps sinensis*

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX －XX－XX 实施

东莞市标准化协会　　发布

前　　言

本标准按照 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。

本标准由东莞标准化协会提出。

本标准由东莞标准化协会归口。

本标准起草单位：东莞市东阳光冬虫夏草研发有限公司、广州市药品检验所、暨南大学、澳门科技大学、中国检验检疫科学研究院、深圳宝安纯中医治疗医院、东莞市食品药品检验所、广东省东莞市质量监督检测中心、珠海横琴东阳光冬虫夏草有限公司、广州丽生贸易有限公司、广东康妃燕贸易有限公司、乳源瑶族自治县东阳光大健康销售有限公司、乳源南岭好山好水冬虫夏草有限公司、宜昌山城水都冬虫夏草有限公司。

本标准主要起草人：钱正明、张伟、曹晖、姜志宏、吴亚君、高昊、王传喜、梅全喜、唐立海、朱寿光、赖毅东、金李玲、傅文强、陈权、李文庆、周妙霞、贺媛。

本标准为首次制定。

冬虫夏草中有机氟化物的检测

1 范围

本标准规定了冬虫夏草中有机氟化物的检测方法。

本标准适用于冬虫夏草中有机氟化物的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

《中华人民共和国药典》2020 年版四部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

冬虫夏草

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体。子座出土、孢子未发散时挖取，除去似纤维状的附着物及杂质，晒干或低温干燥。

3.2

有机氟化物

有机氟化合物是有机化合物分子中与碳原子连接的氢被氟取代的一类有机化合物。

4 原理和方法

有机氟化物经氧瓶燃烧法破坏后被碱性溶液吸收生成无机氟化物，在酸性条件下，无机氟化物与茜素氟蓝、硝酸亚铈结合成蓝紫色螯合物。

5 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 氢氧化钠。

5.1.2 盐酸。

5.1.3 茜素氟蓝。

5.1.4 醋酸钠。

5.1.5 醋酸。

5.1.6　硝酸亚铈。

5.1.7　硝酸。

5.1.8　盐酸羟胺。

5.2　试剂配制

5.2.1　0.01 mol/L 氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠 0.2 g 于烧杯中，加水溶解，冷却至室温后，稀释至 500 mL，摇匀，即得。

5.2.2　稀盐酸：取盐酸 23.4 mL，加水稀释至 100 mL，即得。

5.2.3　1.2%氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠 1.2 g 于烧杯中，加水溶解，冷却至室温后，稀释至 100 mL，摇匀，即得。

5.2.4　茜素氟蓝试液：取茜素氟蓝 19 mg，加 1.2%氢氧化钠溶液 1.25 mL，加水 80 mL 与醋酸钠 25 mg，用稀盐酸调节 pH 值为 5.4，用水稀释至 100 mL，摇匀，即得。

5.2.5　稀醋酸：取冰醋酸 6 mL，加水稀释至 100 mL，摇匀，即得。

5.2.6　12%醋酸钠的稀醋酸溶液：称取醋酸钠 1.2 g，加稀醋酸溶解，并稀释至 10 mL，摇匀，即得。

5.2.7　硝酸亚铈试液：取硝酸亚铈 44 mg，加水 10 mL 溶解，加硝酸 20 μL 与盐酸羟胺 10 mg，加水稀释至 200 mL，摇匀，即得。

6　仪器和设备

6.1　粉碎机：粉碎粒径小于 1 mm。

6.2　分析天平：感量为 0.1 mg。

6.3　pH 计：精度为 0.01。

6.4　石英玻璃燃烧瓶：500 mL。

7　分析步骤

7.1　供试品溶液制备

取冬虫夏草约 2 g，于粉碎机中粉碎，称取样品粉末约 50 mg，照氧瓶燃烧法（《中国药典》2020 年版四部通则 0703）进行有机破坏，用水 20 mL 与 0.01 mol/L 氢氧化钠溶液 6.5 mL 为吸收液，待燃烧完毕后，充分振摇，即得供试品溶液，平行制备 2 份。

7.2　阴性样品溶液制备

取阴性样品，按 7.1 供试品溶液制备步骤操作，制备阴性样品溶液，制备 1 份。

7.3　空白溶液制备

不加供试品，按 7.1 供试品溶液制备步骤操作，制备 1 份。

7.4　测定

取空白溶液 1 份，阴性样品溶液 1 份，供试品溶液 2 份（一份取 2 mL，另一份取 0.2 mL 并用水补至 2 mL），分别置 10 mL 比色管中，加茜素氟蓝试液 0.5 mL，再加 12%醋酸钠的稀醋酸溶液 0.2 mL，用水稀释至 4 mL，加硝酸亚铈试液 0.5 mL，摇匀，进行显色反应。

