**《基于皮肤模型化妆品保湿功效试验方法》征求意见稿**

**编制说明**

1. **工作概况**
2. **任务来源**

根据《中华人民共和国标准化法》和《地方标准管理办法》，陕西省食品药品检验研究院、陕西博溪通用检测科技有限公司、陕西省药品和疫苗检查中心等6家单位共同制订陕西地方标准《基于皮肤模型化妆品保湿功效试验方法》，计划编号SDBXM228-2023，本项目应在2024年5月30日之前完成。

1. **目的及意义**

伴随着《化妆品功效宣称评价规范》正式落地，化妆品市场对产品和原料的功效评价及检测的需求猛增，化妆品检验检测市场也迎来了较大的发展机遇。保湿是皮肤护理的基本诉求，保湿功效是化妆品最基本的功能，因而宣称保湿的化妆品在整个化妆品品类中占有较高的比例。目前，保湿功效评价方法主要包括体外方法与体内方法，国家轻工业局发布的《化妆品保湿功效评价指南》(QB/T 4256－2011) 是国内首个关于化妆品功效评价的行业标准，就是通过客观仪器评估人体皮肤角质层含水量，进而验证化妆品保湿功效的方法。浙江省保健品化妆品行业协会发布的团体标准《化妆品影响经表皮水分流失测试方法》(TZHCA003-2018)和《化妆品影响皮肤表面酸碱度测试方法》（TZHCA004-2018）分别通过使用产品前后人体皮肤经皮水分散失 (Trans Epidermal Water Loss, TEWL) 和pH值的检测直接或间接评价化妆品保湿功效。

随着新型保湿剂的研发，业内对保湿剂功效评价方法的客观性、实时性、灵敏性以及准确性提出了新的要求。而且皮肤的保湿机制较为复杂，难以通过单一方法对保湿功效进行科学、全面的评价。因此，迫切需要建立一种产品保湿功效体外评价方法，以满足目前保湿行业内对于不同作用原理和不同产品宣称方向上的保湿功效评价的需求。保湿功效评价标准的建立拥有广阔的应用前景。积极推动化妆品保湿功效评价标准制定和成果转化，有望为我国取得该领域的国际先发优势，占据科技制高点，具有重大的社会效益和经济效益。

本标准目的是建立一种化妆品保湿功效体外重组皮肤模型含水量检测方法，可以满足不同作用原理的保湿剂的功效评价。最后，相比于其他涉及到人体试验方法的保湿功效评价标准，本标准中建立的体外方法具有高通量，试验周期可控，结果重复性高的优势，而且体外试验能够突破人体试验方法的局限，可以使用更多的科学技术手段，获得更充分、更深入的实验数据。

1. **主要工作过程**

2023年3月，任务下达后项目承担单位立即成立了标准编制工作组，对目标任务进行分解，明确成员的任务要求，制定工作计划和进度安排。项目运行以来，项目组积极收集国内外化妆品保湿功效评价试验技术规范方面的信息，并对各类信息进行分析研究，最后由标准起草单位形成标准草案。

2023年5月初，由陕西省食品药品检验研究院组织进行地方标准立项前的会议讨论，整理立项申请答辩材料，确定技术路线，制定实施方案，确定了标准起草单位和验证单位，共同协力完成标准制定和验证任务，6月完成立项答辩。

2023年9月20，项目承担单位组织召开了化妆品保湿功效测试标准验证推进会议，第一起草单位介绍了目前标准工作的研究进展，根据2023年7月-9月期间的研究和试验验证，初步确定了基于体外重组表皮模型含水量的化妆品保湿功效评价体系的技术要求，包括实验材料和试剂，样品处理方法，测试流程，指标检测方法以及测试仪器的性能和参数要求。验证单位随后开展标准的稳定性验证工作。

2023年10月8日开始完开始收集、汇总分析验证单位的验证结果，对验证单位意见进行处理，形成验证总结报告。根据相关单位的验证结果，标准编制工作组对标准草案进行完善，并于2023年10月23日组织标准起草单位和验证单位进一步研讨，完善和确定标准草案各项内容，形成标准草案讨论稿。

