附件7

化妆品祛斑美白功效测试方法

Test Method for Efficacy Measurement of Skin Whitening Cosmetic Products

第一法 紫外线诱导人体皮肤黑化模型祛斑美白功效测试法

1 范围

本方法规定了通过紫外线诱导人体皮肤黑化模型对化妆品祛斑美白功效的测试方法。

2 定义

2.1 最小红斑量（Minimal erythema dose，MED）：引起皮肤清晰可见的红斑，其范围达到照射点大部分区域所需要的紫外线照射最低剂量（J/m2）或最短时间（s）。

2.2 个体类型角（individual type angle，ITA°）：通过皮肤色度计或反射分光光度计测量皮肤*L\*a\*b\**颜色空间数据来表征人体皮肤颜色的参数，计算公式如下：



2.3 黑素指数（melanin index，MI）：通过测定皮肤表面对特定波长光谱的吸收来表征皮肤中[黑素](https://baike.baidu.com/item/%E9%BB%91%E8%89%B2%E7%B4%A0/542142)含量的参数。

3 试验方法

3.1 受试者的选择

按入选和排除标准选择合格的受试者，确保各测试区最终完成有效例数均不低于30人。

3.1.1 入选标准

3.1.1.1 18~60岁，健康男性或女性；

3.1.1.2 测试部位肤色ITA°值在20°~41°者；

3.1.1.3 无过敏性疾病，无化妆品或其它外用制剂过敏史；

3.1.1.4 既往无光感性疾病史，近期内未使用影响光感性的药物；

3.1.1.5 受试部位的皮肤应无色素沉着、炎症、瘢痕、色素痣、多毛等现象；

3.1.1.6 能够接受测试区域皮肤使用人工光源进行晒黑者；

3.1.1.7 能理解测试过程，自愿参加试验并签署书面知情同意书者。

3.1.2 排除标准

3.1.2.1 妊娠或哺乳期妇女，或近期有备孕计划者；

3.1.2.2 有银屑病、湿疹、异位性皮炎、严重痤疮等皮肤病史者；

3.1.2.3 近1个月内口服或外用过皮质类固醇激素等抗炎药物者；

3.1.2.4 近2个月内口服或外用过任何影响皮肤颜色的产品或药物（如氢醌类制剂）者；

3.1.2.5 近3个月内参加过同类试验或3个月前参加过同类试验，但试验部位皮肤黑化印迹没有完全褪去者；

3.1.2.6 近2个月内参加过其他临床试验者；

3.1.2.7 其他临床评估认为不适合参加试验者。

3.2 受试物

3.2.1 试验产品：祛斑美白化妆品。

3.2.2 阴性对照：黑化区空白对照。

3.2.3 阳性对照：按附录I配方配制的7%抗坏血酸（维生素C）制品（4℃冷藏、铝管避光保存）。

3.2.4 受试物涂抹

由工作人员按照随机表对应测试区进行受试物的涂抹，涂样面积应不小于6cm2，涂样量为2.00±0.05mg/cm2。每个测试区之间的间隔应不小于1.0cm。产品使用频率应根据产品使用说明，如需每天多次涂抹，每次涂抹间隔时间不小于4小时。

3.3 试验部位：优先选择背部作为试验部位，也可选择大腿、上臂等非曝光部位。每个黑化测试区面积应不小于0.5cm2，并应位于每个涂样区域内。

3.4 试验仪器

3.4.1 日光模拟仪：采用具有连续性光谱辐射、能够产生UVA+UVB波长紫外线的氙弧灯日光模拟仪。290nm以下的波长应用适当的过滤系统去除，输出波谱需经过计量检定或校准。

3.4.2 皮肤色度仪：具有可以测量国际照明委员会（CIE）制定的*L\*a\*b\**颜色空间数据的仪器。

3.4.3 皮肤黑素检测仪：具有基于光谱吸收的原理检测皮肤MI值的仪器。

3.5 环境条件

试验过程中视觉评估、仪器测试环节都应在温度为21±1℃、相对湿度为50±10% RH的环境下进行，视觉评估还应在恒定光照（色温5500~6500K的日光灯管或LED光照）条件下进行，受试者需在此环境条件下适应至少30分钟后方可进行评估和测试。

