

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残 留量的测定 高效液相色谱法

Cationic surface active agents-Determination of acrylamide residuals in
polyquaternary ammonium salt-High performance liquid chromatography

(送审稿)

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

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。

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专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国表面活性剂和洗涤用品标准化技术委员会（SAC/TC272）归口。

本文件起草单位：***。

本文件主要起草人：***。

阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了聚季铵盐-7、聚季铵盐-22、聚季铵盐-33、聚季铵盐-37、聚季铵盐-39、聚季铵盐-47、聚季铵盐-53等具有丙烯酰胺风险的聚季铵盐产品中丙烯酰胺的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于聚季铵盐-7、聚季铵盐-22、聚季铵盐-33、聚季铵盐-37、聚季铵盐-39、聚季铵盐-47、聚季铵盐-53等具有丙烯酰胺风险的聚季铵盐产品中丙烯酰胺的测定。

本文件中丙烯酰胺的检出限为0.5 mg/kg，定量限为1.5 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中丙烯酰胺经水分散、亚铁氰化钾和乙酸锌沉淀、离心后，采用高效液相色谱仪检测，以保留时间和紫外吸收光谱图定性，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 甲醇，色谱纯。

5.3 亚铁氰化钾： $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ ，分析纯。

5.4 乙酸锌： $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ ，分析纯。

5.5 亚铁氰化钾溶液（92 g/L）：称取 92 g 亚铁氰化钾（5.3），加入水（5.1）充分溶解混匀，并用水（5.1）稀释至 1 000 mL，混合均匀。

5.6 乙酸锌溶液（183 g/L）：称取 183 g 乙酸锌（5.4），加入水（5.1）充分溶解混匀，并用水（5.1）稀释至 1 000 mL，混合均匀。

5.7 标准品：丙烯酰胺标准品的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和化学结构式见附录 A 表 A.1，纯度不小于 98 %。

5.8 标准储备液：准确称取丙烯酰胺标准品（5.7）100 mg（称准至 0.001 g）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.2）溶解并稀释至刻度，即得质量浓度为 10 mg/mL 的标准储备液。于 2 °C ~ 8 °C 保存，可保存 6 个月。

5.9 标准中间液：准确移取 0.5 mL 标准储备液（5.8）于 100 mL 容量瓶中，用水（5.1）稀释至刻度，即得质量浓度为 50 µg/mL 的标准中间液。于 2 °C ~ 8 °C 保存。

5.10 滤膜：孔径 0.22 µm，材质为尼龙 66。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：配二极管阵列检测器（DAD）。

6.2 电子天平：感量 0.001 g 和 0.000 1 g。

6.3 漩涡振荡器。

6.4 离心机：转速不低于 4 000 r/min。

6.5 容量瓶：10 mL、100 mL、1000 mL。

6.6 移液管或移液器：1 mL、10 mL。

7 试验步骤

7.1 试样处理

称取 1.0 g（称准至 0.001 g）试样，置于 50 mL 刻度离心管中，加入 9 mL 水（5.1），振荡 30 min 溶解样品，加入 2 mL 亚铁氰化钾溶液（5.5），立即混合均匀，再加入 2 mL 乙酸锌溶液（5.6），立即混合均匀，加水至 15 mL，于 4 000 r/min 离心 5 min，经 0.22 µm 微孔滤膜（5.10）过滤后待测。

7.2 测定

7.2.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

- a) 色谱柱规格：C₁₈色谱柱，5 µm，250 mm × 4.6 mm，或性能相当者；
- b) 流动相：10%甲醇（5.2）和90%水（5.1），等度洗脱；
- c) 流动相流速：0.5 mL/min；
- d) 柱温：30 °C；
- e) 进样量：20 µL；
- f) 检测波长：210 nm。

7.3 标准工作曲线绘制

分别吸取适量标准中间液（5.9）0.020 mL、0.040 mL、0.100 mL、0.200 mL 和 0.400 mL 和 1.00 mL，用水（5.1）稀释至 10 mL，得到系列标准工作溶液（现配现用），其中丙烯酰胺的质量浓度分别为 0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 和 5.00 µg/mL。将系列标准工作溶液按高效液相色谱参考工作条件（7.2.1）进行测定，以丙烯酰胺色谱峰的峰面积为纵坐标，与其对应的溶液浓度为横坐标作图，绘制标准工作曲线。丙烯酰胺标准溶液色谱图参见附录 B 图 B.1。

7.4 试样测定

按高效液相色谱条件测定试样溶液（7.1），如果检出目标物质的色谱峰的保留时间与标准品一致，且紫外吸收光谱图与标准品一致，可认定样品中存在目标物质，记录色谱峰的峰面积，以外标法定量。试样溶液中被测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超出线性范围的试样溶液可用水溶液（5.1）适当稀释后进行测定。需要时，可采用高效液相色谱串联质谱法进行确证实验，参见附录 C。

7.5 空白试验

除不称取试样外，均按7.1~7.2步骤进行测定。

8 结果计算

试样中丙烯酰胺含量按公式（1）计算：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000} \times k \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——试样中丙烯酰胺的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c_i ——从标准曲线得到的试样溶液中丙烯酰胺的质量浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

c_0 ——从标准曲线得到的空白样品溶液中丙烯酰胺的质量浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V ——定容的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

k ——超线性范围的稀释倍数。

计算结果保留三位有效数字。

9 回收率

在添加浓度为1.5 mg/kg ~ 15.0 mg/kg范围内，回收率在80 % ~ 110 %之间。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 15 %。

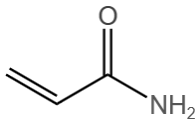
附 录 A

(资料性)

丙烯酸酰胺标准品及内标信息

丙烯酸酰胺标准品的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式见表A.1。

表 A.1 丙烯酸酰胺标准品及内标信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
1	丙烯酸酰胺	Acrylamide	79-06-1	C ₃ H ₅ NO	71.08	

附 录 B
(资料性)

丙烯酰胺标准溶液的色谱图

丙烯酰胺标准溶液的色谱图见图 B.1。

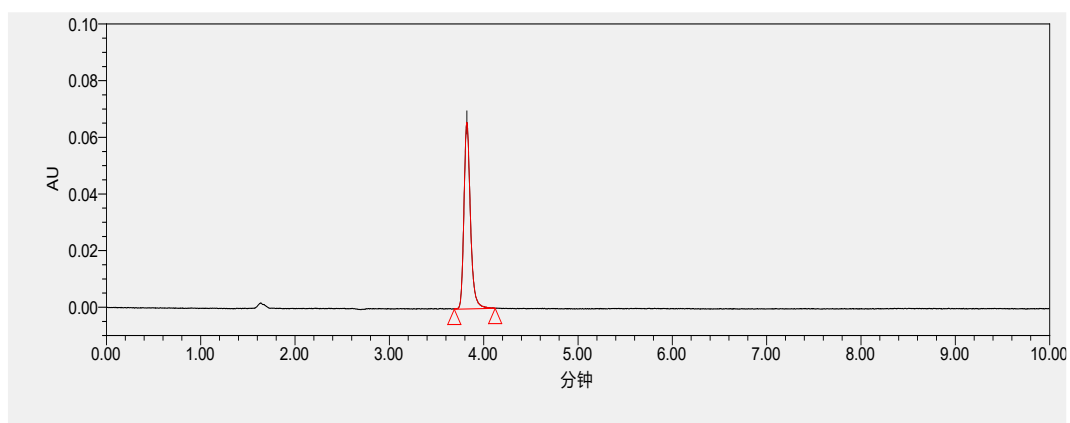


图 B.1 丙烯酰胺标准溶液的色谱图

附录 C

(资料性)

确证实验

C.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

- a) 色谱柱规格：C₁₈色谱柱，1.8 μm，100 mm × 2.1 mm，或性能相当者；
- b) 流动相：乙腈和0.1%甲酸溶液，梯度洗脱程序见表C.1；
- c) 流动相流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：30℃；
- e) 进样量：5 μL。

表 C.1 流动相梯度洗脱条件

时间 (min)	乙腈 (%)	0.1%甲酸溶液 (%)
0	5	95
2	5	95
3	80	20
4.5	80	20
4.6	5	95
6	5	95

C.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源 (ESI)；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 喷雾电压：5 500 V；
- d) 离子源温度 (TEM)：400℃；
- e) 雾化气压力 (GS1)：50 psi；
- f) 辅助气压力 (GS2)：50 psi；
- g) 气帘气压力 (CUR)：40 psi；
- h) 碰撞气压力 (CAD)：9 psi；
- i) 检测方式：多反应监测 (MRM)；
- j) 去簇电压：85 V；
- k) 化合物母离子、子离子及碰撞能量参见表C.2。

表 C.2 丙烯酰胺的质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
丙烯酰胺	71.9	55.0, 44.1	16, 25

C.3 试样处理

根据高效液相色谱法测试的含量，称取适量待确证样品，置于 50 mL 刻度离心管中，加入 20 mL 水，涡旋分散均匀，加入 15 mL 乙腈，混合均匀后，于 4 000 r/min 离心 5 min，取上清液适当稀释后，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后待测。

C.4 试样测定

进行试样测定时，将试样适当稀释，按液相色谱和质谱参考条件（C.1 和 C.2）测定试样溶液和标准溶液。如果试样中待测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所选择的离子均出现，而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较，相对偏差不超过表 C.3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。丙烯酰胺标准溶液提取离子色谱图见图 C.1。

表 C.3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 k (%)	$k \geq 50$	$50 > k \geq 20$	$20 > k \geq 10$	$k \leq 10$
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

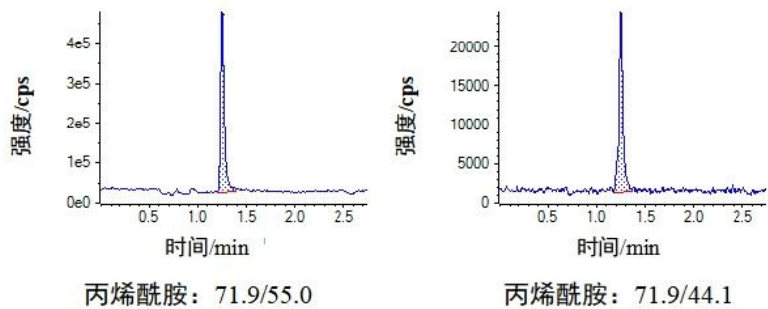


图 C.1 丙烯酰胺提取离子色谱图

《阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残留量的测定 高效液相色谱法》编制说明（送审稿）

一、工作简况

1. 任务来源

本标准根据国标委发[2025]23号《国家标准化管理委员会关于下达 2025 年第四批推荐性国家标准计划及 相关标准外文版计划的通知》立项，项目名称《阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残留量的测定 高效液相色谱法》，项目编号为 20251257-T-607。主要起草单位：苏州世谱检测技术有限公司、中国日用化学研究院有限公司等。项目周期18个月，计划应完成时间2026年10月31日。

2. 制定背景

丙烯酰胺是一种低分子量有机化合物，具有神经和生殖毒性，长期接触会导致细胞 DNA 损伤，人体出现嗜睡、情绪和记忆改变、幻觉和震颤等症状，丙烯酰胺还具有潜在致癌性，被国际癌症研究机构列为 2A 类致癌物质。我国化妆品卫生规范及欧盟化妆品规程中均明确规定丙烯酰胺为化妆品禁用组分。《化妆品安全技术规范》（2015 年版）规定，在含聚丙烯酰胺类物质的非冲洗的护体化妆品中丙烯酰胺单体最大残留量 0.1 mg/kg，用于其他产品，丙烯酰胺单体最大残留量 0.5 mg/kg。由于化妆品中残留丙烯酰胺单体的潜在危害性，近年来各级政府化妆品监督抽查和企业开展的产品安全风险评估均将其作为重要监测项目。

聚季铵盐是一种强阳离子高分子聚合物，具有良好的配伍性，可作为护理产品中的柔软剂、抗静电剂、乳化剂、调理剂，是化妆品常用原料。目前已知的聚季铵盐原料中，有多种合成工艺涉及丙烯酰胺。丙烯酰胺单体在合成聚丙烯酰胺时容易有单体残留，这也是化妆品中丙烯酰胺污染的最大来源。但不同工艺下的聚季铵盐丙烯酰胺污染风险不同，如聚季铵盐-7，是二甲基二丙烯基氯化铵和丙烯酰胺的共聚物，两个聚合单体在交联聚合中的竞聚率会因为聚合方式、引发温度以及引发剂的影响而有不同的值，而聚合程度不同，会产生产品结构稳定性、丙烯酰胺单体残留差异。因此，为避免造成化妆品成品中丙烯酰胺的含量超过限值，聚季铵盐在作为化妆品原料进行使用时，需对其中的丙烯酰胺残留单体进行监测。

