

团 体 标 准

T/LNPC 018-2024

化妆品原料祛痘功效评价试验方法

Test method for acne removal 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 样品的测定 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、辽宁天安生物制药股份有限公司、沈阳美研化妆品有限公司、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、刘智勇、徐秋阳、孔翔翔、董宁、张轶、张国英、王雅琼、苏珊、苏新

化妆品原料祛痘功效评价试验方法

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痘功效试验方法。
本文件适用于具有生物学祛痘作用的化妆品原料祛痘功效试验。
本文件可作为化妆品原料祛痘功效试验方法之一，对化妆品原料祛痘功效进行评价。

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

痤疮是毛囊皮脂腺的慢性炎症，毛囊内过度分泌的脂质和堵塞的角栓给厌氧、嗜脂的痤疮丙酸杆菌提供适宜的生长环境和营养来源，使其过度增殖。痤疮丙酸杆菌可大量分泌胞外多糖，形成生物膜。生物膜是一种三维结构菌体细胞群，其主要结构包括菌体及由菌体分泌并包裹于菌体外的胞外聚合物（胞外多糖、胞外DNA、蛋白质等）。在该状态下，微生物的抗药能力及对机体的致病性都显著增加。

本文件旨在构建痤疮丙酸杆菌生物膜，通过检测加入化妆品原料后痤疮丙酸杆菌生物膜活力的抑制效果，以此评价化妆品原料是否具有祛痘功效。

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 荧光酶标仪：激发波长 560nm，发射波长 590nm。
- 5.6 分析天平：精度 0.1mg。
- 5.7 微量移液器：5000 μL、1000 μL、200 μL、20 μL。

6 试剂和耗材

- 6.1 痤疮丙酸杆菌 CICC 10864。
- 6.2 RCM 培养基。
- 6.3 0.85%生理盐水。
- 6.4 刃天青试剂。

7 试验步骤

7.1 体外模型的准备

7.1.1 生物膜的构建

将痤疮丙酸杆菌接种于斜面上，培养24h。然后加入无菌生理盐水制备成菌浓约为 1×10^8 CFU/mL的菌悬液，然后以2%的接种量加到RCM培养基中，空白对照组不接种痤疮丙酸杆菌，只加入RCM培养基，混合均匀后接种于96孔板中，37℃厌氧培养72h至生物膜形成。

7.2 给予化妆品原料

试验设置空白对照组、模型对照组和化妆品原料组。化妆品原料浓度：通过MIC试验确定化妆品原料的浓度范围。称取一定量的化妆品原料，用无菌蒸馏水溶解，无菌过滤制备为一定浓度的储备液，然后用RCM培养基将储备液以两倍稀释法作系列稀释，弃掉96孔板中培养基，化妆品原料组加入原料梯度稀释液，每组每孔200μl，模型对照组和空白对照组只加入RCM培养基，每孔200μl，继续培养24h。

7.3 样品的测定

培养24h后，弃掉培养基，加入刃天青试剂，37℃孵育1h，检测生物膜活力。

7.4 测定条件

在激发波长为560nm，发射波长为590nm测定荧光强度I，计算生物膜相对活力。

8 结果计算

$$dc = \frac{I_{\text{试}} - I_{\text{空}}}{I_{\text{对}} - I_{\text{空}}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

dc——生物膜相对活力，%；

$I_{\text{试}}$ ——化妆品原料组荧光强度；

$I_{\text{空}}$ ——空白组荧光强度；

$I_{\text{对}}$ ——对照组荧光强度。

9 结果判定

全部符合以下条件说明化妆品原料具有祛痘功效：

(1) 96孔板底面出现肉眼可见白色薄膜。

(2) 与对照组相比，化妆品原料组生物膜相对活力小于100%，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.
-