3.6 试验流程

3.6.1 按照要求招募入组志愿受试者，签署书面知情同意书。入组前根据入选和排除标准等询问受试者一系列关于疾病史、健康状况等问题，同时对受试部位皮肤进行符合性评估和肤色测试筛选，并记录。

3.6.2 合格受试者进入建立人体皮肤黑化模型阶段。首先应确定每位受试者试验部位的MED。然后在试验部位选定各测试区，用日光模拟仪在相同照射点按0.75 倍MED剂量每天照射1次，连续照射4天。

3.6.3 照射结束后的4天为皮肤黑化期，不作任何处理。

3.6.4 照射结束后第5天，对各测试区皮肤颜色进行视觉评估和肤色仪器检测，应剔除一致性差的测试区（ITA°值与全部测试区均值相差大于5的区域）。当天开始在各黑化测试区根据随机表涂抹相应受试物。

3.6.5 连续涂抹受试物至少4周，在涂抹后1周、2周、3周和4周应对皮肤颜色进行视觉评估和仪器检测，并记录。

3.6.5.1 视觉评估

由皮肤科医生借助由浅至深肤色的色卡对各测试区肤色进行分别评估，并及时记录评分。

3.6.5.2 皮肤色度仪测量

在各个访视时点，用皮肤色度仪分别测量各测试区域的*L\*、 a\*、 b\** 值，每个区域测试三次，记录并计算ITA°值，ITA°值越大，肤色越浅，反之肤色越深。

3.6.5.3 皮肤黑素检测仪测量

在各访视时点，用皮肤黑素检测仪分别测量各测试区域的MI值，每个测试区测试三次，并记录；MI值越小，表示皮肤黑素含量越低，反之皮肤黑素含量越高。

3.7 数据分析

应用统计分析软件进行数据的统计分析。计量资料表示为：均值±标准差，并进行正态分布检验，符合正态分布要求，自身前后的比较采用配对t检验，否则采用两个相关样本秩和检验；等级资料使用前后的比较，采用两个相关样本秩和检验；测试区和对照区之间比较采用独立样本t检验或秩和检验；同时，计算各参数随时间变化的回归系数（斜率*k*值），显著性水平均为*P<0.05*。

3.8 试验结论

试验产品涂抹前后任一时间点肤色视觉评分差值或ITA°差值与阴性对照相比有显著改善（*P*<0.05），或经回归系数分析整体判断试验产品与阴性对照相比皮肤黑化显著改善时（*P*<0.05），则认定试验产品具有祛斑美白功效性，否则认为试验产品无祛斑美白功效。

4 检验报告

检验报告应包括下列内容：样品编号、名称、生产批号、生产及送检单位、样品物态描述以及检验起止时间等，检验项目、材料和方法、检验结果、结论。检验报告应有授权签字人签字，归档报告应有检验人、校核人和授权签字人分别签字，均需加盖试验机构检验检测专用章或公章。其中检验结果以表格形式给出，如下表1~2：

表1 试验产品及对照检测结果

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 受试物 | 受试者  编号 | 姓名  （首字母） | 性别 | 年龄 | 使用前 | | 使用后 | | | | | | | |
| 1周 | | 2周 | | 3周 | | 4周 | |
| ITA° | MI | ITA° | MI | ITA° | MI | ITA° | MI | ITA° | MI |
| 试验产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 阴性对照 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 阳性对照 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

注：计量资料数据结果表

表2 试验产品及对照检测结果

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 受试物 | 受试者编号 | 姓名  （首字母） | 性别 | 年龄 | 使用前 | 使用后 | | | | | | |
| 1周 | 2周 | | 3周 | | 4周 | |
| 视觉肤色等级 | 视觉肤色等级 | 视觉肤色等级 | | 视觉肤色等级 | | 视觉肤色等级 | |
| 试验产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  最小值Min  中位数Median  最大值Max |  |  |  |  |  |  | |  | |  | |
| 阴性对照 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  最小值Min  中位数Median  最大值Max |  |  |  |  |  |  | |  | |  | |
| 阳性对照 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  最小值Min  中位数Median  最大值Max |  |  |  |  |  | |  | |  | |  |

