ICS 13.310
A 92

GA

中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T XXXX-XXXX

法庭科学 植物油脂中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素检验 液相色谱-质谱法

Forensic sciences—Examination methods for capsaicin, dihydrocapsaicin and nonivamide in vegetable oils—LC-MS

（报批稿）

××××-××-××发布　　××××-××-××实施

中华人民共和国公安部 发布

前　言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由全国刑事技术标准化技术委员会理化检验分技术委员会（SAC/TC 179/SC 4）提出并归口。

本标准起草单位：重庆市公安局物证鉴定中心、公安部物证鉴定中心。

本标准主要起草人：张忠、郭浩、罗敬锋、任飞、刘占芳。

法庭科学 植物油脂中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素检验 液相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了法庭科学领域中植物油脂中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的检验方法。

本标准适用于含有辣椒碱成分的植物油脂和掺杂含有辣椒碱成分植物油脂的非正常食用油的鉴别判断，不适用于含有辣椒碱成分的调味油（辣椒油、辣椒麻油等）的鉴别判断。

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，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GA/T 122 毒物分析名词术语

GA/T 242 微量物证的理化检验术语

3 术语和定义

GA/T 122 和 GA/T 242 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

辣椒素类生物碱是引起辣味的成分，其中天然辣椒素和二氢辣椒素是天然植物中辣味的主要来源，合成辣椒素则是用现代工艺、人工合成的辣味来源。因为辣椒素类生物碱具有稳定性好，沸点高等特点，目前回收植物油脂炼制工艺很难完全除去。正常的食用油中不含有辣椒素类生物碱成分，而掺杂有回收植物油脂成分的食用油中则不可避免地含有辣椒素类生物碱成分。因此，辣椒素类生物碱成分可以作为鉴别回收植物油脂的特征目标物。

以甲醇萃取植物油中的辣椒素类生物碱，提取液浓缩后，用液相色谱-串联质谱仪的多反应离子监测（MRM）进行检测。

5 试剂和材料

所需的试剂和材料如下：

a) 甲醇（色谱纯）；
b) 0.1%甲酸溶液（色谱纯）；
c) 一级水；
d) 大豆油；
e) 标准溶液：

1）标准储备液：分别称取一定量的天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素标准品加甲醇溶解，混匀，得到1.0 mg/mL的天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素标准储备液；

2）标准工作液：取天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素标准储备液，用甲醇稀释成1.0 μg/mL的混合标准工作液。

6 仪器和设备

所需的仪器和设备如下：

a) 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾（ESI）离子源的四极杆串联质谱仪；
b) 分析天平：精度为0.0001 g；
c) 高速离心机；
d) 涡旋混合器；
e) 微量移液器：量程5 μL～100 μL, 100 μL～1000 μL；
f) 氮气吹干仪；
g) 超声波振荡器；
h) 离心管。

7 样品提取

采用液-液提取法：取检材样品20 mL，置于50 mL塑料离心管中，加入甲醇10 mL，用超声波振荡器振荡10 min。用高速离心机以5000 r/min离心5 min，保留上清液；重复提取一次，合并两次提取的上清液，用氮气吹干，再用0.5 mL甲醇溶解，作为检材样品提取液，供仪器检测。

8 仪器检测

8.1 液相色谱-串联质谱仪条件

8.1.1 液相色谱条件

以下为参考条件：

a) 色谱柱：C_{18}柱（4.6 mm×150 mm,5 μm），或等效色谱柱；
b) 进样量：20 μL；
c) 流速：0.5 mL/min；
d) 流动相：A：甲醇；B：0.1％甲酸溶液，梯度洗脱，梯度洗脱程序见表1。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A	流动相 B
0.0	20%	80%
3.0	90%	10%
9.0	90%	10%
10.0	20%	80%
20.0	20%	80%