但丙烯酰胺被包裹在聚季铵盐中，现有方法存在不能直接分离检测大分子聚合

物，所以存在聚季铵盐中丙烯酰胺难以提取、检出限高等问题，为了满足聚季铵盐产品中丙烯酰胺的监控，需要建立相关检测方法。

3. 主要工作过程

起草阶段：2025 年 5 月，根据国标委发[2025]23 号下达的国家标准制修订计划任务的通知，项目承担单位组建了标准编制工作小组，查询、收集和认真研究国内外标准及相关资料，并结合实验室的条件、聚季铵盐基质特性和方法技术特点，初步设计实验方案。进行实验研究工作，优化确定仪器检测条件，优化确定产品的提取、净化条件，考察和论证方法的灵敏度、准确性、线性范围和适用性，并组织单位进行方法验证；于 2025 年 11 月 13 日完成并提交标准征求意见稿和编制说明。

征求意见阶段：经标委会秘书处同意，于 2025 年 12 月初发送到行业有关单位广泛征求意见，并于 2025 年 12 月 10 号在 SAC/TC272 委员会年会上公开征求意见。根据反馈意见，起草单位进一步完善测试方法后，提出本稿。

二、标准编制原则和主要内容

2.1. 标准编制原则

本标准的编制原则是既参考国外的最新方法技术，又考虑国内现有检测机构的检测能力和实际情况，确保方法标准的科学性、先进性、可行性和可操作性。遵循 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》和 GB/T 20001.4-2015 《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》的编写规则，并参考了国家食品药品监督管理总局发布的《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》。

2.2. 标准物质信息

丙烯酰胺标准物质信息可见表 1。

表 1 标准物质信息

中文名称	INCI/英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
丙烯酰胺	Acrylamide	79-06-1	C ₃ H ₅ NO	71.08	

2.3. 仪器参数的选择和优化

2.3.1 主要技术路线

称取 1.0 g（精确至 0.001 g）试样，置于 50 mL 刻度离心管中，加入 9 mL 水，振荡 30 min 溶解样品，加入 2 mL 亚铁氰化钾溶液，立即混合均匀，再加入 2 mL 乙酸锌溶液，立即混合均匀，加水至 15 mL，于 4 000 r/min 离心 5 min，经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

2.3.2 高效液相色谱参数的选择与优化

2.3.2.1 丙烯酰胺的紫外吸收光谱

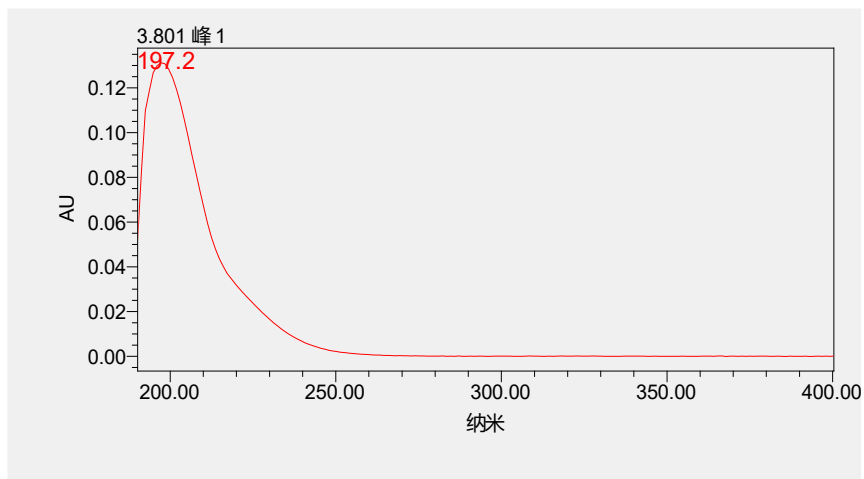


图1 丙烯酰胺标准溶液的光谱图

选用配备二极管阵列检测器的高效液相色谱仪（HPLC）进行测定，紫外光谱图用以目标物的定性。配制 10 mg/L 的丙烯酰胺标准溶液，HPLC 检测后获得其紫外光谱图如图 1 所示。丙烯酰胺在 190-240 nm 之间存在紫外吸收，最大吸收波长为 197.2 nm。考虑丙烯酰胺测定时的基线背景和定量限，比较 200 nm、205 nm 和 210 nm 的色谱图，见图 2~图 7，0.1 $\mu\text{g/mL}$ 丙烯酰胺在三个波长处都有明显出峰，205 nm 处信噪比最高，但实际样品谱图显示 210 nm 处基线更平稳，为减少干扰，最终选择 210 nm 作为检测波长。

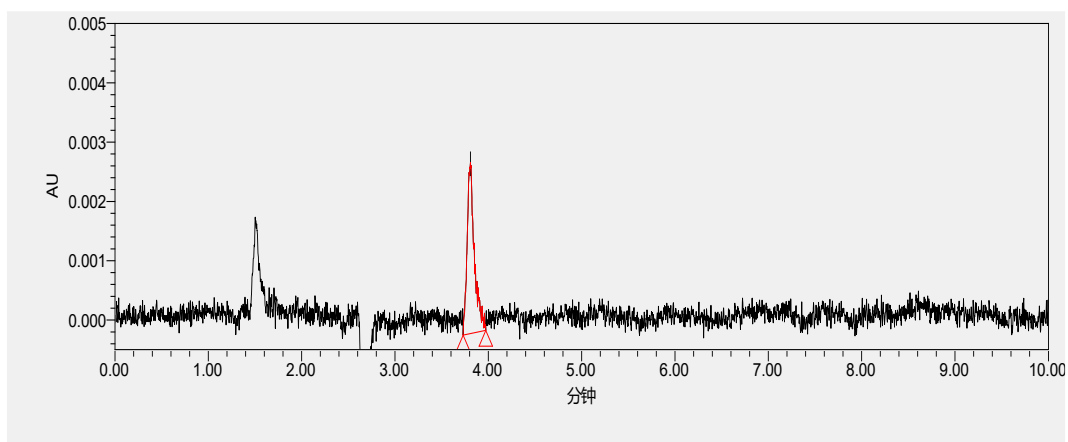


图 2 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液（200 nm）的色谱图

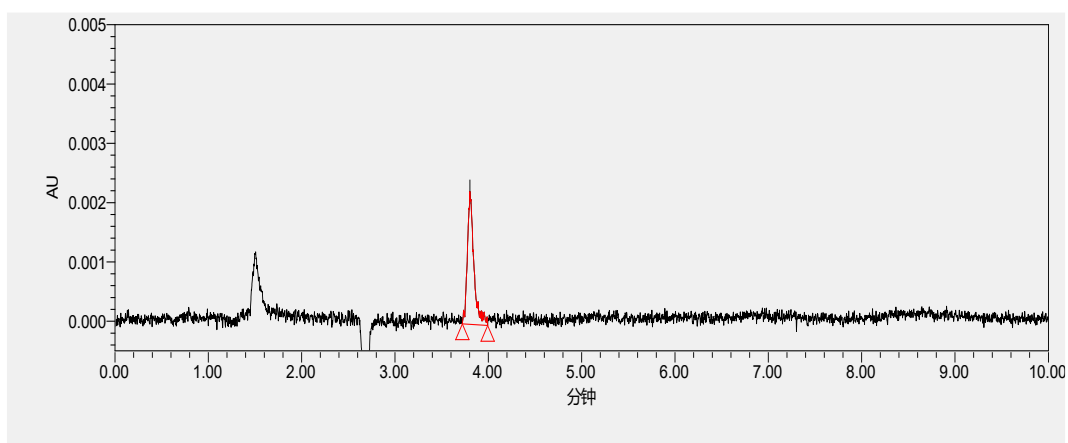


图 3 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液（205 nm）的色谱图

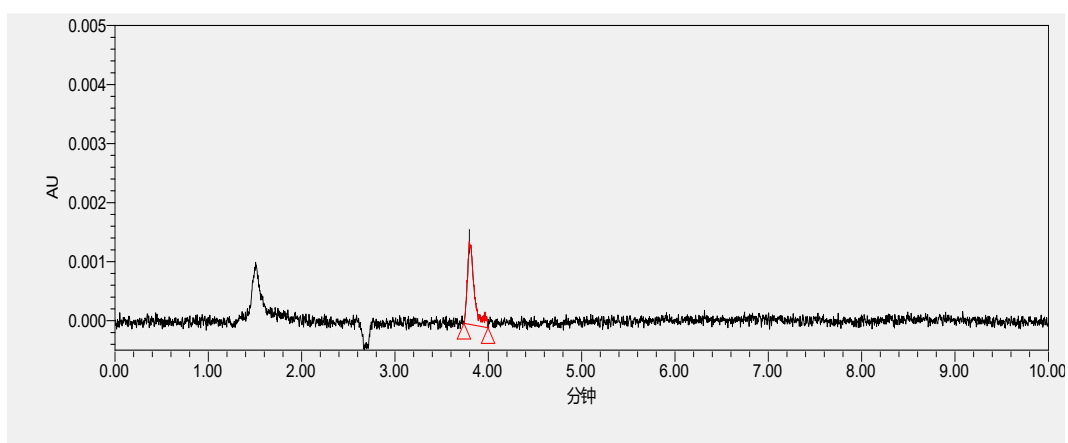


图 4 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液（210 nm）的色谱图

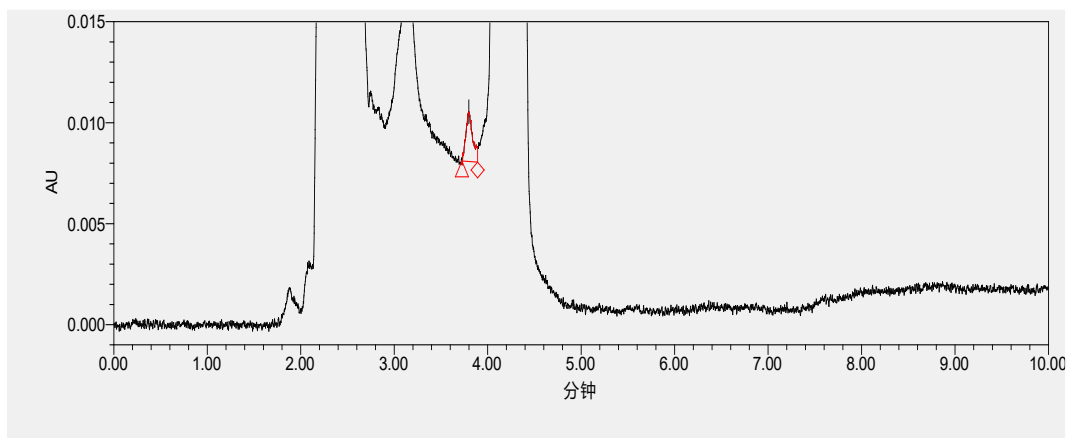


图 5 聚季铵盐 37 中丙烯酰胺（200 nm）的色谱图

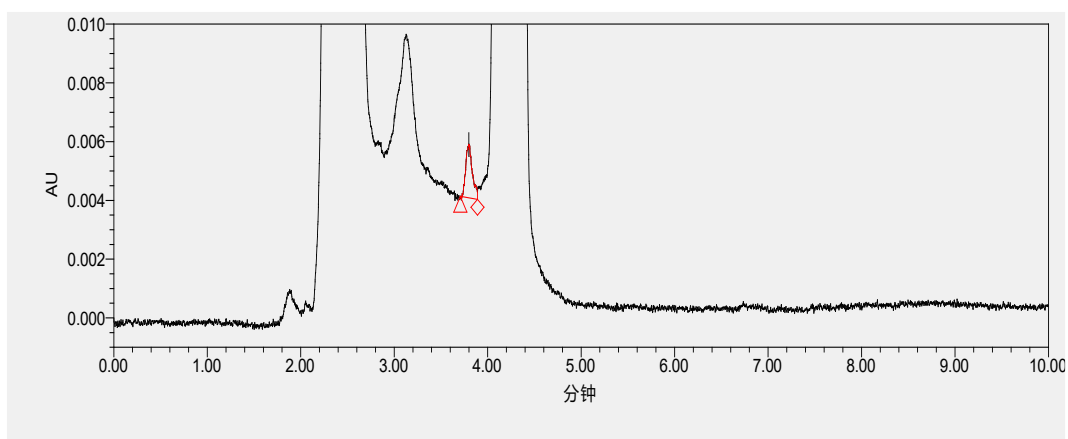


图 6 聚季铵盐 37 中丙烯酰胺（205 nm）的色谱图

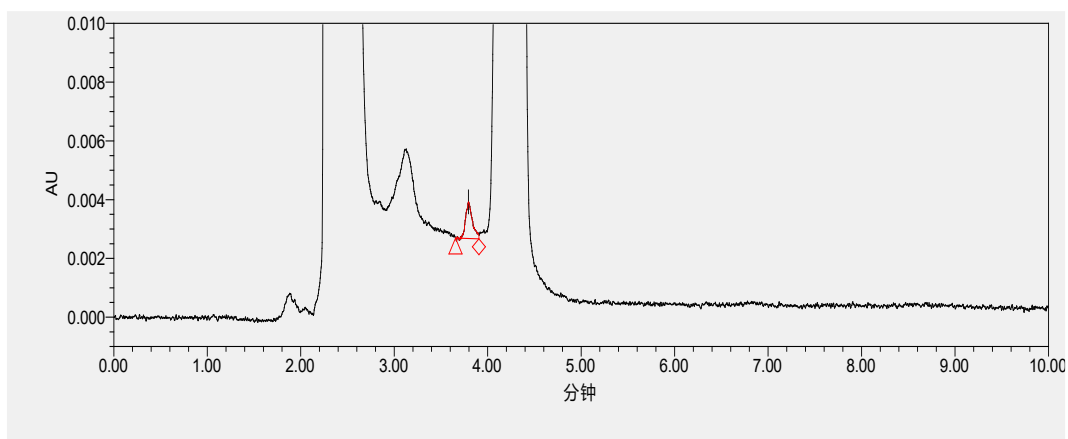


图 7 聚季铵盐 37 中丙烯酰胺（210 nm）的色谱图

2.3.2.2 色谱柱的选择

试验以甲醇-水为流动相,比较了 C_{18} 色谱柱 Ultimate AQ C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), JADE-PAK[®] AF C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 以及 ChromCore HILIC-Amide