8 结果判定

空白管、阴性样品管不得显蓝紫色，若显蓝紫色，则调查原因，排查原因后，再重新进行实验操作。

供试品溶液若显蓝紫色，则判定该冬虫夏草中检出了有机氟化物；若未显蓝紫色，则判定该冬虫夏草中未检出有机氟化物。

备注：必要时，可采用气相色谱-质谱联用方法或离子色谱法进行验证，气相色谱-质谱联用方法见附录 A 和附录 B，离子色谱法见附录 C。

附　录　A
（资料性附录）
冬虫夏草中有机氟化物检测的气相色谱-质谱法

A.1　试剂

A.1.1　正庚烷（HPLC）。

A.2　仪器和设备

A.2.1　粉碎机：粉碎粒径小于 1 mm。
A.2.2　分析天平：感量 0.1 mg。
A.2.3　涡旋振荡器。
A.2.4　离心机：转速≥10 000 r/min。
A.2.5　气相色谱-质谱联用仪：具有程序升温功能，配有分流/不分流进样口、电子轰击离子源（EI源）、四级杆质量检测器、数据处理工作站。

A.3　分析步骤

A.3.1　供试品溶液制备

取冬虫夏草约 2 g，于粉碎机中粉碎，称取样品粉末约 50 mg，于 15 mL 离心管中，精密加入正庚烷 5 mL，涡旋振摇 30 s，10 000 r/min 离心 5 min，取上清液经 0.45 μm 有机相滤膜过滤，即得供试品溶液。

A.3.2　阴性样品溶液制备

取阴性样品，按 A.3.1 供试品溶液制备步骤操作，制备阴性样品溶液。

A.3.3　空白溶液制备

不加供试品，按 A.3.1 供试品溶液制备步骤操作，制备空白溶液。

A.3.4　仪器参考条件

A.3.4.1　色谱条件

A.3.4.1.1　色谱柱：DB-624（30 m×0.32 mm×1.8 μm）毛细管气相色谱柱或等效柱。
A.3.4.1.2　升温程序：初始温度 35 ℃，保持 15 min，以 50 ℃/min 升至 250 ℃，保持 5 min。
A.3.4.1.3　载气条件：载气为高纯氦气，流速为 1.0 mL/min。
A.3.4.1.4　进样量：1.0 μL，分流比为 10:1。

A.3.4.1.5　进样口温度：250 ℃。

A.3.4.2　质谱条件

A.3.4.2.1　传输线温度：250 ℃。

A.3.4.2.2　电离方式：电子轰击离子源（EI 源，电子能量 70 eV）。

A.3.4.2.3　离子源温度：230 ℃。

A.3.4.2.4　四级杆温度：150 ℃。

A.3.4.2.5　检测方式：全扫描模式，扫描范围为 30 m/z~1000 m/z。

A.3.5　测定

取空白溶液、阴性样品溶液、供试品溶液各 1 份，注入气相色谱-质谱联用仪中测定。

A.4　结果处理

比较空白溶液、阴性样品溶液和供试品溶液的总离子流色谱图，通过数据库检索等方式对供试品溶液中多出来的色谱峰进行定性分析。

附　录　B
（资料性附录）
冬虫夏草中有机氟化物检测的顶空-气相色谱-质谱法

B.1　仪器和设备

B.1.1　粉碎机：粉碎粒径小于 1 mm。
B.1.2　分析天平：感量 0.1 mg。
B.1.3　气相色谱-质谱联用仪：具有程序升温功能，配有分流/不分流进样口、电子轰击离子源（EI 源）、四级杆质量检测器、数据处理工作站。
B.1.4　顶空进样器。
B.1.5　顶空样品瓶：10 mL。

B.2　分析步骤

B.2.1　供试品的制备

取冬虫夏草约 2 g，于粉碎机中粉碎，称取样品粉末约 50 mg，置于 10 mL 顶空样品瓶中，密封。

B.2.2　阴性样品的制备

取阴性样品，按 B.2.1 供试品的制备步骤操作，制备阴性样品。

B.2.3　空白试样的制备

不加供试品，按 B.2.1 供试品的制备步骤操作，制备空白试样。

B.2.4　仪器参考条件

B.2.4.1　顶空装置条件

B.2.4.1.1　平衡时间：30 min。
B.2.4.1.2　平衡温度：50 ℃。
B.2.4.1.3　进样针温度：70 ℃。

B.2.4.2　色谱条件

B.2.4.2.1　色谱柱：DB-624（30 m×0.32 mm×1.8 μm）毛细管气相色谱柱或等效柱。
B.2.4.2.2　升温程序：初始温度 35 ℃，保持 15 min，以 5 ℃/min 升至 250 ℃，保持 5 min。
B.2.4.2.3　载气条件：载气为高纯氦气，流速为 1.0 mL/min。
B.2.4.2.4　进样量：1 mL，分流进样，分流比为 50:1。