8.1.2 质谱条件

以下为参考条件：

a） 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
b） 电喷雾电压：5200 V；
c） 离子源温度：400 ℃；

d） 雾化气压力：35 Pa；
e） 气帘气压力：20 Pa；
f） 电离方式：正电离；
g） 目标物离子对及质谱参数见表 2。

表 2　目标物离子对及质谱参数

	Q1	Q3	DP V	EP V	CE V	CXP V	Rt min
天然辣椒素	306.4	137.0	42.0	12	20	5	7.69
		169.8		12	14	5	
		182.2		12	14	5	
二氢辣椒素	308.4	137.1	26.8	5	17.7	8	9.77
		171.9		5	15	11	
		184.2		5	20	11	
合成辣椒素	294.0	137.0	20.0	10	20	3	9.33
		170.0		10	14	4	
		141.0		10	18	4	
注：Q1 为母离子；Q3 为子离子；DP 为解簇电压；EP 为入口电压；CE 为碰撞电压；CXP 为碰撞室出口电压；Rt 为保留时间。							

8.2 检测方法

8.2.1 标准曲线的绘制

对标准工作液进行液相色谱-串联质谱分析，测定天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的色谱峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

8.2.2 回收率考察

用空白标准添加的方法考察每种特征目标物在大豆油（作为空白基质）中的回收率。

取大豆油20 mL作为空白样品，按第7章方法提取，得到空白样品提取液，按8.1条件检测。

取大豆油20 mL，置于50 mL塑料离心管中，加入标准工作液，按第7章方法提取，得到添加样品提取液，按8.1条件检测。根据标准曲线计算回收率，回收率试验数据参见附录A。

9 结果分析评价

9.1 天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素定性结果分析评价

按照本方法检测，天然辣椒素的检出限为 0.02 ng/mL，二氢辣椒素和合成辣椒素的检出限为 0.03 ng/mL。

阴性评价：如果空白添加回收率在 60%以下，则阴性结果不可靠，应重新试验；如果空白添加回收率在 60%以上，检材样品提取液中未出现与标准工作液中目标物保留时间相同（偏差在±2.5%之内）的色谱峰，则判定为检材样品中未检出天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素，是否为回收植物油脂还需要借助其他指标进行判别。

阳性评价：如果空白添加回收率在 60%以下，则阳性结果不可靠，应重新试验；如果空白添加回

收率在 60%以上，检材样品提取液中出现与标准工作液中目标物保留时间相同（偏差在±2.5%之内）的色谱峰，且各目标物的离子对相对丰度比与标准工作液中目标物比较，偏差不超过表 3 规定的范围，同时空白样品提取液无干扰，则阳性结果可靠。天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的液相色谱图参见附录 B，一级及二级质谱图参见附录 C。

表 3 离子对相对丰度比的最大允许偏差范围

离子对相对丰度比	＞50%	＞20%～50%	＞10%～20%	≤10%
最大允许偏差范围	±20%	±25%	±30%	±50%

9.2 检验结果判别

凡检材样品中检出天然辣椒素、二氢辣椒素、合成辣椒素总量大于0.4 ng/mL，可判定该样品油存在异常，有掺杂回收油脂的风险；反之则此样品还需要借助其它指标进行判别。

附 录 A
（资料性附录）
空白食用油中添加天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素回收率试验数据

空白食用油中添加天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素回收率试验数据见表 A.1。

表 A.1 空白食用油中添加天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素回收率试验数据（n=3）