(150 mm × 4.6 mm, 3 μm) 和 JADE-PAK® NH₂ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 四根色谱柱对丙烯酰胺的分离效果。在测定标准品时，由于丙烯酰胺本身的结构及提取溶剂为 100% 水，在 C₁₈ 色谱柱峰型更好，在 HILIC 和 NH₂ 柱上峰型差。结果显示，JADE-PAK® AF C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 上丙烯酰胺的峰型最为尖锐对称（见图 8~11）。因此选择 JADE-PAK® AF C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱作为本实验的色谱柱。

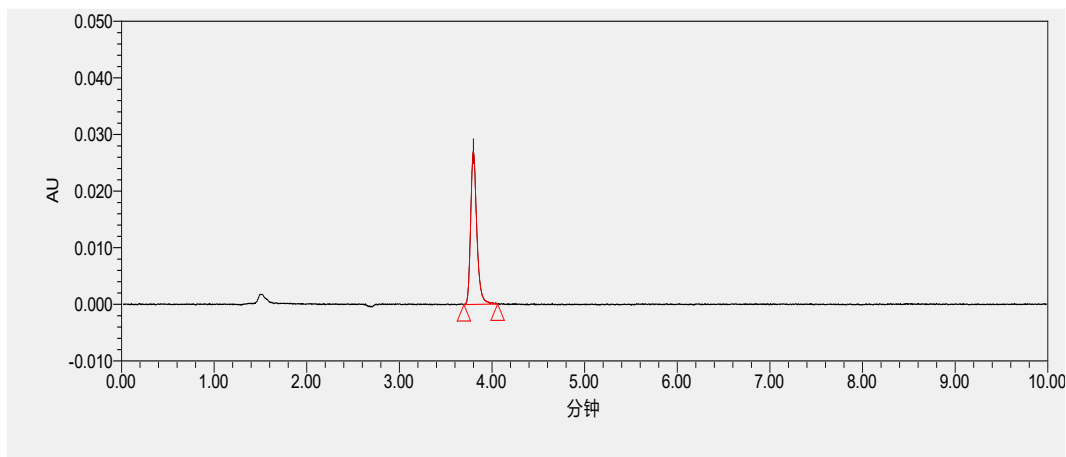


图 8 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液在 JADE-PAK® AF C₁₈ 色谱柱分离效果

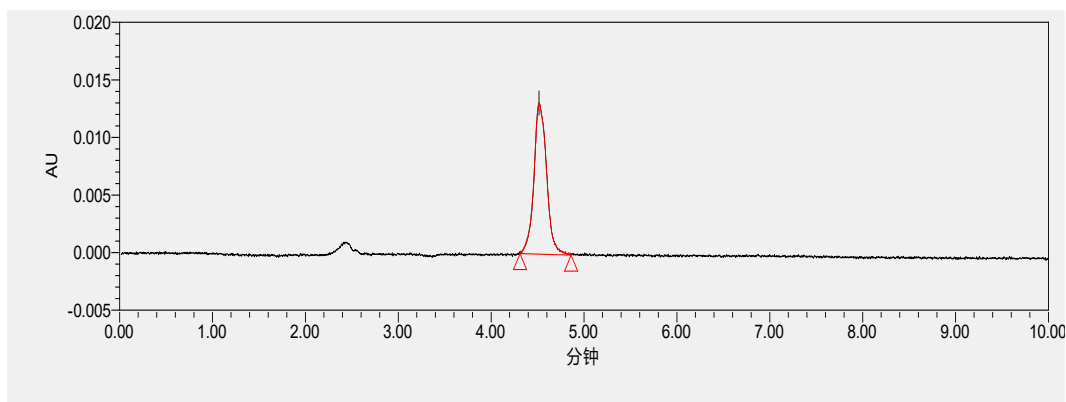


图 9 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液在 Ultimate AQ C₁₈ 色谱柱分离效果

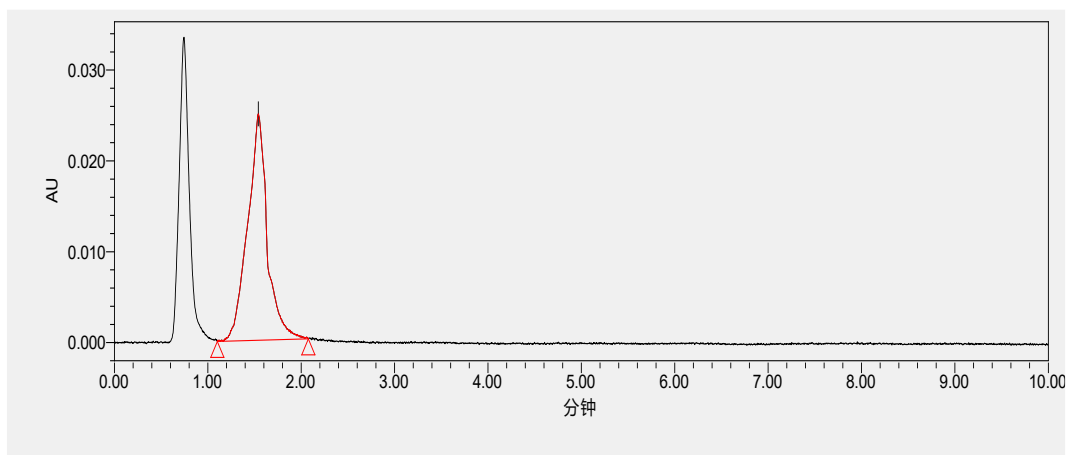


图 10 0.1 µg/mL 丙烯酰胺标准溶液在 HILIC 色谱柱分离效果

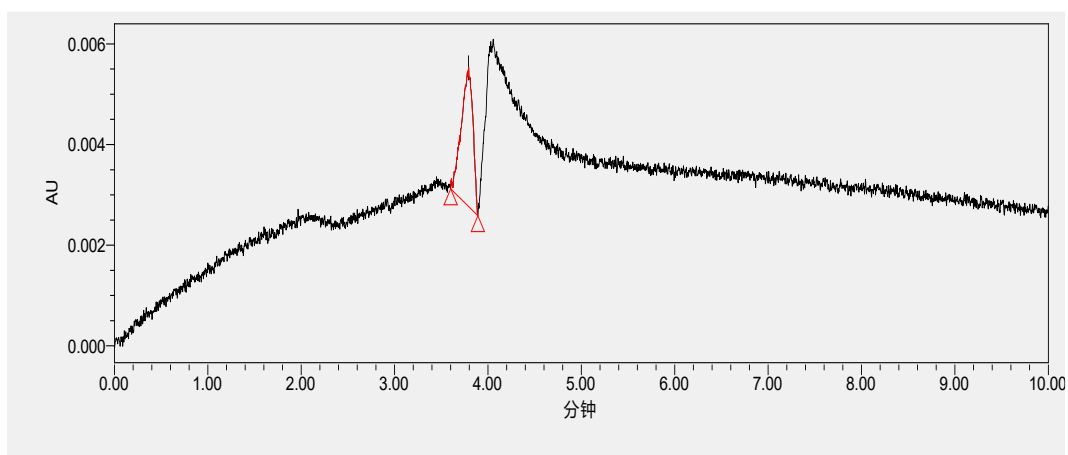


图 11 0.1 µg/mL 丙烯酰胺标准溶液在 NH₂ 色谱柱分离效果

2.3.2.3 流动相组成的选择

选择 JADE-PAK® AF C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm)，考察流动相对丙烯酰胺的分离效果。由于丙烯酰胺的吸收波长较短，使用铵盐和甲酸进行测定时，基线背景过高（见图 12~13），导致 0.1 µg/mL 丙烯酰胺的色谱图色谱峰不明显。试验继续比较了甲醇-水溶液、甲醇-10 mmol/L 乙酸铵/水溶液和甲醇-10 mmol/L 乙酸铵/水（含 0.1%乙酸）溶液作为流动相系统时，丙烯酰胺的色谱行为。三种流动相系统下，丙烯酰胺的峰形尖锐对称，保留行为也相近，但甲醇水流动相系统的基线更平缓（见图 14~16）。因此最终选择甲醇-水溶液作为本实验流动相。为使基线平稳，采用等度进行洗脱。本实验优化后，选择 10%甲醇-水作为流动相。

