附件2

化妆品中大麻二酚（CBD）等6种原料的检验方法

（征求意见稿）

Determination of Cannabidiol (CBD) and Other 5 kinds of Components in Cosmetics

1 范围

本方法规定了化妆品中大麻二酚等6种原料的液相色谱-质谱联用法，包括定性筛查方法与定量测定方法。

本方法适用于膏霜乳液类、液体（水、油）类、凝胶类、粉剂类、蜡基类等化妆品中大麻二酚等6种原料的定性筛查与定量测定。

2 方法提要

本方法以乙腈为溶剂提取样品中大麻二酚等6种原料，采用高效液相色谱仪分离，质谱检测器检测，根据保留时间和特征离子对的相对丰度比定性，定量离子对峰面积定量，以标准曲线法计算含量。

本方法中大麻二酚等6种原料的检出限均为0.5 μg/L，定量下限均为1 μg/L。取样量为0.2 g时，检出浓度均为0.025 μg/g，最低定量浓度均为0.050 μg/g。

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 乙腈：色谱纯。

3.2 甲醇：色谱纯。

3.3 石油醚（30~60℃）：分析纯。

3.4 甲酸铵：色谱纯。

3.5 硅镁型吸附剂（60目~100目）。

3.6 5 mmol/L甲酸铵溶液（含0.1%甲酸）：称取0.3152 g甲酸铵于1000 mL容量瓶中，加水950 mL溶解后，加入1.0 mL甲酸，用水定容至刻度，混匀，过0.22 μm微孔滤膜。

3.7 标准品：大麻二酚(CBDV)、大麻二酚（CBD）、大麻酚(CBN)、Δ9-四氢大麻酚（THC）、大麻二酚酸(CBDA)、四氢大麻酸(THCA)的标准品为经国家认证并授予标准物质证书的标准溶液，浓度均为100μg/mL。6种原料标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、相对分子质量和分子式见附录A。

3.8 混合标准储备溶液（1μg/mL）：分别准确移取6种原料的标准品（3.7）0.1 mL置于10 mL棕色容量瓶中，用乙腈稀释并定容至刻度。置于棕色样品瓶中，-18℃避光保存，保质期1个月。

3.9 微孔滤膜（0.22 µm）。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

4.2 分析天平：感量为0.0001 g和0.00001 g。

4.3 超声波清洗仪：功率不低于200W。

4.4 离心机，转速不低于6000 r/min。

4.5 涡旋混合仪。

5 分析步骤

5.1 筛查用混合标准溶液的制备

取混合标准储备溶液适量，用乙腈配制成浓度为1.0 µg/L的溶液。临用现配。

5.2 基质标准工作溶液的制备

5.2.1 空白基质提取液制备

取与待测化妆品配方相同或相近的基质空白样品0.2 g（精确至0.0001 g），置于10 mL具塞比色管中，与样品同法处理，作为空白基质提取液。

5.2.2 基质标准系列溶液的制备

取混合标准储备溶液（3.8）适量，用空白基质提取液逐级稀释得到浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 µg/L的基质标准系列溶液。基质标准系列溶液临用现配。

5.3 样品处理

取样前应将样品充分混匀。液体（水、油）类、粉剂类样品摇匀后取样；膏霜乳液类、凝胶类样品应弃去至少 1cm 最初移出样品，将样品挤出、混匀后取样；蜡基类样品应刮弃表面层后取样。 无纺布面膜挤出吸附在无纺布上的液体，混匀后取样。

5.3.1 膏霜乳液类、液体（水、油）类、凝胶类、粉剂类

称取样品0.2 g（精确到0.0001g），置于10 mL具塞比色管中，加1～2 mL乙腈（3.1），涡旋分散均匀后，加乙腈（3.1）至近刻度，冰浴超声提取10 min，静置至室温，用乙腈（3.1）定容至刻度，加入硅镁吸附剂1 g，混匀，以6000 r/min转速离心10 min。取上清液经0.22 μm滤膜过滤，滤液作为供试品溶液备用（根据样品的实际检测情况，当样品含量高于线性最高点时，可对供试品溶液进行适当稀释，空白基质提取液同步稀释。）。