B.2.4.2.5　进样口温度：200 ℃。

B.2.4.3　质谱条件

B.2.4.3.1　传输线温度：250 ℃。

B.2.4.3.2　电离方式：电子轰击离子源（EI 源，电子能量 70 eV）。

B.2.4.3.3　离子源温度：230 ℃。

B.2.4.3.4　四级杆温度：150 ℃。

B.2.4.3.5　检测方式：全扫描模式，扫描范围为 30 m/z~1000 m/z。

B.2.5　测定

取空白试样、阴性样品、供试品各 1 份，注入气相色谱-质谱联用仪中测定。

B.3　结果处理

比较空白试样、阴性样品和供试品的总离子流色谱图，通过数据库检索等方式对供试品中多出来的色谱峰进行定性分析。

附　录　C
（资料性附录）
冬虫夏草中有机氟化物检测的离子色谱法

C.1　试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为优级纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

C.1.1　试剂

C.1.1.1　氢氧化钠。
C.1.1.2　碳酸钠。
C.1.1.3　碳酸氢钠。

C.1.2　试剂配制

C.1.2.1　0.01 mol/L氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠0.2 g于烧杯中，加水溶解，冷却至室温后，稀释至500 mL，摇匀，即得。
C.1.3.2　3.2 mmol/L碳酸钠和1.0 mmol/L碳酸氢钠混合溶液：称取0.339 g碳酸钠和0.084 g碳酸氢钠于1000 mL容量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，摇匀，经0.45 μm水相滤膜过滤，脱气。

C.1.3　标准品

1 000 μg/mL氟离子标准溶液：具有国家认证并授予标准物质证书。

C.1.4　标准溶液配制

5 μg/mL氟离子标准溶液：取1 000 μg/mL氟离子标准溶液500 μL，于100 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

C.2　仪器和设备

C.2.1　粉碎机：粉碎粒径小于1 mm。
C.2.2　分析天平：感量0.1 mg。
C.2.3　石英玻璃燃烧瓶：500 mL。
C.2.4　离子色谱仪：配有电导检测器及阴离子抑制器。

C.3　分析步骤

C.3.1　供试品溶液制备

取冬虫夏草约2 g，于粉碎机中粉碎，称取样品粉末约50 mg，照氧瓶燃烧法（《中国药典》2020年版四部通则0703）进行有机破坏，用水20 mL与0.01 mol/L氢氧化钠溶液6.5 mL为吸收液，待

燃烧完毕后，充分振摇。取吸收液 1 mL，于 20 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，经 0.45 μm 水相滤膜过滤，即得供试品溶液。

C.3.2 阴性样品溶液制备

取阴性样品，按 C.3.1 供试品溶液制备步骤操作，制备阴性样品溶液。

C.3.3 空白溶液制备

不加供试品，按 C.3.1 供试品溶液制备步骤操作，制备空白溶液。

C.3.4 仪器参考条件

C.3.4.1 色谱柱：采用具有季铵基团的聚乙烯醇作为填料的阴离子交换柱（如 A Supp 5，250 mm ×4.0 mm×5 μm）或等效柱，保护柱使用相同填料的阴离子交换柱。

C.3.4.2 淋洗液：3.2 mmol/L 碳酸钠和 1.0 mmol/L 碳酸氢钠混合溶液。

C.3.4.3 流速：0.7 mL/min。

C.3.4.4 进样体积：20 μL。

C.3.4.5 柱温：室温。

C.3.4.6 抑制器：阴离子抑制器。

C.3.4.7 检测器：电导检测器。

C.3.5 测定

取空白溶液、5 μg/mL 氟离子标准溶液、阴性样品溶液、供试品溶液各 1 份，注入离子色谱仪中测定。

C.4 结果处理

根据氟离子的保留时间定性，空白溶液和阴性样品溶液的色谱图在氟离子出峰位置应无干扰峰。供试品溶液色谱图中如存在氟离子，则说明供试品中存在有机氟化物。

参 考 文 献

[1] 《中华人民共和国药典》2020 年版四部 0301 一般鉴别试验：有机氟化物