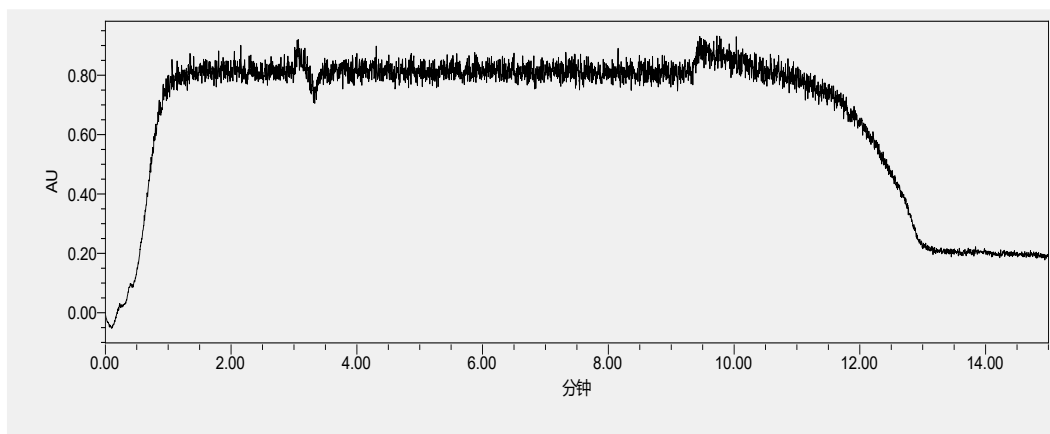


图 12 甲醇-5mmol/L 甲酸铵/水（含 0.1%甲酸）为流动相时，0.1 $\mu\text{g/mL}$ 丙烯酰胺的色谱图

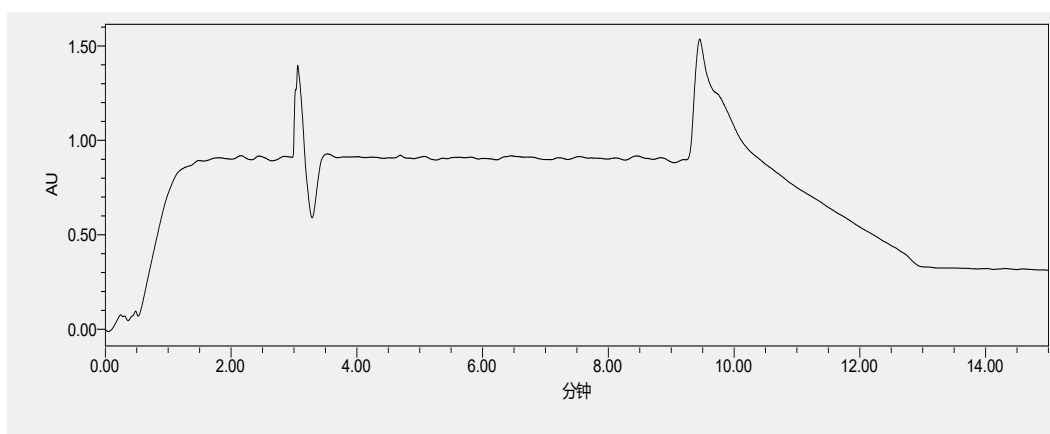


图 13 甲醇-0.1%甲酸/水为流动相时，0.1 $\mu\text{g/mL}$ 丙烯酰胺的色谱图

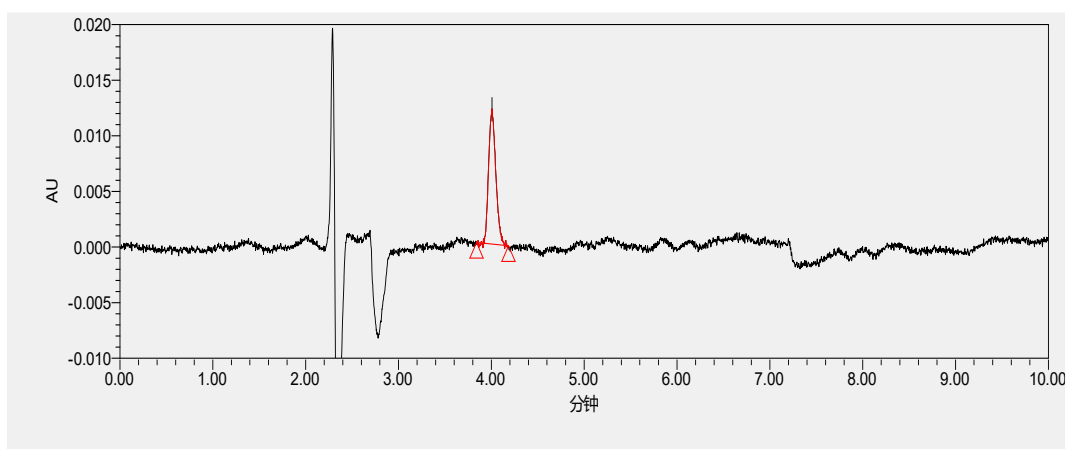


图 14 甲醇-10 mmol/L 乙酸铵/水为流动相时，1 $\mu\text{g/mL}$ 丙烯酰胺的色谱图

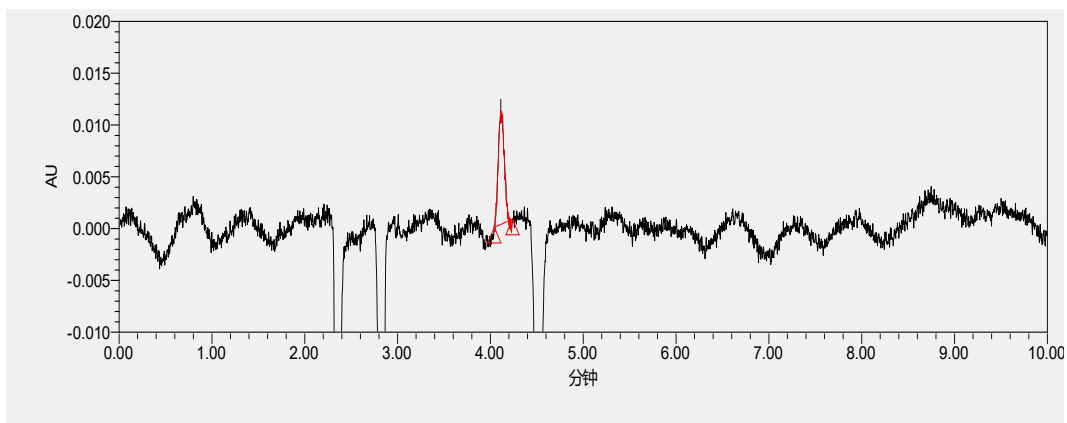


图 15 甲醇-10 mmol/L 乙酸铵/水（含 0.1%乙酸）为流动相时，1 $\mu\text{g/mL}$ 丙烯酰胺的色谱图

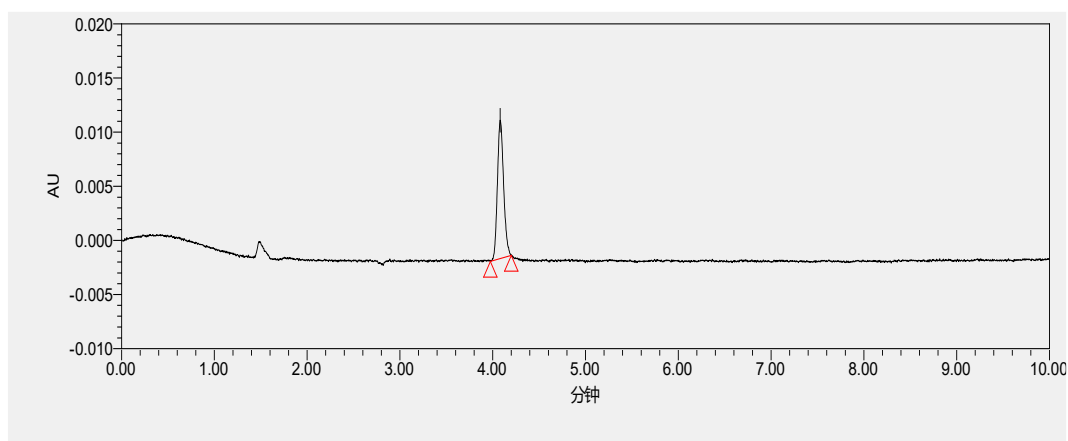


图 16 甲醇-水为流动相时，1 $\mu\text{g/mL}$ 的色谱图

2.3.2.4 最终确定的高效液相色谱参数

- a) 色谱柱：JADE-PAK[®] AF C18（250 mm \times 4.6 mm，5 μm ），或性能相当者；
- b) 流动相：A：甲醇，B：水；
- c) 流速：0.5 mL/min；
- d) 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
- e) 波长：210 nm；
- f) 进样量：20 μL ；
- g) 梯度洗脱程序：等度洗脱，10%甲醇-90%水，10 min。

2.3.3 前处理条件的选择与优化

由于聚季铵盐是一种强阳离子高分子聚合物，丙烯酰胺被包裹其中。要测定聚合物中的丙烯酰胺，需先将包裹的聚合物溶解或分散，再将聚合物沉淀。

2.3.3.1 分散溶剂的选择

试验比较了水、乙腈、甲醇、乙醇、50%乙腈和 50%甲醇作为分散溶剂对聚季铵盐的分散效果。图 17 显示了以聚季铵盐 37 为例（聚季铵盐 37 为半固体状，较难分散），上述溶剂的分散效果。聚季铵盐 37 在水中完全分散，在有机溶剂中，离心管底部可见未溶解物，显示皆有部分聚合物未分散。使用乙腈和乙醇作为分散剂时，聚季铵盐会团缩，无法分散，使用甲醇时，会生成膨胀絮状物。使用 50%乙腈和 50%甲醇进行分散时，聚季铵盐可分散，但溶液较为浑浊。由于聚季铵盐是表面活性剂，溶解于水中，因此选择水进行分散。

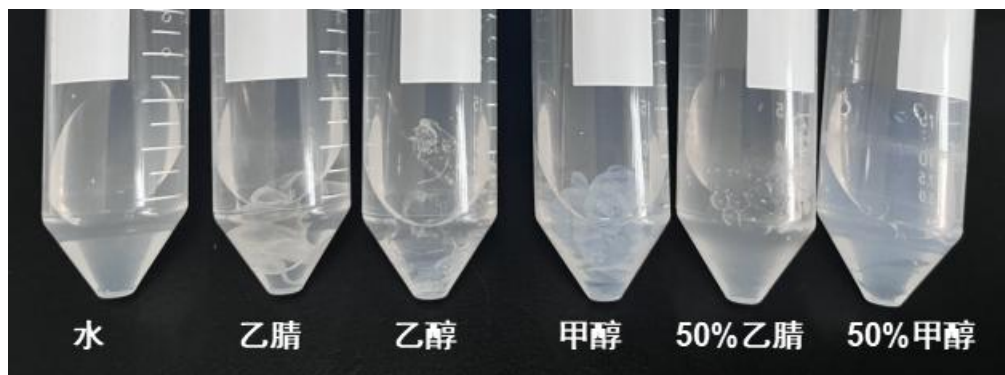


图 17 聚季铵盐 37 在不同溶剂的分散效果

本实验继续考察不同体积的水对聚季铵盐分散效果。聚季铵盐 7、聚季铵盐 22、聚季铵盐 33、聚季铵盐 39 为液状，聚季铵盐 37、聚季铵盐 47、聚季铵盐 53 为半固状。液状聚季铵盐较容易溶解，半固状聚季铵盐 37 和 53 最难分散。称取 1 g 聚季铵盐进行考察，在加入 9 mL 水时，所有聚季铵盐皆能分散。因此前处理时，选择称取 1 g 样品，加入 9 mL 水进行分散溶解。

2.3.3.2 沉淀溶剂的选择

聚季铵盐在分散后，丙烯酰胺暴露在分散溶剂中，此时溶液为粘稠状物质，无法过膜测定，需将先聚合物去除，因此选择的溶剂需要在提取丙烯酰胺的同时将聚合物沉淀。聚季铵盐作为阳离子聚合物，与部分蛋白具有相似性质。亚铁氰化钾和乙酸锌是一组经典的蛋白沉淀剂，应用广泛。本实验发现，不同聚季铵盐在加入亚铁氰化钾和乙酸锌溶液，再混合、离心后，能形成明显沉淀，且上清液可顺利过膜测定，实验结果见图 18。进一步优化沉淀溶剂的体积，发现在加入 2 mL 亚铁氰化钾溶液（92 g/L）和 2 mL 乙酸锌（183 g/L）溶液后，所有聚季铵盐上清皆可可通过 0.22 μ L 滤膜再进行测定。

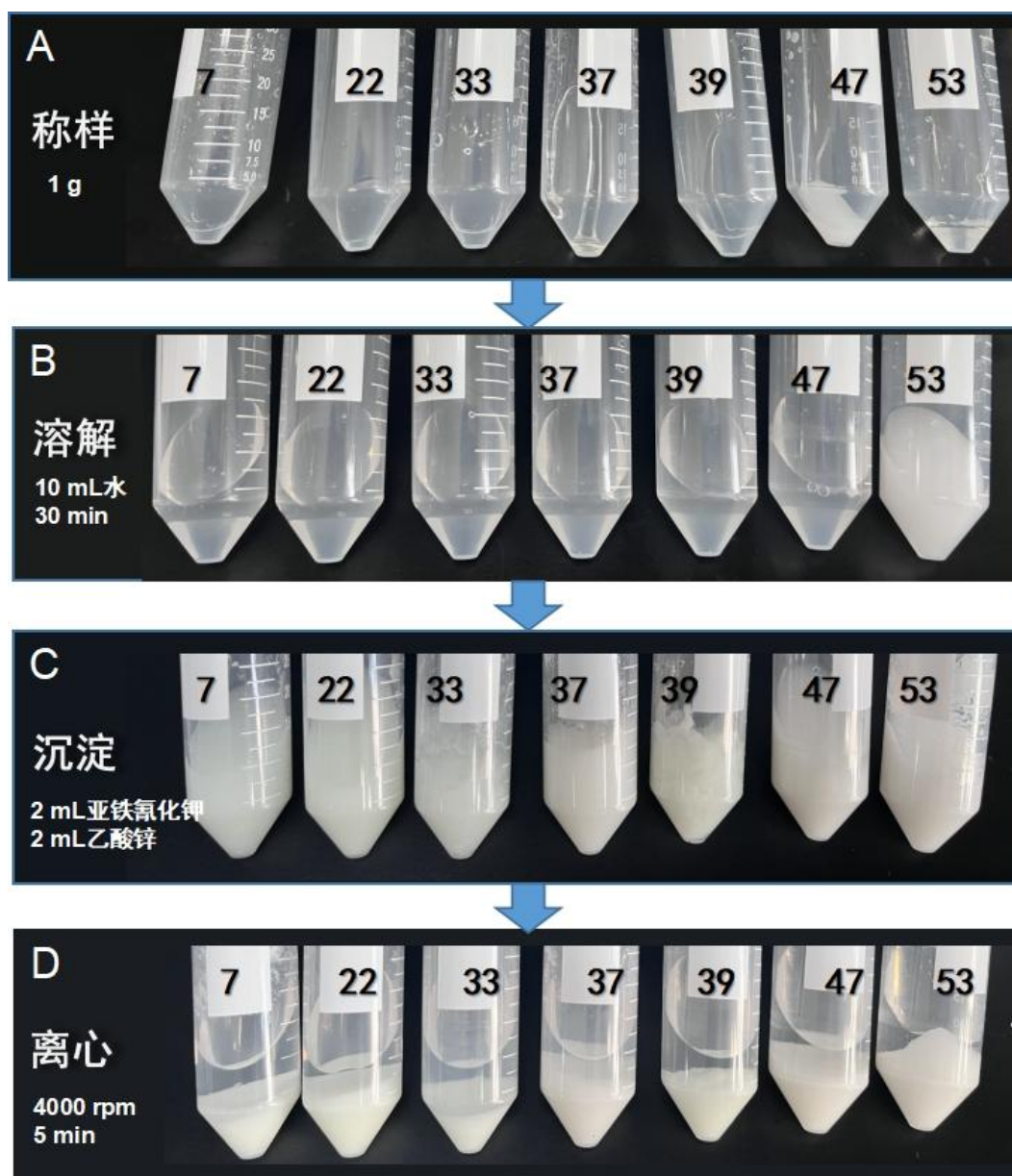


图 18 不同聚季铵盐的沉淀效果

2.3.4 最终确定的样品前处理条件

称取 1.0 g (精确至 0.001 g) 试样, 置于 50 mL 刻度离心管中, 加入 9 mL 水, 振荡 30 min 溶解样品, 加入 2 mL 亚铁氰化钾溶液, 立即混合均匀, 再加入 2 mL 乙酸锌溶液, 立即混合均匀, 加水至 15 mL, 于 4 000 r/min 离心 5 min, 经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

2.3.5 液质联用阳性确证方法

由于聚季铵盐各不相同, 而液相色谱在定性方面存在不足, 为了避免出现误判,

建立了丙烯酰胺的液相色谱-质谱/质谱确证方法。必要时可以用于阳性样品或是疑似阳性样品的确证，保证检测结果的准确性。由于液相色谱法前处理中采用了乙酸锌-亚铁氰化钾沉淀方法，样品处理溶液无法直接采用液相色谱-质谱/质谱仪测试，需重新进行样品前处理。