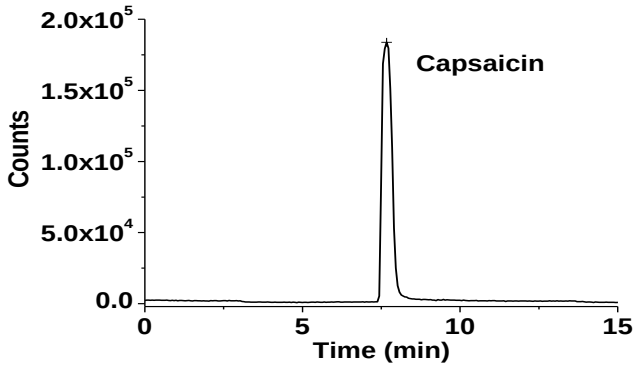
添加标准品种类	添加标准品浓度 ng/mL	回收率和精密度	
		平均回收率(%)	RSD(%)
天然辣椒素	50	82.1	2.3
	100	83.2	2.5
	500	81.6	2.6
二氢辣椒素	50	85.3	3.2
	100	86.3	3.3
	500	82.3	2.6
合成辣椒素	50	75.3	3.1
	100	76.1	2.3
	500	82.3	3.6

附 录 B
（资料性附录）
天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的液相色谱图

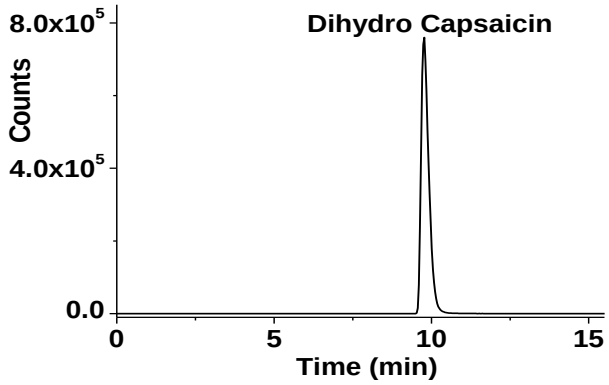
天然辣椒素合成辣椒素的液相色谱图见图 B.1。

二氢辣椒素的液相色谱图见图 B.2。

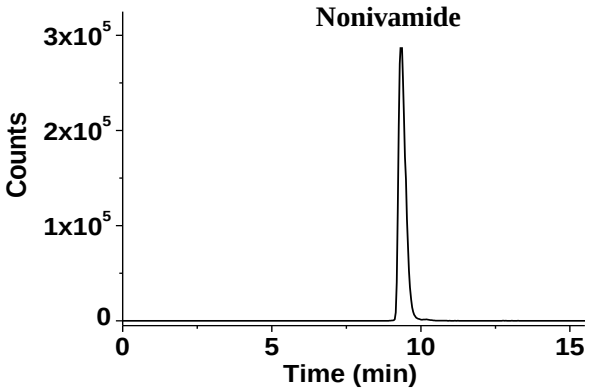