2023年11月初项目承担单位组织召开《基于皮肤模型化妆品保湿功效试验方法》标准草案（工作组讨论稿）研讨视频会。标准起草小组代表介绍了标准草案的验证和修改情况。参会专家对标准草案逐条讨论，提出修改意见，标准起草工作组根据专家意见对标准草案进行修改，形成征求意见稿的草稿提交归口单位。根据专家最终审查意见，对标准送审稿进行了如下主要修改：

1. 封面发布单位改为陕西省市场监督管理局。
2. 前言中GB/T1.1-2009已经被2020版代替，更改为新标准号，且应该书写该标准的中文名称。
3. 9.5含水量测定步骤中没有含水量测量仪器的具体操作方法，应在文件中做出详细的说明。根据专家意见，添加了仪器准备的操作步骤：将[Corneometer® CM 825](https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/183-corneometer-e)角质层含水量测试探头连接到MPA6适配器上，打开仪器测量软件MPACT plus，选择测量参数为含水量，选择测量模式为单点测量，然后用75%酒精清洁探头，待探头表面干燥后进行测量。
4. **起草组成员及任务分工**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 姓名 | 职务/职称 | 单位 | 分工 |
| 1 | 王莉芳 | 副主任/副主任医师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 负责人 |
| 2 | 蔡虎 | 副院长/主任药师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 统筹策划 |
| 3 | 曹涵博 | 检验员/主管药师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 材料收集整理 |
| 4 | 党琳琳 | 副主任/主任药师 | 陕西省药品和疫苗检查中心 | 主要起草人 |
| 5 | 冯润东 | 主任/副主任药师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 技术顾问 |
| 6 | 卢永波 | 院长/-- | 陕西博溪通用检测科技有限公司 | 材料收集整理 |
| 7 | 杨文娟 | 院长助理/-- | 陕西博溪通用检测科技有限公司 | 标准化检查 |
| 8 | 李潇 | 院长助理/-- | 陕西博溪通用检测科技有限公司 | 材料收集整理 |
| 9 | 吴小勇 | 主任/高级工程师 | 咸阳市食品药品检验检测中心 | 技术顾问 |
| 10 | 郝武常 | 主任/主任药师 | 陕西省药品技术审评中心 | 技术顾问 |
| 11 | 罗阿利 | 科长/副主任药师 | 陕西省药品技术审评中心 | 技术顾问 |
| 12 |  张若冰 | 科长/主管药师 | 陕西省药品技术审评中心 | 材料收集整理 |
| 13 | 吴素丽 | 检验员/主管药师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 材料收集整理 |
| 14 | 李晓春 | 检验员/副主任药师 | 陕西省食品药品检验研究院 | 材料收集整理 |
| 15 | 张亚锋 | 副所长/副主任药师 | 西安市食品药品检验所 | 材料收集整理 |
| 16 | 李润芝 | 项目工程师/-- | 陕西博溪通用检测科技有限公司 | 实验测试验证 |

1. **标准编制原则和标准主要内容**

**1. 标准编制原则**

本标准在编制遵循以下原则：

1. 协商一致原则
2. 不其歧视不排他原则
3. 与现有标准保持一致原则。

本标准按照GB/T1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和起草规则》和[国家标准|GB/T 20001.4](https://openstd.samr.gov.cn/bzgk/gb/newGbInfo?hcno=1C02E40CFEFFFE3A487D89C4EF5479F0" \t "https://cn.bing.com/_blank)《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定起草。

本标准在参照国内技术水平的基础上制定，充分考虑相关企业、使用单位等各方面的意见和建议，体现了基于皮肤模型化妆品保湿功效试验方法的技术要求，切实可行，具有可操作性。同时，也体现了与国际先进水平接轨，对国内生产企业及相关行业的技术进步将产生积极的推动作用。

1. **标准主要内容**

本标准文件规定了基于皮肤模型化妆品保湿功效试验方法的范围、规范性引用文件、术语和定义、技术原理、试验条件、材料与试剂、仪器设备、样品、试验步骤、试验数据处理、精密度和测量不确定度、质量保证和控制以及试验报告部分。