经优化，液相色谱分离条件和质谱参数及样品前处理如下：

（a）液相色谱参考工作条件如下：

色谱柱：C₁₈柱，1.8 μm，100 mm×2.1 mm（内径）；

流动相：A为乙腈，B为0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱程序：0 min～2 min，5% A；2 min～3 min，5%～80% A；3 min～4.5 min，80% A；4.5 min～4.6 min，80%～5% A；4.6 min～6 min，5% A；

流速：0.3 mL/min；

柱温：30 °C；

进样量：5 μL。

（b）质谱参考工作条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正离子扫描；

喷雾电压（IS）：5000 V；

离子源温度（TEM）：400°C；

雾化气压力（GS1）：50 psi；

辅助气压力（GS2）：50 psi；

气帘气压力（CUR）：40 psi；

碰撞气压力（CAD）：9 psi；

检测方式：多反应监测模式（MRM），丙烯酰胺的母离子、子离子、去簇电压和碰撞能量，见表2；提取离子色谱图见图19。

表 2 丙烯酰胺的质谱 MRM 模式优化参数

化合物	母离子（m/z）	子离子（m/z）	去簇电压（V）	碰撞能量（eV）
丙烯酰胺	71.9	55.0, 44.1	85	16, 25

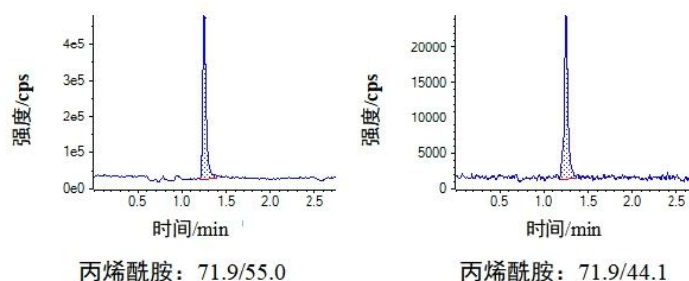


图 19 丙烯酰胺提取离子色谱图

(b) 样品前处理

根据高效液相色谱法测试的含量，称取适量待确证样品，置于 50 mL 刻度离心管中，加入 20 mL 水，涡旋分散均匀，加入 15 mL 乙腈，混合均匀后，于 4 000 r/min 离心 5 min，取上清液适当稀释后，经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后待测。

2.3.6 标准溶液稳定性

将配置好的 10 mg/mL 的单标标准贮备液，在 4℃条件下放置 6 个月，每隔 1 个月取出标液，稀释为 2.0 μ g/mL 的测试液，采用相同的设备和色谱条件进行测定，观察出峰峰面积变化，以此评价标准溶液稳定性，测试结果见表 3。结果表明在 6 个月内，丙烯酰胺的峰面积变化的相对标准偏差为 1.3%，相对极差为 3.7%。考虑到不同时间检测时，配置标准溶液浓度的误差，相对极差皆未超过 5%，表明目标物标准储备液在 6 个月内是稳定的。

表 3 丙烯酰胺放置不同时间的峰面积

化合物 (2 μ g/mL)	峰面积									相对标准偏差 (%)	相对极差 (%)
	0 天	15 天	1 个月	2 个月	3 个月	4 个月	5 个月	6 个月			
丙烯酰胺	147433	150186	146578	145099	149263	147775	146067	150608	1.3	3.7	

2.3.6 线性关系、检出限和定量限

使用水配制浓度为 0.1 μ g/mL、0.2 μ g/mL、0.5 μ g/mL、1.0 μ g/mL、2.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL 的丙烯酰胺标准工作溶液，经 HPLC 测定，以峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标，进行线性回归，制得标准工作曲线(y 为峰面积, x 为浓度, μ g/mL)；选择空白样品，定量添加混合标准工作溶液，按照试样前处理方法和仪器条件进行

测定，以信噪比 S/N=3 确定方法检出限，以信噪比 S/N=10 确定方法定量限。最终方法检出限为 0.5 mg/kg，方法定量限为 1.5 mg/kg。标准曲线相关结果见表 4 和图 20 所示，标准溶液、检出限和定量限加标样品的色谱图见图 21~图 27。

表 4 丙烯酰胺的线性关系、检出限和定量限

化合物 (μg/mL)	峰面积						线性方程	相关系数 (R)
	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0	5.0		
丙烯酰胺	7116	13986	32379	63713	124965	315947	Y=6.29e+04X +7.24e+02	0.999975