合成辣椒素的液相色谱图见图B.3。



B.1 天然辣椒素的液相色谱图



B.2 二氢辣椒素的液相色谱图



B.3 合成辣椒素的液相色谱图

附 录 C

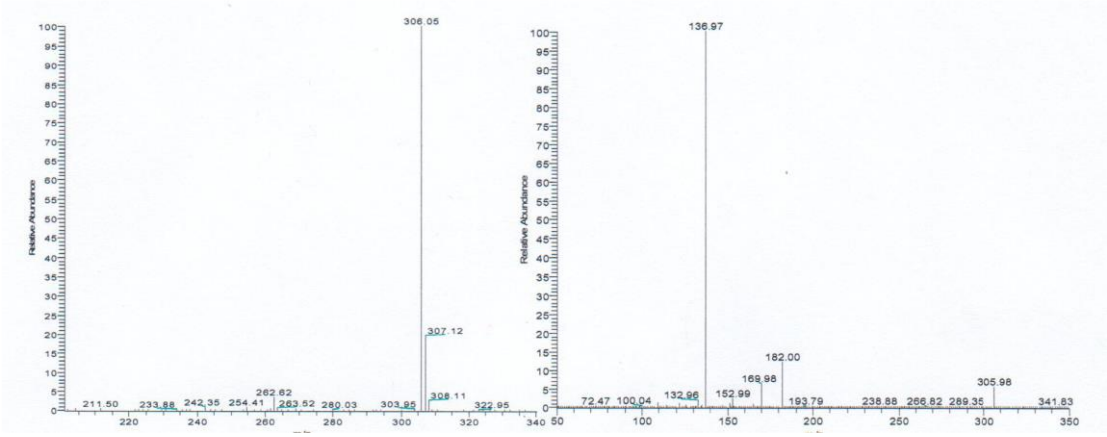
（资料性附录）

天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的一级及二级质谱图

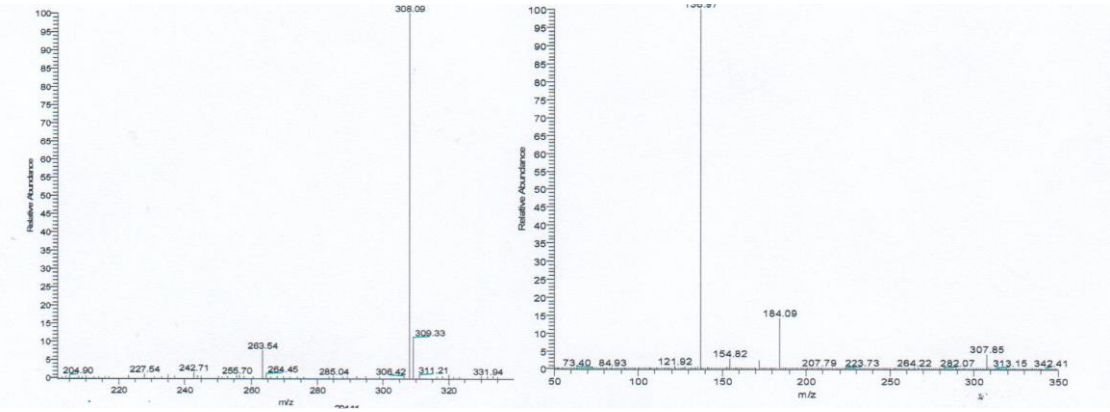
天然辣椒素的一级及二级质谱图见图 C.1。

二氢辣椒素的一级及二级质谱图见图 C.2。

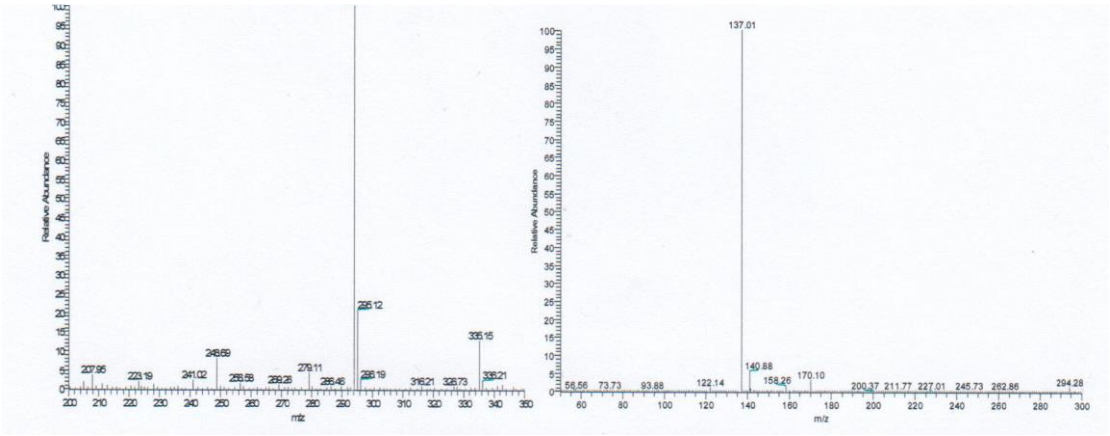
合成辣椒素的一级及二级质谱图见图 C.3。



图C.1 天然辣椒素的一级及二级质谱图



图C.2 二氢辣椒素的一级及二级质谱图



图C.3 合成辣椒素的一级及二级质谱图