

《化妆品舒缓功效测试-脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测定方法》

编制说明

标准编制组

一、工作简况

（一）任务来源

团体标准《化妆品舒缓功效评价-脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测定方法》（以下简称《舒缓》）项目自 2023 年 2 月起，由广东省微生物研究所、完美（广东）日用品有限公司、北京工商大学、珠海市丝域生物科技有限公司、上海晓创检测技术有限公司、南方医科大学南方医院、中山大学、广州市德创生物科技有限公司、惠州绵俚生物科技有限公司、广东天源生物科技有限公司等单位共同预研、编制，并于 2023 年 3 月 24 日通过广东省化妆品科学技术研究会立项论证，正式立项（GDICST[2023]3 号）。

（二）主要工作过程

2023 年 3 月 24 日，通过立项论证，广东省化妆品科学技术研究会发布了《化妆品舒缓功效评价-脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测定方法》团体标准立项的通知（GDICST[2023]3 号）。

2023 年 6 月，标准工作组开展的标准的技術内容调研，并根据前期研究成果分析，运用标准化经典原理与科学方法，明确标准范围，经广泛讨论、充分论证，形成了工作组草案稿。

2023 年 8 月 2 日，项目召开了启动会暨首次研讨会，广东省化妆品科学技术研究会标准委员会主任/广东省科学院微生物研究所主任谢小保、副主任孙廷丽、工程师陈漪汶，中山大学教授周颢，完美（广东）日用品有限公司技术法规研究专业主任岑燕钊、珠海市丝域生物科技有限公司研发工程师向琴等企业专家代表参加了启动会。标准起草组针对现存问题，提出

标准将采用脂多糖诱导巨噬细胞原理，采取对照实验，通过样品中白细胞 IL-6 的含量差异进一步评估样品舒缓功效，同时起草组系统梳理了标准的框架脉络及主要内容，为后续进一步推进团体标准高质量研制打下坚实基础。

2023 年 9 月 19 日，项目召开了第二次研讨会，广东省化妆品科学技术研究会标准委员会主任委员/广东省科学院微生物研究所谢小保、广东省微生物研究所工程师陈漪汶、广东省微生物研究所工程师郑雅莉、完美（广东）日用品有限公司创新研究专业经理高业成、珠海市丝域生物科技有限公司工程师向琴、上海晓创检测技术有限公司主管李蕊、南方医科大学南方医院皮肤科主任郑跃、广州市德创生物科技有限公司技术总监聂胜、惠州绵俚生物科技有限公司工程师叶振丽、惠州绵俚生物科技有限公司工程师张帆等参与了本次研讨会。编写工作组充分调动自身专业知识，就标准适用范围、术语定义及原理、测定的方法过程及结果等方面进行了讨论，对参编单位提出的部分细节内容意见予以采纳，并表示对于意见反馈提出的培养基分类、LPS 工作浓度、受试物预保护等问题仍需进一步探讨。

2023 年 11 月 1 日，项目于召开了第三次研讨会，广东省化妆品科学技术研究会标准委员会主任委员/广东省科学院微生物研究所主任谢小保、副主任孙廷丽、工程师陈漪汶、工程师郑雅莉，完美（广东）日用品有限公司经理高业成、工程师李腾基，珠海市丝域生物科技有限公司研发工程师向琴，上海晓创检测技术有限公司主管李蕊、工程师李猜、工程师张宇豪，中山大学副教授周颢，广州市德创生物科技有限公司技术总监

聂胜，惠州绵俪生物科技有限公司工程师叶振丽、张帆，广东天源生物科技有限公司研发总监陈玉娇等出席本次研讨会。会上，编写工作组精准界定了“脂多糖”“单核巨噬细胞”等概念，并引领起草组对团标文稿梳理推敲。其中，起草组重点对酶联免疫吸附试验、IL-6 抑制试验、上调率与抑制率、试验有效性验证、阳性对照组与空白对照组、附录 B 等内容展开深入剖析、讨论，并从科学性、严谨性、可读性的角度对试验步骤、细胞培养板规格、储备液存储温度、验证有效性条件等内容提出了更高的要求。《舒缓》团标进一步完善，有效填补了市场需求空白，在构建化妆品舒缓功效测定体系，完善化妆品人体功效测试方法上发挥重要作用。