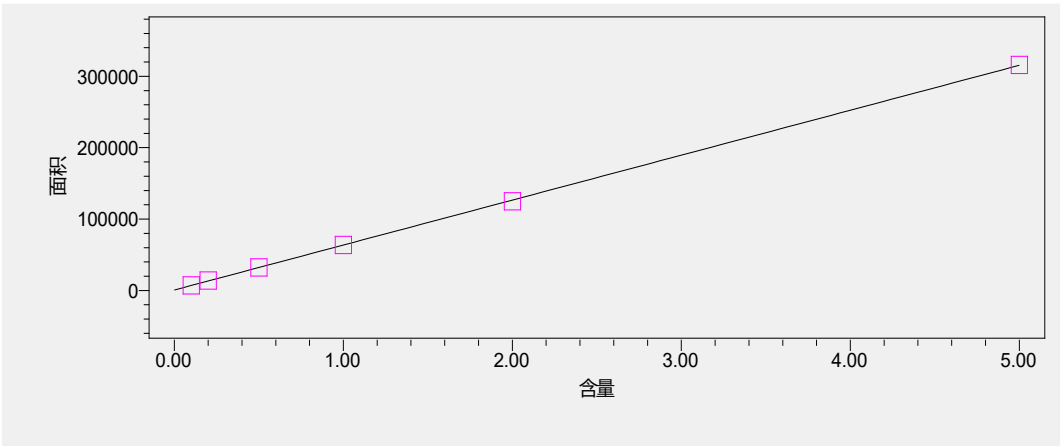


图 20 丙烯酰胺的标准曲线图

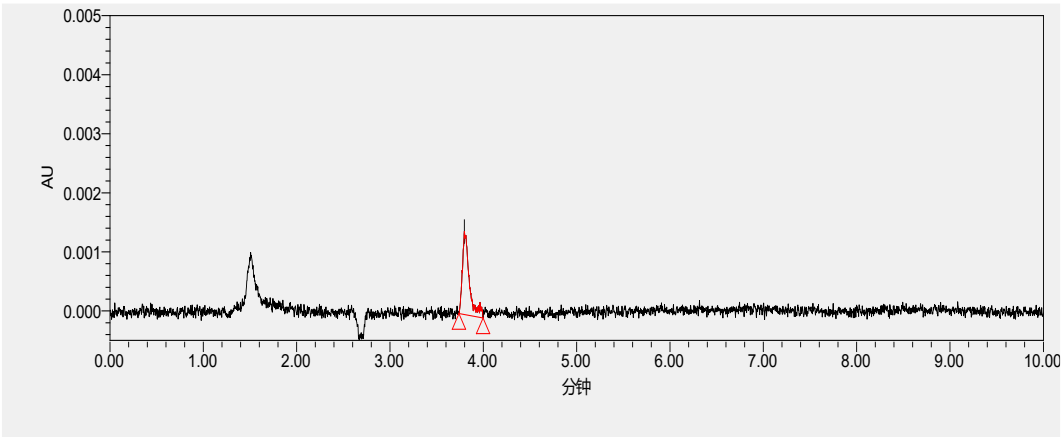


图 21 0.1 μg/mL 丙烯酰胺标准溶液的色谱图

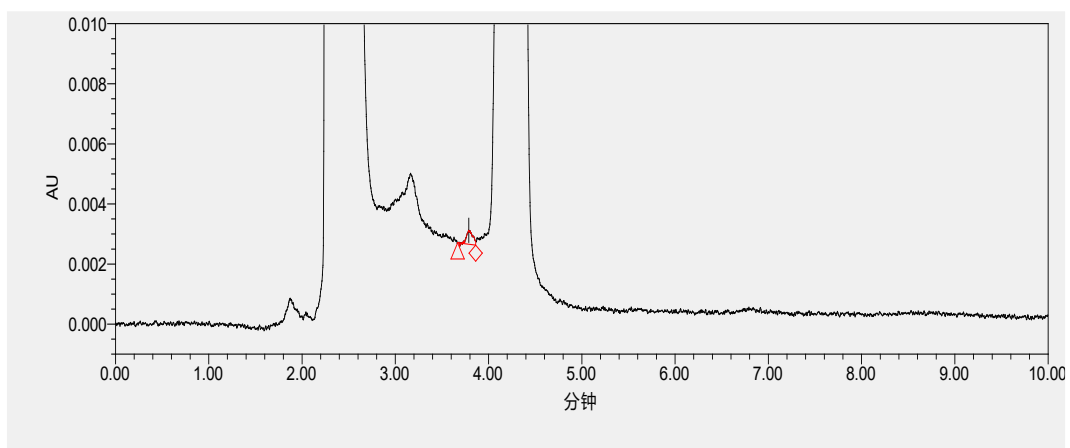


图 22 聚季铵盐 22 丙烯酰胺检出限加标的色谱图

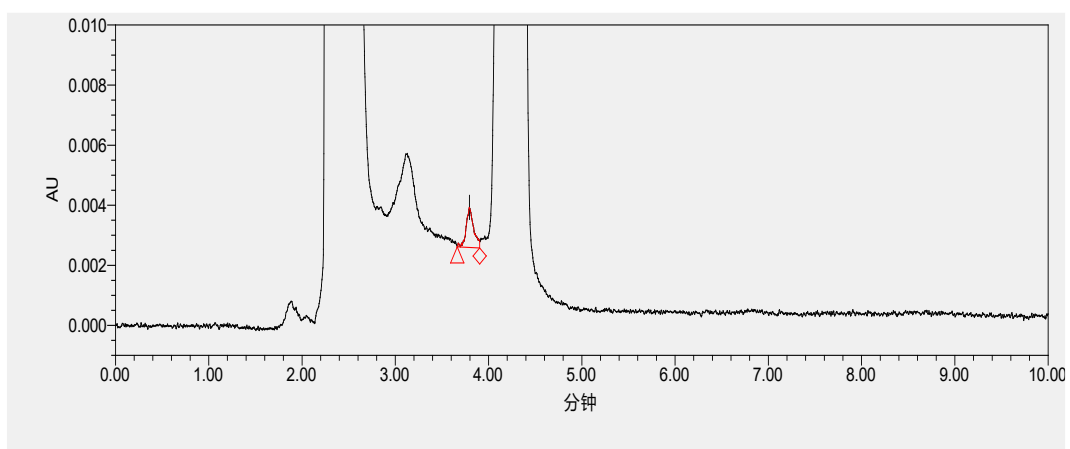


图 23 聚季铵盐 22 丙烯酰胺定量限加标的色谱图

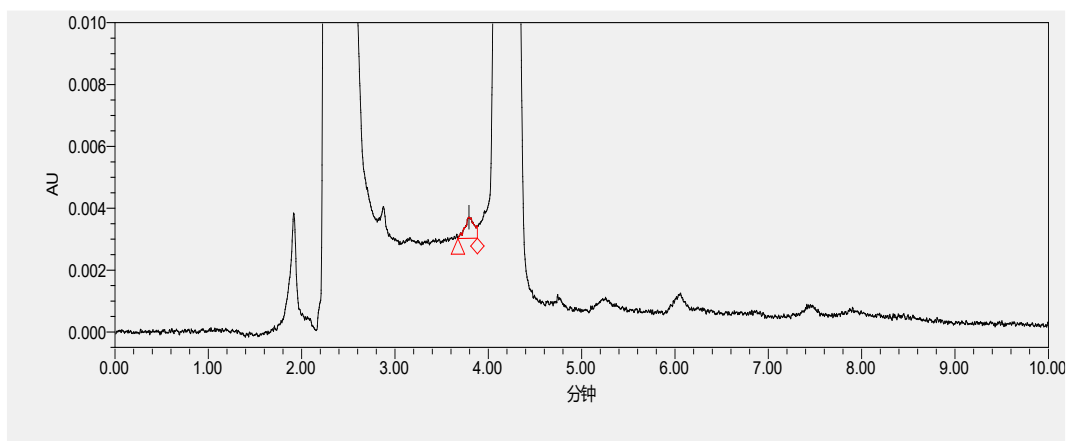


图 24 聚季铵盐 47 丙烯酰胺检出限加标的色谱图

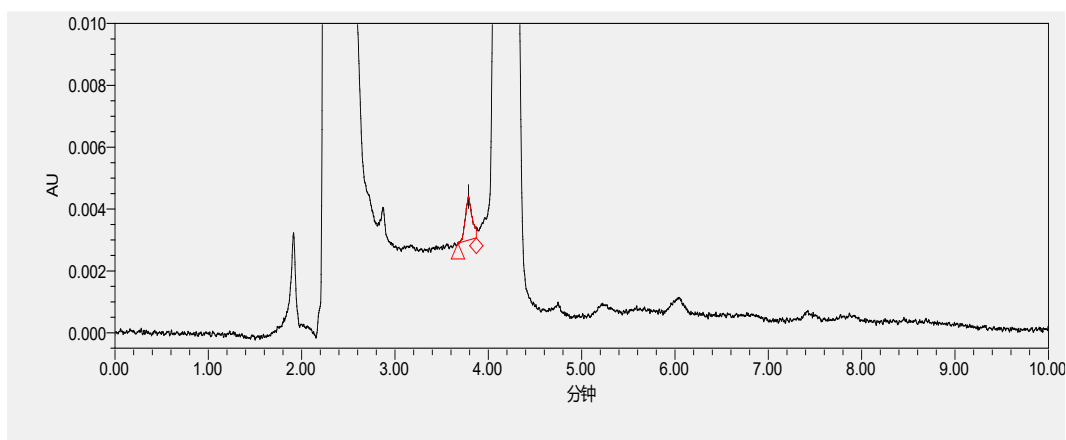


图 25 聚季铵盐 47 丙烯酰胺定量限加标的色谱图

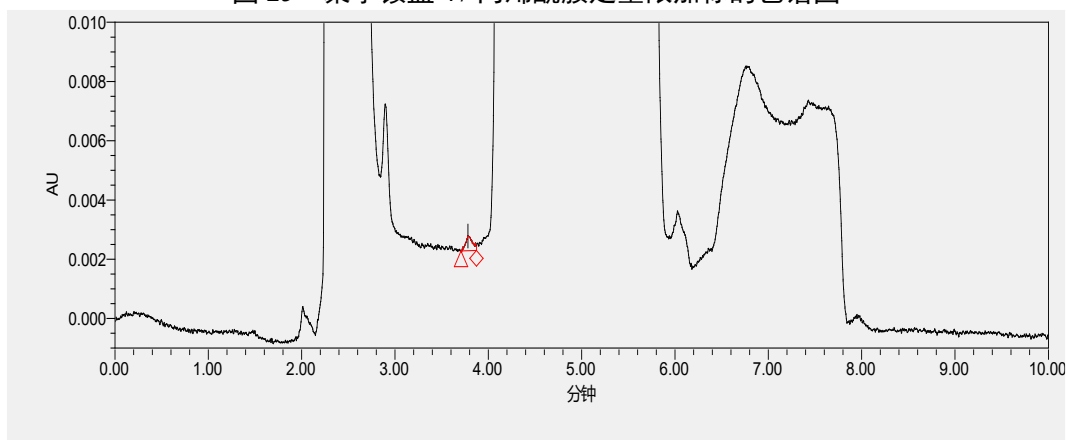


图 26 聚季铵盐 53 丙烯酰胺检出限加标的色谱图

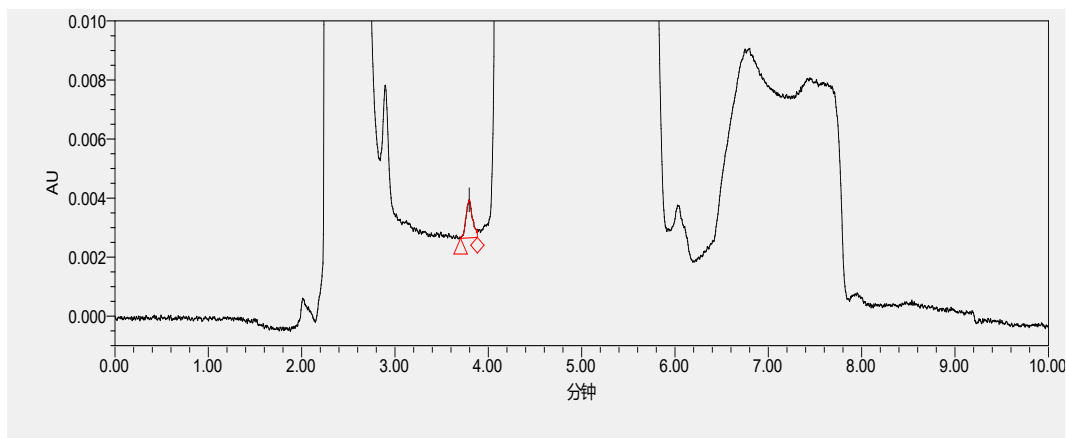


图 27 聚季铵盐 53 丙烯酰胺定量限加标的色谱图

2.3.7 回收率与精密度

分别选取液体、半固体形态的阴性聚季铵盐 22、聚季铵盐 47 和聚季铵盐 53，按本方法进行 3 个添加水平（1 倍方法定量限、2 倍方法定量限、10 倍方法定量限，即 1.5 mg/kg、3.0 mg/kg 和 15.0 mg/kg）回收试验，并选取阳性样聚季铵盐 39 进行

3 个添加水平（低、中、高，即 20 mg/kg、40 mg/kg 和 60 mg/kg）回收试验，平行测定 6 次，计算回收率和精密度。回收率和相对标准偏差（RSD， $n = 6$ ）见表 5。可见，在添加浓度范围内，丙烯酰胺化合物加标平均回收率在 82.9%~100.2% 之间，相对标准偏差（RSD， $n = 6$ ）在 0.4%~4.2% 之间；具有良好的回收率和精密度，能够满足日常检测定量分析的要求。

表 5 丙烯酰胺的回收率和精密度（ $n=6$ ）

基质	添加量 (mg/kg)	回收率 (%)						平均值 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
聚季铵盐 22	1.5	80.5	81.9	83.8	83.1	80.7	87.3	82.9	2.8
	3.0	92.6	95.5	90.6	89.6	93.6	87.5	91.6	2.9
	15.0	91.6	95.9	97.5	96.3	92.9	93.1	94.6	2.2
聚季铵盐 47	1.5	80.8	90.3	81.8	85.7	85.6	84.5	84.8	3.6
	3.0	86.9	93.2	90.8	92.9	95.8	89.3	91.5	3.2
	15.0	94.1	91.5	95.5	96.3	93.8	91.5	93.8	1.9
聚季铵盐 53	1.5	89.6	82.2	81.7	88.4	82.5	80.2	84.1	4.2
	3.0	88.3	90.4	87.4	92.3	91.6	94.6	90.8	2.7
	15.0	92.7	96.1	96.3	93.6	90.5	90.4	93.3	2.5
聚季铵盐 39	20.0	103.1	100.5	98.2	103.6	98.3	97.2	100.2	2.5
	40.0	98.7	98.8	99.7	99.4	99.5	98.7	99.1	0.4
	60.0	98.1	102.1	99.8	98.6	99.1	98.2	99.3	1.4

2.3.8 方法稳定性

2.3.8.1 日内稳定性

分别选取液体、半固体形态的阴性聚季铵盐 22、聚季铵盐 47 和聚季铵盐 53 添加 2 倍和 10 倍方法定量限水平进行加标回收实验，常温放置 24 h，选取 6 个时间段分别进行测定，计算加标回收率及其相对标准偏差（RSD），结果见表 6。由表 6 可知，在 24 h 之内，丙烯酰胺加标回收率的相对标准偏差在 0.7%~2.9% 之间，日内稳定性良好。

表 6 日内稳定性试验结果

基质	加标量	回收率 (%)	平均值	RSD (%)
----	-----	---------	-----	------------

	(mg/kg)	放置 0 h	放置 2 h	放置 4 h	放置 8 h	放置 12 h	放置 24 h	(%)	
聚季铵盐 22	3.0	92.6	88.4	91.3	93.5	89.6	92.7	91.4	2.0
	15.0	91.6	92.2	92.6	93.4	88.4	95.2	92.2	2.2
聚季铵盐 47	3.0	86.9	90.5	91.8	88.4	90.6	93	90.2	2.3
	15.0	94.1	96.2	97.5	95.5	94.4	91.7	94.9	1.9
聚季铵盐 53	3.0	88.3	88.6	91.1	94.6	93.8	88.3	90.8	2.9
	15.0	92.7	91.9	93.4	92.6	92.7	93.9	92.9	0.7

2.3.8.2 日间稳定性

选取阴性聚季铵盐添加 2 倍和 10 倍方法定量限水平进行加标回收实验，常温放置 3 天，每天分别进行测定，计算加标回收率和极差，结果见表 7。由表 7 可知，在 3 天之内，丙烯酸胺加标回收率的极差在 3.8%~6.8%之间，极差不超过平均值的 10%，日间稳定性良好。

表 7 日间稳定性试验结果

基质	加标量 (mg/kg)	回收率 (%)				平均值 (%)	极差 (%)
		放置 0 天	放置 1 天	放置 2 天	放置 3 天		
聚季铵盐 22	3.0	92.6	91.6	88.8	93.4	91.6	5.0
	15.0	91.6	95.1	92.5	93.8	93.3	3.8
聚季铵盐 47	3.0	86.9	90.9	93.1	92.1	90.8	6.8
	15.0	94.1	96.1	92.2	92.4	93.7	4.2
聚季铵盐 53	3.0	88.3	92.4	93.9	91.8	91.6	6.1
	15.0	92.7	95.5	91.9	92.3	93.1	3.9

2.3.9 方法特异性

方法的特异性是指方法区分目标分析物和其他物质的能力，不得存在导致目标分析物定性错误和影响定量准确的干扰因素（信号、干扰峰等）。本方法通过分析具有代表性的空白样品和空白样品加标样品，按照样品前处理方法处理后，进样检测分析，考察实验样品中除丙烯酸胺以外的其他组分对测定有无干扰，结果未发现存在。聚季铵盐阴性样及加标色谱图见图 28~图 35。