5.3.2 蜡基类

称取样品0.2 g（精确至0.0001g），置于10 mL具塞比色管中，加石油醚（30~60℃）（3.3）1 mL，涡旋分散均匀后，加乙腈（3.1）至近刻度，冰浴超声提取10 min，静置至室温，用乙腈（3.1）定容至刻度，加入硅镁吸附剂1 g，混匀，以6000 r/min转速离心10 min。取上清液经0.22 μm滤膜过滤，滤液作为供试品溶液备用（供试品溶液可根据实际浓度进行适当稀释）。

注：基质标准系列溶液与样品处理应全程避光操作，并在24小时内完成测定。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 色谱条件

色谱柱：C18柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），或等效色谱柱；

流动相：A：5 mmol/L甲酸铵水溶液（3.6），B：甲醇（3.2），梯度洗脱程序见表1。

表1 流动相梯度洗脱程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间/min | V（流动相A）/% | V（流动相B）/% |
| 0.0 | 50 | 50 |
| 3.0 | 10 | 90 |
| 7.0 | 10 | 90 |
| 7.1 | 50 | 50 |
| 10.0 | 50 | 50 |

流速：0.3 mL/min；

柱温：40 ℃；

进样量：2 μL。

5.4.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI源）；

监测模式：正、负离子多反应监测模式，监测离子对及相关参数设定见表2（可根据仪器情况进行调整）。

表2 6种原料监测离子对及相关参数设定表

| 序号 | 中文名称 | 离子形式 | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | 碰撞能量(eV) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 次大麻二酚（CBDV） | [M+H]+ | 287.1 | 165.1\* | 30 |
|  |  |  | 287.1 | 123.0 | 40 |
| 2 | 大麻二酚（CBD） | [M+H]+ | 314.9 | 193.3\* | 30 |
|  |  |  | 314.9 | 135.1 | 27 |
| 3 | 大麻酚（CBN） | [M+H]+ | 311.4 | 222.9\* | 28 |
|  |  |  | 311.4 | 195.1 | 35 |
| 4 | Δ9-四氢大麻酚（THC） | [M+H]+ | 315.0 | 193.3\* | 30 |
|  |  |  | 315.0 | 123.1 | 41 |
| 5 | 大麻二酚酸（CBDA） | [M-H]－ | 357.2 | 339.1\* | -30 |
|  |  |  | 357.2 | 245.3 | -40 |
| 6 | 四氢大麻酚酸（THCA） | [M-H]－ | 357.3 | 313.4\* | -33 |
|  |  |  | 357.3 | 245.3 | -40 |

注：“\*”为推荐的定量离子对。大麻二酚酸和四氢大麻酚酸为负离子模式。

5.5 定性判定

取样品溶液和筛查用混合标准溶液（5.1），在相同分析条件下测定，样品中如呈现定量离子对和定性离子对的色谱峰，被测原料的特征离子峰保留时间与标准溶液对应的保留时间偏差在±2.5%之内，且选择的定性离子的相对丰度比与相当浓度标准品溶液的定性离子的相对丰度比的最大偏差不超过表 3的规定，则可以判定样品中存在对应的原料。

表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>50% | 50%≥k>20% | 20%≥k>10% | k≤10% |
| 允许的最大偏差 | ±20% | ±25% | ±30% | ±50% |

5.6 定量测定

当定性筛查（5.5）结果为阳性时，需测定含量。取基质标准系列溶液（5.2.2）依次测定，以待测原料的系列浓度为横坐标，待测原料的定量离子对峰面积为纵坐标，进行线性回归，建立基质标准曲线，其线性相关系数（r）应不小于0.99。取样品溶液测定，将对应的定量离子对色谱峰面积代入线性回归方程，按“6 计算”项下公式，计算样品中待测原料的含量。

