

团体标准

T/LNPC 017-2024

化妆品原料祛斑美白功效评价试验方法

Test method for Freckle removal and whitening efficacy of cosmetic ingredients

2024 年 12 月 23 日 发布

2024 年 12 月 30 日 实施

辽宁省品牌建设促进会 发布

目 次

前 言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 仪器及设备 1

6 试剂和耗材 1

7 试验步骤 1

 7.1 体外模型的准备 1

 7.2 给予化妆品原料 2

 7.3 样品收集 2

 7.4 测定条件 2

8 结果计算 2

9 结果判定 2

参 考 文 献 3

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》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定起草。

本文件由辽宁省品牌建设促进会提出并归口。

本文件提出单位：肽悦（沈阳）生物科技有限责任公司

本文件起草单位：辽宁省药品检验检测院、肽悦（沈阳）生物科技有限责任公司、沈阳药科大学、大连瑞芳生物科学有限公司、辽宁天安生物制药股份有限公司、中科院沈阳应用生态研究所

本文件主要起草人：王福鑫、周训勇、张怡轩、赵龙山、李嘉文、矫筱蔓、孔祥翔、刘智勇、徐秋阳、杨永刚、王柯、那淑虹、张轶、张国英、王雅琼

化妆品原料祛斑美白功效评价试验方法

1 范围

本文件规定了基于体外人皮肤模型的化妆品原料的祛斑美白功效试验方法。
本文件适用于具有生物学祛斑美白作用的化妆品原料祛斑美白功效试验。
本文件可作为化妆品原料祛斑美白功效试验方法之一，对化妆品原料祛斑美白功效进行评价。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

黑素细胞位于表皮的基底层，细胞内的黑素小体能合成黑色素，并转移到周围的角质形成细胞，赋予皮肤颜色。皮肤中黑色素的数量决定了皮肤的颜色。黑素细胞刺激激素（ α -MSH）可刺激黑素细胞合成和分泌黑色素，而通过酶标仪测定OD值可检测黑色素的分泌量。

本文件通过检测加入受试样品后黑素细胞中黑素分泌量的变化，反映化妆品原料是否对皮肤有祛斑美白功效。

5 仪器及设备

- 5.1 生物安全柜。
- 5.2 倒置显微镜。
- 5.3 CO₂培养箱：37℃，95%相对湿度、5%CO₂/空气。
- 5.4 低温高速离心机。
- 5.5 酶标仪：450nm、630nm。
- 5.6 分析天平：精度 0.1mg。
- 5.7 微量移液器：5000 μ L、1000 μ L、200 μ L、20 μ L。

6 试剂和耗材

- 6.1 黑素细胞（B16 细胞）。
- 6.2 DMEM 细胞培养基。
- 6.3 0.25%胰蛋白酶（无菌）。
- 6.4 PBS 磷酸盐缓冲液（无菌）。
- 6.5 黑素细胞刺激激素（ α -MSH）。

7 试验步骤

7.1 体外模型的准备

7.1.1 细胞培养

将黑素细胞用胰蛋白酶作用5min~10min后，用DMEM培养基终止消化，巴氏吸管吹打细胞使其成为单细胞悬液。加入适量培养基稀释细胞悬液使其密度约为 1×10^4 个/mL。用微量移液器吸取细胞悬液以200 μ L/孔接种到96孔板中，然后置于CO₂培养箱培养48h。

7.1.2 α -MSH 刺激

待细胞生长到融合度为85%~90%左右时，用微量移液器吸干96孔板内的培养基，加入10nM α -MSH刺激3h，空白对照组不作 α -MSH刺激处理。

7.2 给予化妆品原料

试验设置空白对照组、 α -MSH对照组和化妆品原料组。称取一定量的化妆品原料，将其用DMEM培养基稀释到试验浓度。化妆品原料浓度：通过细胞毒性检测试验确定化妆品原料的浓度范围。

用微量移液器吸干96孔板内的培养基。空白对照组、刺激对照组每孔仅加入200 μ L培养基，化妆品原料组每孔加入200 μ L含有化妆品原料的培养基。随后将96孔板置于CO₂培养箱中继续培养72h。

7.3 样品收集

转移培养液至新的96孔板中，用酶标仪检测黑色素的分泌量。

7.4 测定条件

在405nm波长测定吸光度，计算黑色素相对分泌量。

8 结果计算

$$MRS = \frac{A_{\text{试}}}{A_{\text{对}}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

MRS：黑色素相对分泌量，%；

A_试：化妆品原料组吸光度；

A_对：刺激对照组吸光度。

9 结果判定

全部符合以下条件说明化妆品原料具有祛斑美白功效：

(1) 与空白对照组相比， α -MSH对照组黑色素相对含量大于100%，且具有显著性差异（ $p < 0.05$ ）。

(2) 与 α -MSH对照组相比，化妆品原料组黑色素含量减少，且具有显著性差异（ $p < 0.05$ ）。

参 考 文 献

- [1] 国家药品监督管理局. 化妆品安全技术规范2015版. 2015年12月23日.
 - [2] 国家药品监督管理局. 化妆品功效宣称评价规范. 2021年4月9日.
-