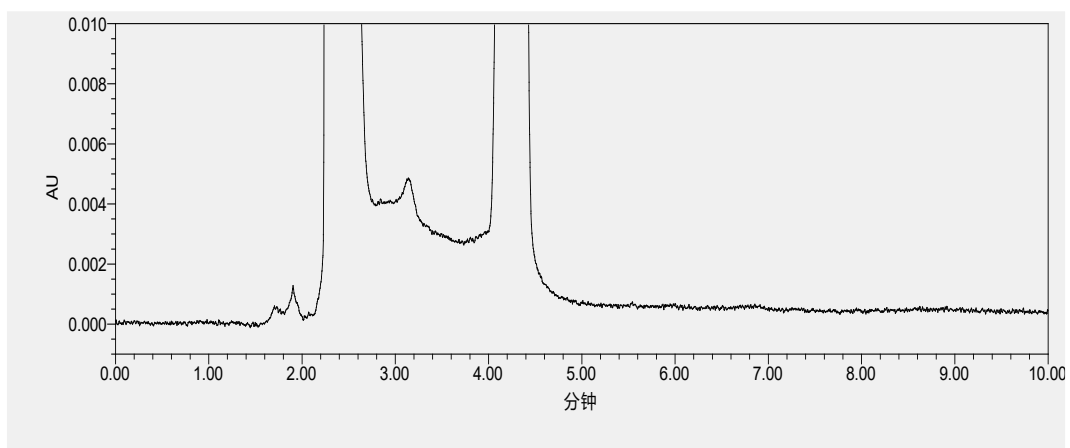


图 28 聚季铵盐 22 的色谱图

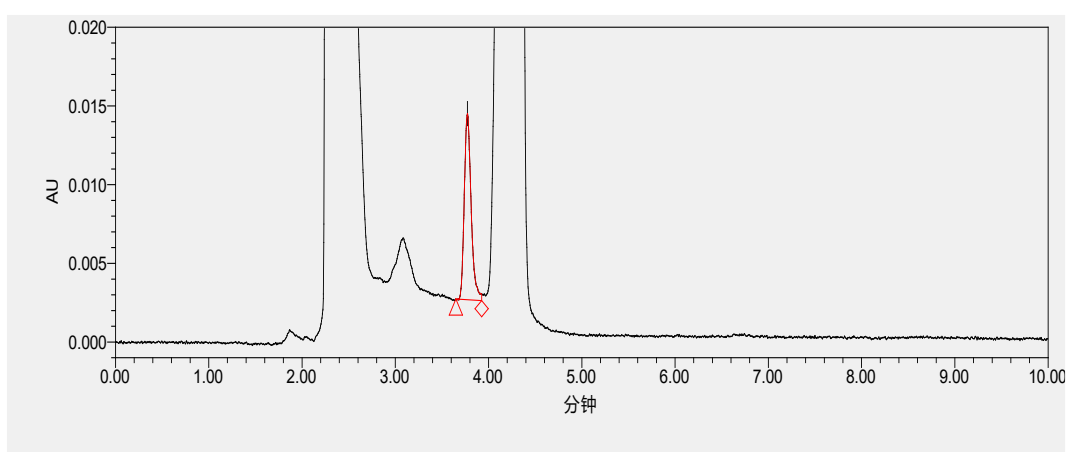


图 29 聚季铵盐 22 丙烯酰胺加标的色谱图

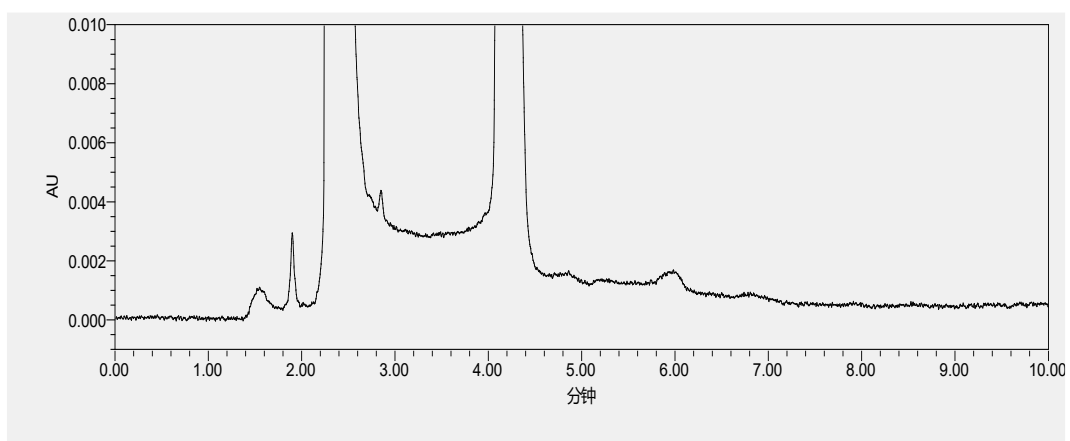


图 30 聚季铵盐 37 的色谱图

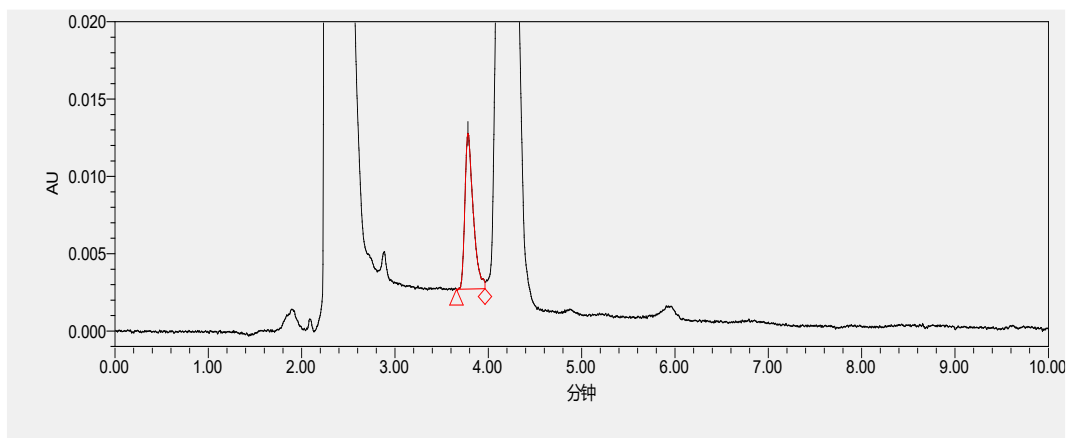


图 31 聚季铵盐 37 丙烯酰胺加标的色谱图

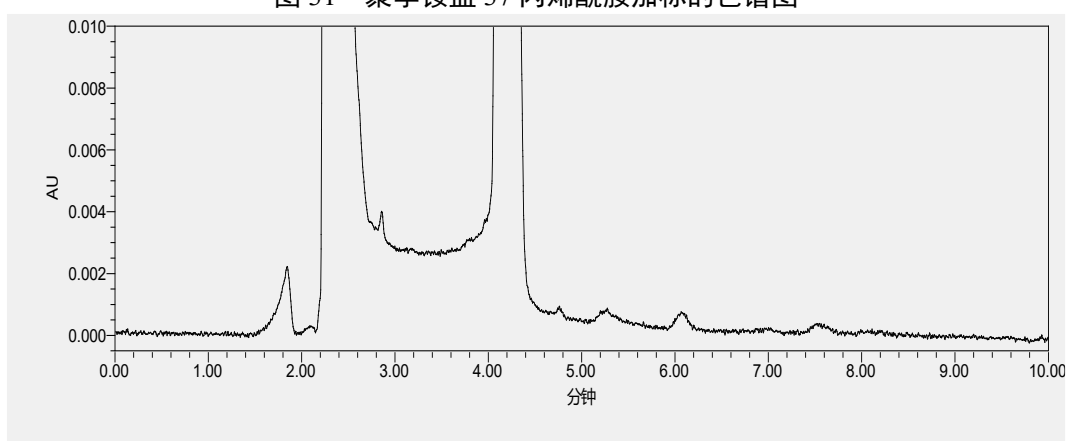


图 32 聚季铵盐 47 的色谱图

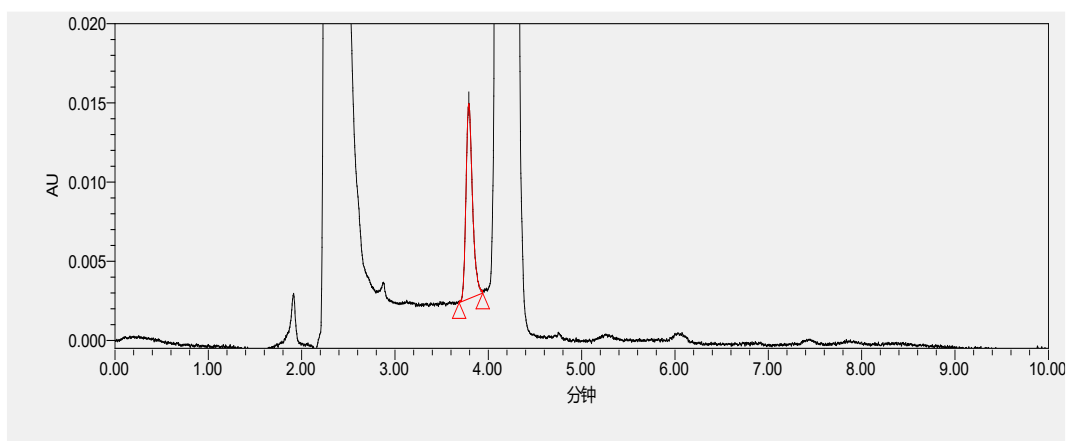


图 33 聚季铵盐 47 丙烯酰胺加标的色谱图

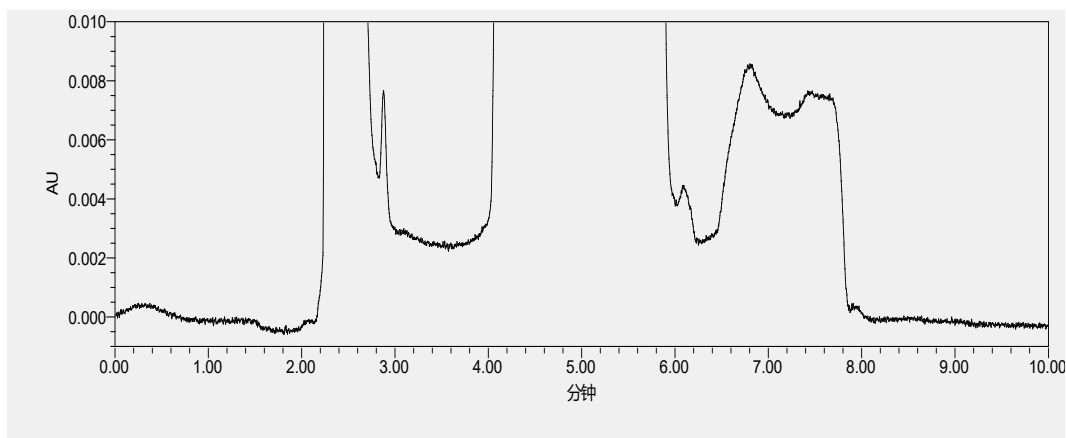


图 34 聚季铵盐 53 的色谱图

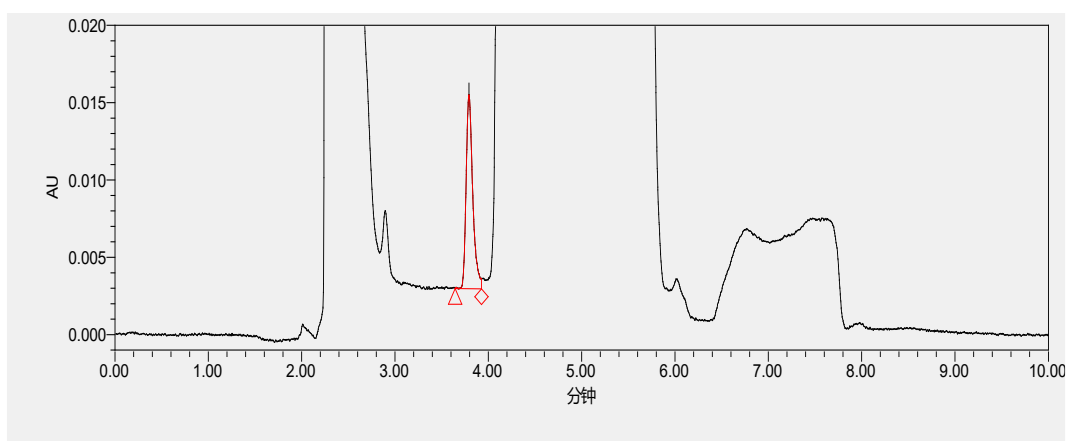


图 35 聚季铵盐 53 丙烯酰胺加标的色谱图

2.4 解决的主要问题

本研究通过优化目标化合物的色谱分析参数，以及对不同类型样品的前处理方法进行摸索，最终建立了一套标准性的检测方法，解决的主要问题包括：

- (1) 确立了高效液相色谱仪的检测参数，包括色谱柱、液相色谱条件、流动相、的选择；
- (2) 确定了前处理方法，包括分散溶剂、提取溶剂的选择；
- (3) 完成了方法学的考察，包括标准溶液稳定性、线性范围、方法检出限和定量限、回收率和精密度、方法稳定性等；
- (4) 完成了方法的适用性试验，对市售的聚季铵盐进行了检测。

2.5、修订标准时应列出与原标准的主要差异和水平对比

该标准属首次起草，无与原标准的主要差异和水平对比。

三、主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

3.1 验证情况

选取阴性聚季铵盐样品，邀请河北省食品检验研究院、广东产品质量监督检验研究院、南京市产品质量监督检验院、成都市食品检验研究院和深圳市计量质量检测研究院 5 家实验室对本标准方法的线性、检出限和定量限、方法回收率和精密度进行验证，方法添加 1 倍、2 倍、10 倍方法定量限和限量水平进行加标回收实验，验证结果见表 8。

表 8 验证结果汇总表

基质	添加值 (mg/kg)	平均回收率/% (n=5)					平均值 (%)	RSD (%)
		单位 1	单位2	单位3	单位4	单位5		
聚酰胺盐 10	1.5	85.9	85.0	94.5	80.4	85.9	86.3	5.3
	3.0	97.1	84.1	86.6	94.1	99.3	92.2	6.4
	15.0	96.5	87.2	93.3	87.0	94.9	91.8	4.3
聚酰胺盐 22	1.5	93.9	90.3	87.9	80.8	81.1	86.8	5.9
	3.0	99.2	87.6	92.3	103.2	97.5	96.0	5.7
	15.0	97.5	89.7	96.8	101.7	95.2	96.2	4.0
聚酰胺盐 53	1.5	85.7	94.9	87.1	95.0	91.2	90.8	4.2
	3.0	93.5	90.6	87.3	101.2	88.1	92.1	5.4
	15.0	91.2	94.1	89.2	99.2	90.4	92.8	3.9

综述报告：5家验证结果表明，丙烯酰胺在0.1 ~ 5.0 µg/mL范围内线性关系良好。目标化合物在方法给出的检出限浓度均可检出，方法给定的检出限合理。不同验证单位测得丙烯酰胺在三水平添加范围内平均回收率在86.3 % ~96.2%之间，实验室间的精密度为3.9% ~6.4%，表明方法具有良好的回收率和精密度。

3.2 市售样品分析

随机抽取市售的样品，应用本项目建立的方法进行检测，以标准曲线法计算含量。结果如表 9 所示，聚季铵盐 7、聚季铵盐 33、聚季铵盐 39 为阳性检出，检出含量 2.65-125 mg/kg，其余样品未检出。样品色谱图见图 36~图 42。

表 9 聚季铵盐测定结果汇总表

样品	平均测定值/mg/kg (n=5)					平均值 (mg/kg)	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
聚季铵盐 7	2.58	2.45	2.66	2.73	2.82	2.65	4.8
聚季铵盐 10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	/	/
聚季铵盐 22	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	/	/
聚季铵盐 33	125	127	121	129	124	125	2.2
聚季铵盐 37	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	/	/
聚季铵盐 39	29.9	30.0	29.7	31.3	29.8	30.1	2.0
聚季铵盐 47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	/	/
聚季铵盐 53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	/	/