6 计算

$$ω=\frac{ρ×V×D}{m×1000} $$

式中：*ω* －化妆品中大麻二酚等6种原料的质量分数，µg/g；

*ρ* －待测溶液中大麻二酚等6种原料的质量浓度，µg/L；

*V*－样品定容体积，mL；

*m* －样品称取量，g；

*D* －稀释倍数（不稀释则为1）。

相同条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%，结果保留2位有效数字。

7 回收率和精密度

多家实验室验证方法回收率为80.0%~120.0%，相对标准偏差小于15%。

8 图谱



图1 次大麻二酚（CBDV）的多反应监测色谱图



图2 大麻二酚（CBD）的多反应监测色谱图



图3 大麻酚（CBN）的多反应监测色谱图



图4 Δ9-四氢大麻酚（THC的多反应监测色谱图



图5 大麻二酚酸（CBDA）的多反应监测色谱图



图6 四氢大麻酚酸（THCA）的多反应监测色谱图

附录A

（资料性附录）

大麻二酚等6种原料标准品信息表

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS号 | 相对分子质量 | 分子式 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 次大麻二酚(CBDV) | Cannabidivarol | 24274-48-4 | 286.42 | C19H26O2 |
| 2 | 大麻二酚（CBD） | Cannabidiol | 13956-29-1 | 314.47 | C21H30O2 |
| 3 | 大麻酚(CBN) | Cannabinol | 521-35-7 | 310.44 | C21H26O2 |
| 4 | Δ9-四氢大麻酚（THC） | Δ9-Tetrahydrocannabinol | 1972-08-3 | 314.47 | C21H30O2 |
| 5 | 大麻二酚酸(CBDA) | Cannabidiolic acid | 1244-58-2 | 358.48 | C22H30O4 |
| 6 | 四氢大麻酸(THCA) | Δ9-Tetrahydrocannabinolic acid | 23978-85-0 | 358.48 | C22H30O4 |

化妆品中大麻二酚等6种原料的检验方法（征求意见稿）

起草说明

为加强化妆品的监督管理，进一步提高化妆品使用安全性，国家局化妆品标准化技术委员会组织开展了化妆品中大麻二酚等6种原料的检验方法的研究制定工作。现就工作有关情况说明如下：

一、起草原则

本方法的起草本着科学合理、简单易行的原则。采用目前一般检测实验室普遍具备的分析技术，选择适宜、可行、便于实际操作的分析条件，保证检测方法的精确性和重现性。

二、起草过程

本方法于2024年8月由化妆品专家标准委员会立项。起草过程包括：拟定研究内容；建立化妆品中大麻二酚等6种原料的检验方法；开展实验室间验证；形成方法草案。2025年3月，通过检验检测分技委初审。

三、与我国已有相关标准的关系

2024年08月23日国家市场监督管理总局发布推荐性标准GB/T 44428-2024 《化妆品中大麻二酚和四氢大麻酚的测定　液相色谱-串联质谱法》，于2025年03月01日实施。该标准提供了大麻二酚和四氢大麻酚的检测方法，且范围限于水剂类、膏霜类、乳液类、凝胶类化妆品。其余4种原料暂无国家标准。

四、与《化妆品安全技术规范》（2015年版）（以下简称《规范》）中原方法的对比情况

现有《规范》中并未收录关于化妆品中大麻二酚等6种原料的检验方法。

五、国际相关标准情况

目前未查询到国外公开发布的关于化妆品中大麻二酚等6种原料的测定方法的相关标准。

六、实验室验证情况

本实验室和三家外部实验室均对膏霜乳液类、液体（水、油）类、凝胶类、粉剂类、蜡基类6种化妆品基质的方法学进行了验证，包括方法的特异性、线性及线性范围、检出浓度、最低定量浓度、精密度、回收率、稳定性等。实验结果均能满足《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》（国食药监许〔2010〕455号）的要求。

七、其他需说明的问题

本方法的体例主要参照《规范》的理化检验方法的体例，方便化妆品检验领域相关检验人员的阅读和使用。