2023 年 10 月-11 月，编制组对《舒缓》标准文本进行修订和完善，形成标准征求意见稿。

二、 目的意义

在当前全球经济快速发展的背景下，由于繁重的工作和生活压力、过多的紫外电磁辐射、不良的生活习性、长期的口罩佩戴、过度彩妆等多重刺激因素的作用，敏感肌人群的比例正在逐渐上升。据调查显示，我国超过 30% 女性属于敏感肌人群。敏感肌人群的皮肤屏障功能失衡，使其更容易受到外界刺激的负面影响，引发皮肤炎症和神经功能损伤，进一步损害皮肤屏障，从而形成恶性循环。因此具有舒缓功效的化妆品就成为了敏感肌人群的第一选择。而在市场趋势方面，随着消费者对化妆品成分和功效的认知提高，他们也更倾向于选择天然、温和、低刺激性的舒缓产品。舒缓功效也逐渐成为了化妆品产业和功

效评价领域的一大热点。

随着化妆品舒缓功效市场的不断扩大，各种舒缓功效原料和化妆品如雨后春笋般层出不穷，但效果却参差不齐；产品缺乏科学有效的依据，难以令人信服。这不仅损害了消费者的利益，扰乱了市场秩序，也对化妆品产业造成了不利影响。因而有必要制定出统一的舒缓功效测试方法标准，这对规范市场秩序，保护消费者和企业利益，推动化妆品行业健康发展具有重要的意义。

白介素 6 (IL-6) 是一种重要的炎症因子，主要由单核巨噬细胞、T 细胞、角质细胞等分泌，能通过激活 NF- κ B 等炎症信号通路来调节促进炎症反应。目前我国相关的国标、行标、团标和其他技术文件中尚未收录以 IL-6 分泌水平为检测指标评估化妆品舒缓功效的测试方法。为更全面、系统地评估化妆品的舒缓功效，测定 IL-6 的分泌水平具有重要意义。

本文件规定了细菌脂多糖诱导巨噬细胞 RAW 264.7 分泌炎症因子 IL-6 含量的检测方法，可作为化妆品原料以及成品舒缓功效称谓的证据支持之一。

三、标准编制原则和主要内容

(一) 标准编制原则

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。

本文件充分考虑舒缓功效化妆品的行业现状，国家法规对舒缓功效评价的要求等，参照国内外先进研究成果和试验方法，遵循“科学性、实用性、规范性”的原则，制定了去屑产品去

屑功效测试方法。

(二) 标准主要技术内容及确定标准主要内容的依据

本标准规定了化妆品舒缓功效-脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测试的适用范围、规范性引用文件、术语和定义、试验原理、试验材料、试验方法、结果计算、结果评价、实验报告、参考文献等内容。

1. 范围

本文件规定了化妆品舒缓功效-脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测定方法。

本文件适用于具有舒缓功效的化妆品及化妆品原料。

2. 规范性引用文件

列举了本标准引用的国家标准、行业标准和行业规范的名称和标准号。

3. 术语和定义

对“脂多糖、单核巨噬细胞、白细胞介素 6、酶联免疫吸附试验、光密度”进行了定义，以帮助标准的使用者准确地理解标准。

4. 试验原理

本部分阐述了本标准中的试验方法的基本设计原理。

5. 试验材料

本部分规定了试验所采用的细胞系、仪器设备、耗材及参数要求、试剂及制备方法要求。实验室可以根据试验中用到的这些试剂及材料或仪器设备的种类选择适用于试验本身的品牌、配方或型号等，但实验室在使用时应予以质量控制，以保

证结果的准确性。

6. 试验方法

本部分规定了试验的具体步骤。

7. 结果计算

本部分规定了该试验方法结果的计算公式、试验有效性验证要求和结果有效性判定要求，用以指导实验室正确地对实验数据进行分析及计算。

8. 结果评价

本部分规定了试验结果判定标准，用以指导实验室正确地对化妆品以及原料进行舒缓功效评价。

9. 试验报告

本部分给出了报告中应包含的具体内容，用以帮助报告的使用者获得充分的试验信息。

10. 参考文献

对于标准中参考的文献予以列举，方便标准的使用者可以快速查阅文献，帮助理解标准的要求。

四、主要试验（或验证）情况分析

为验证方法的科学性、稳定性及可重复性，对方法进行了试验验证。试验验证中，以一个实验室为基本验证单位，对于志愿进行验证的实验室，根据其能力纳入。

（一）验证试验设计及样品情况

1. 实验室条件

具有细胞培养和舒缓功效评价所需的试验环境、仪器设备和试剂耗材，具有可以使用和操作上述仪器，具有一定的体外

功效评价及细胞培养知识的专业技术人员的实验室。

2. 样品情况

具有舒缓功效成分的化妆品原料和成品共 14 种,规格为 50 mL/瓶。

(二) 脂多糖诱导巨噬细胞炎症因子 IL-6 测定方法

1. 试验方法

(1) 样品重复性试验: 实验人员对样品进行重复性检测。试验样品为来自不同企业的确实具有舒缓功效的化妆品原料和成品样品, 标记为样品 1、2, 分别做 6 次重复性试验。试验统一使用第 4 代 RAW 264.7 细胞展开测试, 实验人员依据标准方法进行试验。实验结束后, 报告 IL-6 抑制率。根据不同时间的 IL-6 抑制率计算平均值和相对标准偏差。