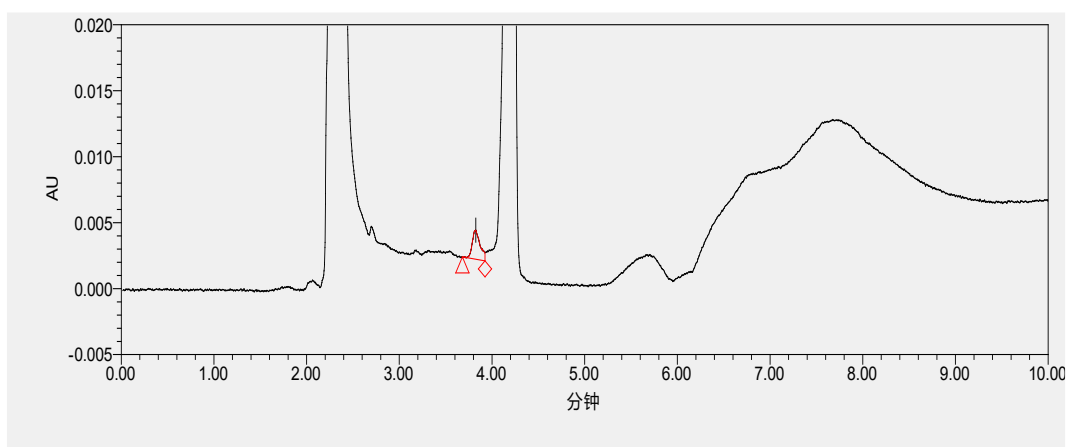


图 36 聚季铵盐 7 的色谱图

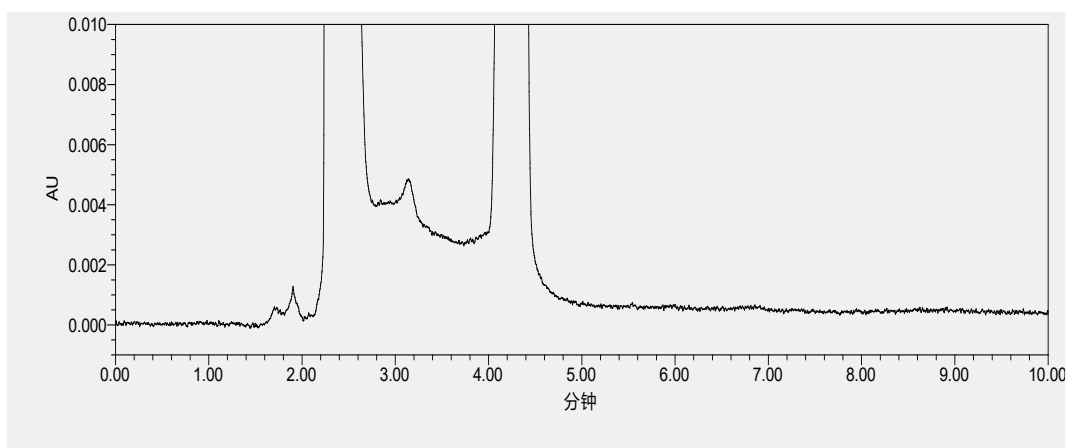


图 37 聚季铵盐 22 的色谱图

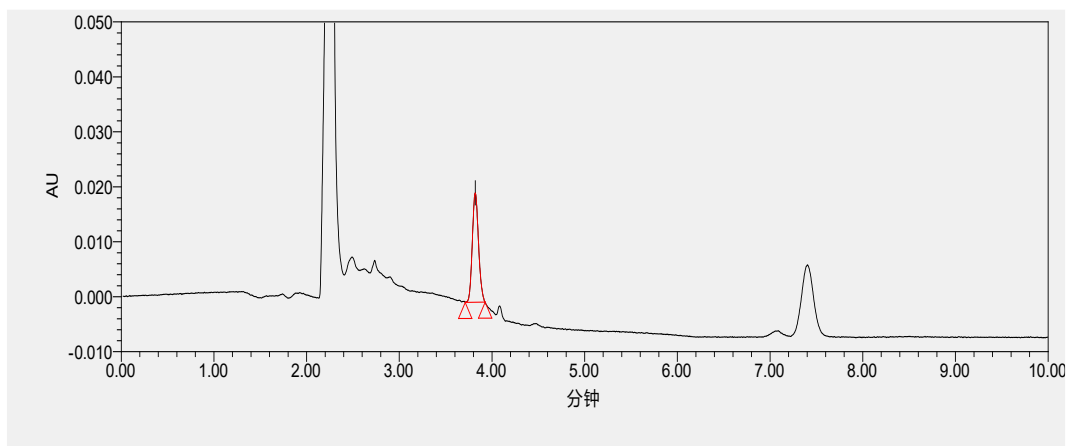


图 38 聚季铵盐 33 的色谱图（稀释 5 倍）

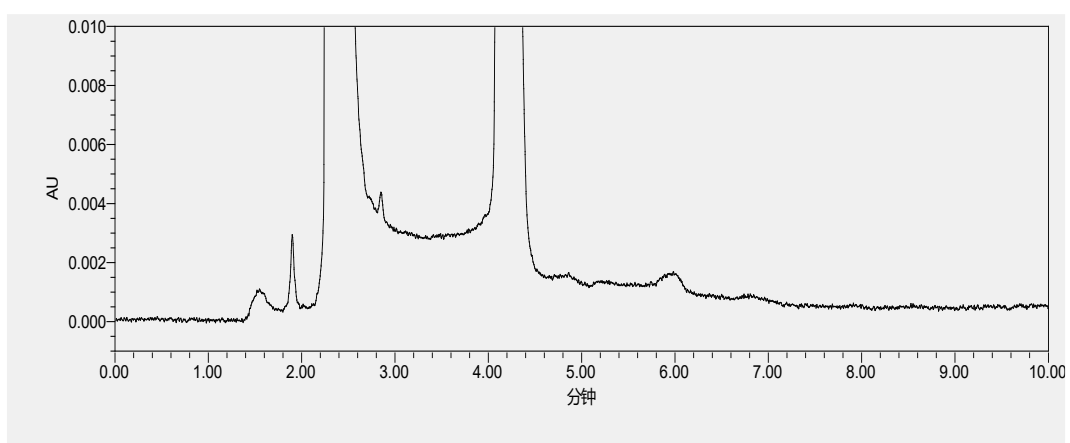


图 39 聚季铵盐 37 的色谱图

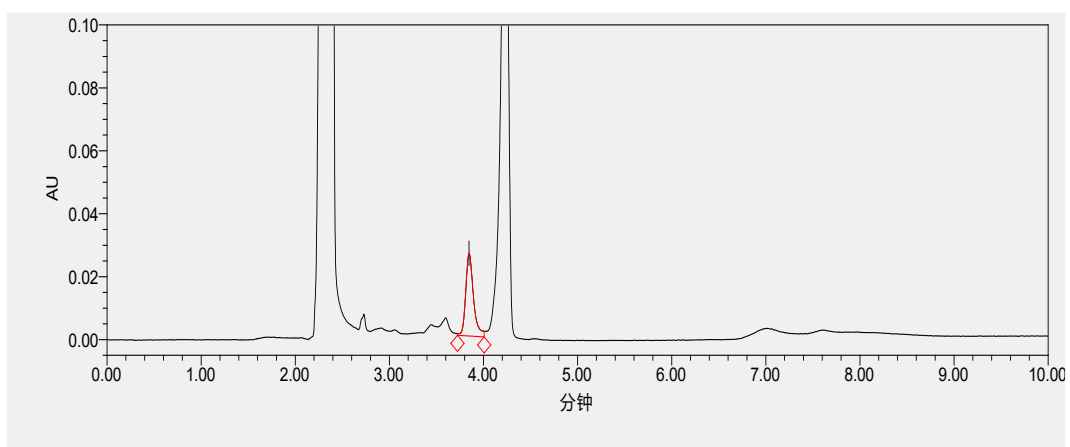


图 40 聚季铵盐 39 的色谱图

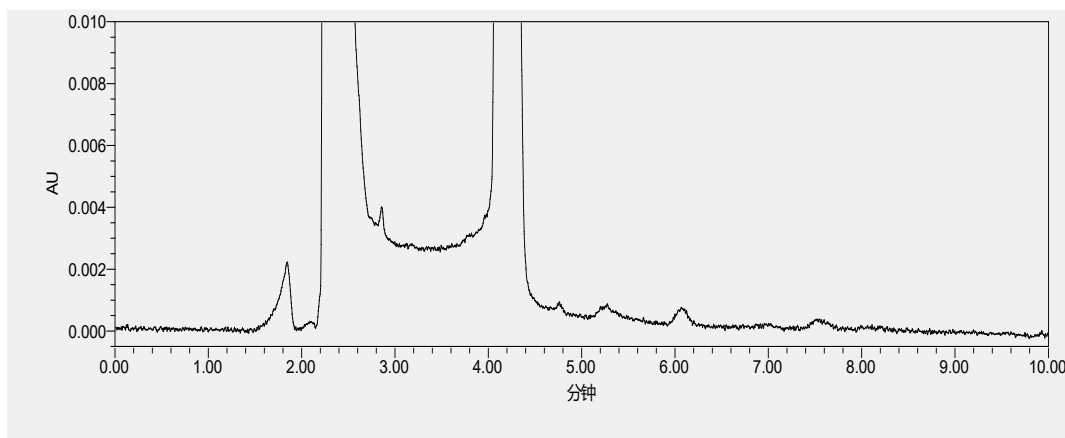


图 41 聚季铵盐 47 的色谱图

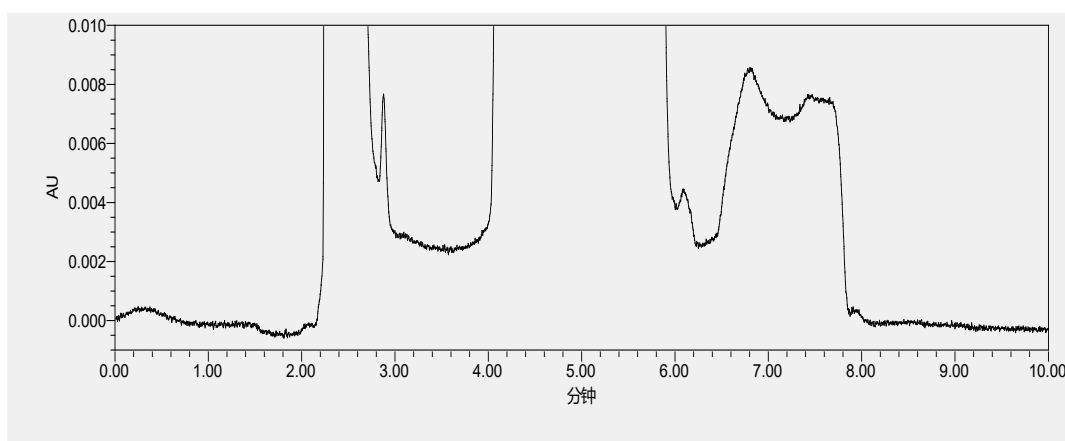


图 42 聚季铵盐 53 的色谱图

3.3.技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

国家标准“阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残留量的测定 高效液相色谱法”系统的建立了聚季铵盐中丙烯酰胺的检测方法。该标准的发布实施一方面可以提升行政监管部门监管阳离子表面活性剂 聚季铵盐的质量安全的履职能力,有效的监测聚季铵盐的安全性,极大的规范贸易市场,保障消费者的健康安全和权益;另一方面可增强检验机构的服务能力,为企业提供相关检测服务,保障相关聚季铵盐生产企业健康有序发展,具有明显的社会效益,同时也可创造出一定的经济效益。

四、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国外同类标准水平的对比情况，国内外关键指标对比分析或与测试的国外样品、样机的相关数据对比情况

据查证，目前尚无该产品国际标准或国外先进标准。

五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并

说明未采用国际标准的原因

据查证，目前尚无相关国际标准或国外先进标准。

六、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准技术指标符合我国现行相关法律、法规、规章及相关标准要求。

七、重大分歧意见与处理经过与依据

本标准在制定时对制造商、供应商、市场的流通与销售以及消费者等各方面的权益均作出了分析和考虑。

八、涉及专利的有关说明

本标准不涉及专利。

九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

建议本标准以推荐性国家标准的形式发布。建议本标准于发布日期 6 个月后实施。全国表面活性剂和洗涤用品标准化技术委员会负责组织该项标准的宣贯工作。该标准属首次起草，无废止现行相关标准的建议。

十、其他应予说明的事项

无。

标准征求意见稿意见汇总处理表

标准项目名称：阳离子表面活性剂 聚季铵盐中丙烯酰胺残留量的测定 高效液相色谱法 第 1 页
起草单位：苏州世谱检测技术有限公司等

承办人： 电话： 2026 年 4 月 12 日填写

序号	标准章条 编号	意见内容	提出单位	处理意见及理由
1	标准全文	标准内容与已发布的广东省日化商 会团体标准 T/GDCDC 036-2023 在样 品处理及后续的测试方法多有相同， 应该取得对方同意。	广州天赐高新 材料股份有限 公司	采纳，重新查阅公开 资料，修改样品处理 及测试条件，避免版 权问题

说明：① 发送《征求意见稿》的单位数：86 个（参加会议单位，未统计网上公开征求意见单位）；
② 收到《征求意见稿》后回函的单位数：1 个；
③ 收到《征求意见稿》后，回函并有建议或意见的单位数：1 个；
④ 没有回函的单位数：85 个。
⑤ 提出意见数量：1 个；
⑥ 标准起草单位处理结果：采纳 2 个，未采纳 0 个；
⑦ 标准化技术委员会审查意见：