**2.1 范围**

本标准规定了评价保湿类化妆品功效的检测方法，以及对样品类型的要求。

**2.2规范性引用文件**

GB 19489-2008 实验室 生物安全通用要求

SN/T 3899—2014 化妆品体外替代试验 良好细胞培养和样品制备规范

SNT3898-2014化妆品体外替代试验方法验证规程

 《化妆品安全技术规范》

《化妆品功效宣称评价规范》

《化妆品分类规则和分类目录》

**2.3 术语和定义**

对本标准中涉及的“阳性工作液、样品工作液、体外重组表皮模型和皮肤含水量”等术语和定义进行了明确。

**2.4 技术原理**

本节对检测指标皮肤含水量对皮肤状态的影响，以及其与保湿功效间的关系、检测方法原理进行阐述，明确其可作为保湿功效支持数据之一的科学性和合理性。

**2.5 试验条件**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测试所需的实验室环境进行要求，针对室内温度、湿度以及空气洁净度。

**2.6 试剂或器材**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定所需材料和试剂进行明确和要求。主要包括体外重组表皮模型本身、模型培养液、样品制备过程所需溶剂、阳性标准品（甘油）、含水量测试仪器清洁所需试剂。

**2.7 仪器设备**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定所需设备进行明确，涉及基本细胞培养设备（CO2细胞培养箱、超净工作台）、分析称量设备（分析天平）、样品处理（移液器）与检测设备（[Corneometer® CM 825](https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/183-corneometer-e)）。

**2.8 样品**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定对象待测样品的溶解性、配制过程注意问题、样品浓度选择确定以及阳标配置要求进行明确。

**2.9 试验步骤**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定涉及的实验处理过程进行详细明确。主要包括皮肤模型准备、受试样品给药处理过程、清洗、平衡和含水量测量等过程。

**2.10 试验数据处理**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定后数据处理、统计分析方法、结果测定进行明确要求。

**2.11 精密度和测量不确定度**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定的批次内以及批次间稳定性提出质控要求，以保证方法的精密度。同时对导致实验整体过程发生测量不确定的因素也提出要求。

**2.12 质量保证和控制**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定操作过程重要质控点进行明确。

**2.13 试验报告**

本节对化妆品保湿功效皮肤模型含水量测定呈现报告内容提出要求，包括测试目的，测试材料，测试设备，样品信息，测试方法，数据与统计分析，实验结果，实验结论，试验日期。

1. **实证研究**

验证单位使用企业提供的盲样，按照标准草案的技术要求和推荐的试验方法进行了验证，根据各家论证数据，使用本标准推荐方法，样品功效可以在不同实验间的测试结果中实现稳定重复，推荐的试验方法具有可行性。具体试验方法和部分试验验证结果总结如下：

1. **试验方法**

**1.1 体外重组表皮模型准备**

将模型转移到6孔板中（提前添加0.9mL EpiGrowth培养液），在6孔板上标注测试组编号。每组设置3个重复模型。该步骤在超净工作台中进行。

**1.2 给药**

配方类样品给药：设置空白对照组，阳性对照组和样品组，空白对照组表面不进行任何样品处理，阳性对照组添加1.5μL的20%甘油溶液，样品组添加1.5μL的测试样品到模型表面，使用柔软光滑的支持物，如1mL注射器的活塞，将样品涂抹均匀。

原料类样品给药：对需要稀释或溶解的原料类待测样品，需增设溶剂对照组，样品给药体积与处理方式同配方类样品。

注1：若样品溶解液难以在皮肤模型表面均匀分布，可以适当增加给药体积，最高不超过25μL，同时阳性对照组和溶剂对照组的给药体积必须与样品组保持一致。

给药结束后，将皮肤模型放入培养箱（5%CO2、37℃）中继续培养。样品孵育时间可设置为24h，也可按照样品实际测试要求设置不同时间；样品孵育时间点可以为单时间点，也可以为多时间点。

**1.3 清洗**

样品孵育结束后，根据模型数量准备24孔板，并做相应标记。每孔加入0.3mL的EpiGrowth培养液。将模型从培养箱中转移到超净工作台中，观察模型表面，若模型表面有明显的样品残留，可以用棉签将表面残留样品轻轻擦掉；对于难清洁的样品，可以用磷酸盐缓冲液冲洗模型表面，至少冲洗10次以保证样品清洗干净，用棉签将模型内外残留的水轻轻擦干，然后将模型转移到24孔板中。