(2) 不同实验人员的比对试验: 采用实验人员间比对的方法进行试验。试验样品为来自不同企业的确实具有舒缓功效的化妆品原料和成品样品, 分别标记为样品 3~8。试验统一使用第 4 代 RAW 264.7 细胞展开测试, 各实验人员分别依据标准方法进行试验。实验结束后, 报告 IL-6 抑制率。根据 4 个检测人员的 IL-6 抑制率计算平均值和相对标准偏差。

(3) 不同实验室的比对试验: 采用实验室比对的方法进行试验。试验样品为来自不同企业的确实具有舒缓功效的化妆品原料和成品样品, 分别标记为样品 9~14。试验统一使用第 4 代 RAW 264.7 细胞展开测试, 各单位分别依据标准方法进行试验。实验结束后, 报告 IL-6 抑制率。根据两家实验室单位的 IL-6 抑制率计算平均值和相对标准偏差。

2. 试验结果分析

(1) 样品重复性验证

实验室人员对相同样品在不同时间进行重复性检测，试验结果证明重复性较好，重复性结果见表 1。

表 1 样品重复性结果

样品	试验序号	IL-6 抑制率	平均值	相对偏差
样品 1	试验 1	50.3%	50.7%	4.2%
	试验 2	53.8%		
	试验 3	47.5%		
	试验 4	51.3%		
	试验 5	48.7%		
	试验 6	52.4%		
样品 2	试验 1	46.3%	42.6%	5.9%
	试验 2	42.1%		
	试验 3	43.4%		
	试验 4	38.9%		
	试验 5	44.7%		
	试验 6	40.3%		

(2) 实验人员间比对

实验人员依据标准草案进行了方法验证试验，以考核实验方法的可靠性。经过试验证明，不同的检测人员对同一样品测试结果的重复性较好。人员比对测试结果见表 2。

表 2 实验人员间比对结果

实验人员 样品	实验人 员 A	实验 人员 B	实验人 员 C	实验人 员 D	平均值	相对偏差
样品 3	74.5%	72.1%	65.0%	61.6%	68.3%	7.6%
样品 4	52.8%	47.4%	44.3%	50.0%	48.6%	6.5%
样品 5	82.1%	84.1%	75.4%	78.2%	79.9%	4.3%
样品 6	52.6%	47.0%	43.9%	49.8%	48.3%	6.7%
样品 7	85.4%	79.9%	85.2%	79.6%	82.5%	3.3%
样品 8	90.9%	88.2%	87.5%	83.8%	87.6%	2.9%

(3) 实验室间比对

实验室依据标准草案进行了方法验证试验，以考核实验方法的可靠性。经过试验证明，不同的实验室对同一样品测试结果的重复性较好。实验室比对测试结果见表 3。

表 3 实验室间比对结果

实验室 样品	实验室 1	实验室 2	平均值	相对偏差
样品 9	39.3%	43.5%	41.4%	5.1%
样品 10	54.6%	56.1%	55.3%	1.4%
样品 11	10.3%	12.3%	11.3%	9.3%
样品 12	98.9%	99.1%	99.0%	0.1%
样品 13	46.1%	42.5%	44.3%	4.0%
样品 14	81.4%	84.8%	83.1%	2.0%

五、知识产权说明

本标准没有涉及专利等知识产权。

六、采用国际标准和国外先进标准的情况

本标准没有采用国际标准。

本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

七、重大分歧意见的处理经过和依据；

无重大分歧意见。

八、废止现行有关标准的建议

无。

九、标准性质的建议说明

建议本标准的性质为推荐性团体标准。

十、与相关国家标准协调情况

本标准符合现行国家法规的要求与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

十一、其他说明

根据《化妆品功效宣称评价规范》（国家药监局，2021 年第 50 号）规定，化妆品舒缓功效依据可以采用人体功效评价试验、消费者使用测试和实验室试验的方式进行评价。本标准规定方法是经过了科学验证和综合评估后制定的实验室试验方法，可行性高，可供检测机构、宣称具有舒缓功效的产品用户和生产厂家参考和使用。标准颁布后，建议加强标准宣贯实施，推进标准的应用，以提供可靠数据证明此类产品的舒缓效果，为企业进行注册与备案等所需的功效宣称、配方研发及保障消费者健康做出贡献。