**1.4 平衡**

关闭超净台通风系统，将装有皮肤模型的24孔板板盖取下，敞口静置30min，然后进行含水量测量。

**1.5 含水量测量**

使用[Corneometer® CM 825](https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/183-corneometer-e)角质层含水量测试探头进行含水量测试，测试前用75%酒精清洁探头，待探头表面干燥后进行测量。将模型底部的培养液擦干，用手术刀片将模型从细胞小室底部环切下来，用镊子将模型放置在测试仪的探头上，保证模型的角质层一面与探头完全接触，在平整干燥的表面按压探头进行测量，每个模型至少测量三次。测量结束后用75%酒精清洁探头，待探头表面干燥后测量下一个模型。

**2. 试验数据处理**

根据每组3个重复，计算平均值（Mean）及标准差（Standard Deviation，SD），结果采用 Mean±SD 形式表示。各组间采用*t*-test检验统计分析。所有的统计分析均为双尾。 *p*<0.05 被认为具有差异显著性，其中\**p*<0.05， \*\**p*<0.01，*p* 值越小越显著。

**4. 实证效果**

下图为测试样品的含水量检测结果



图1 含水量检测结果

结果判定：与空白组相比，阳性对照组含水量出现显著性上升（*p*<0.01），与溶剂对照组相比，样品组含水量显著上升（*p*<0.01），说明检测体系成功有效。

**5. 验证报告**

包括但不限于以下几个方面的内容：

——测试目的

——测试材料

——测试设备

——样品信息

——测试方法

——数据与统计分析

——实验结果

——实验结论

——试验日期

**6. 参考文献**

### 陈亚飞，余汉谋，姜兴涛，肖海鸿. 皮肤保湿剂的功效评价方法[J]. 日用化学品科学, 2015,12（38）.

### Tagami H. Electrical measurement of the hydration state of the skin surface in vivo [J]. The British Journal of Dermatology, Sep; 171 Suppl 3:29-33.

### Sylvie Verdier-Sévrain, Frédéric Bonté. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms[J]. Journal of Cosmetic Dermatology, 6, 75–82.

### Susi Elaine Dal’Belo, Lorena Rigo Gaspar and Patrı´cia Maria Berardo Gonc¸alves Maia Campos. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. Skin Research and Technology 2006; 12: 241–246.

1. **知识产权说明**

 无

**五、采标情况**

**1. 采用国际标准和国外先进标准的程度**

经过检索，国外无针对化妆品保湿功效测试评价实验室方法的技术规范标准。

**2. 与国内同类标准水平的对比**

在化妆品保湿功效评价方面，目前国内有国家轻工业局发布的行业标准QB/T 4256－2011《化妆品保湿功效评价指南》，浙江省保健品化妆品行业协会发布的团体标准TZHCA003-2018《化妆品影响经表皮水分流失测试方法》和TZHCA004-2018《化妆品影响皮肤表面酸碱度测试方法》分别通过使用产品前后人体皮肤角质层含水量，人体皮肤经皮水分散失 (Trans Epidermal Water Loss, TEWL) 和pH值的检测直接或间接评价化妆品保湿功效。上海日用化学品行业协会发布的《化妆品体外保湿功效测试体外重组表皮皮肤模型测试方法》（TSHRH022-2019）中通过对体外重组表皮模型中天然保湿因子主要成分吡咯烷酮羧酸(Pyrrolidone Carboxylic Acid，PCA)与尿刊酸（Urocanic acid，UCA）的含量分析，评价皮肤生物学深层保湿功能。

相比于采用人体试验的方法进行化妆品保湿功效评价，具有周期长、费用高、个体差异大等缺点。本项目中建立的体外方法具有高通量，试验周期可控，结果重复性高的优势，而且体外试验能够突破人体试验方法的局限，可以使用更多的科学技术手段，获得更充分、更深入的实验数据。相比于《化妆品体外保湿功效测试体外重组表皮皮肤模型测试方法》（TSHRH022-2019）中通过检测NMF含量来评价保湿功效，本标准中使用仪器进行角质层含水量测试，操作更加简单快捷，而且本标准中的含水量测试结果更加直观，可以满足不同作用原理的保湿剂的功效评价，产品宣称的适用范围更广。

**六、重大意见分歧的处理**

无

**七、其他应说明的事项**

无

**标准起草组**

**2023.11**