注：等级资料数据结果表

附录I 7%抗坏血酸（维生素C）阳性对照物的制备方法

1. 在紫外线诱导人体皮肤黑化模型祛斑美白功效试验中，应同时测定按表3配方制备的阳性对照物，作为试验质量控制参考。

2. 阳性对照为7%抗坏血酸（维生素C）制品。

3. 阳性对照物的配方和制备方法见下表3：

表3 7%抗坏血酸（维生素C）的制备

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | 成分 | 重量比% |
| A相： |  |  |
| A1 | 水（water） | 8.65 |
| 甘油（glycerin） | 23.00 |
| 丙二醇（propylene glycol） | 6.00 |
| 羟苯甲酯（methylparaben） | 0.20 |
| DETA 二钠（disodium EDTA） | 0.05 |
| A2 | 水（water） | 13.93 |
| 抗坏血酸（维生素C）（ascorbic acid） | 7.00 |
| 氢氧化钾（potassium hydroxide） | 4.07 |
| B相： |  |  |
| B1 | PEG/PPG-18/18聚二甲基硅氧烷（PEG/PPG-18/18 dimethicone） | 20.00 |
| 聚二甲基硅氧烷/乙烯基聚二甲基硅氧烷交联聚合物（dimethicone (and) dimethicone/vinyl dimethicon crosspolymer） | 5.00 |
| 苯基聚三甲基硅氧烷（phenyl trimethicone） | 4.00 |
| B2 | 杏仁油（prunus armeniaca(appicot) kernel oil） | 3.00 |
| 羟基丙酯（propylparaben） | 0.10 |
| C相： |  |  |
|  | 锦纶-12（nylon-12） | 5.00 |

注：1. 制备方法：将A1和B2分别加热至65~70°C，直至完全溶解，然后冷却至室温；再将A2加入到A1中，搅拌均匀（混合物pH值需在6.0左右）；将B1加入到B2中，室温下以2000~2500rpm的转速搅拌5分钟进行均质。A、B相分别均质好后，以3000~4000rpm将A相加入到B相中，再以8000rpm搅拌5分钟进行乳化。乳化完成后，室温条件下加入C相，然后以8000~10000rpm搅拌10分钟进行均质，完成。

2. 将配制物分装到铝管中，4°C保存，保质期为6个月。

3. 本配方制备物仅限于试验用途，不能用作商业目的。

第二法 人体开放使用祛斑美白功效测试法

1 范围

本方法规定了对化妆品祛斑美白功效的人体开放使用试验的测试方法。

2 定义

2.1 个体类型角（individual type angle，ITA°）：通过皮肤色度计或反射分光光度计测量皮肤*L\*a\*b\**颜色空间数据来表征人体皮肤颜色的参数，计算公式如下：



2.2 黑素指数（melanin index，MI）：通过测定皮肤表面对特定波长光谱的吸收来表征皮肤中[黑素](https://baike.baidu.com/item/%E9%BB%91%E8%89%B2%E7%B4%A0/542142)含量的参数。

3 试验方法

3.1 受试者的选择

按受试者入选和排除标准选择合格的受试者，并按随机表分为试验组和对照组，在受试部位左右两侧色斑对称的情况下，可分为试验产品侧和对照产品侧，确保最终完成有效例数不少于30人/组（侧）。

3.1.1 入选标准

3.1.1.1 18~60岁，健康女性或男性；

3.1.1.2 受试部位至少有一个和周围邻近皮肤的ITA°差值大于10°的明显色斑，且直径不小于3mm（不能是临床上使用外用制剂难以改善的雀斑、色素痣等）；

3.1.1.3 无过敏性疾病，无化妆品及其它外用制剂过敏史；

3.1.1.4 既往无光感性疾病史，近期内未使用影响光感性的药物；

3.1.1.5 受试部位皮肤应无胎记、炎症、瘢痕、多毛等现象；

3.1.1.6 能够理解试验过程，自愿参加试验并签署书面知情同意书者。

3.1.2 排除标准

3.1.2.1 妊娠或哺乳期妇女，或近期有备孕计划者；

3.1.2.2 患有银屑病、湿疹、异位性皮炎、严重痤疮等皮肤病史者；或患有其他慢性系统性疾病者；

3.1.2.3 近1个月内口服或外用过皮质类固醇激素等抗炎药物者；

3.1.2.4 近2个月内使用过果酸、水杨酸等任何影响皮肤颜色的产品或药物（如氢醌类制剂）者；

3.1.2.5 近3个月内试验部位使用过维A酸类制剂或进行过化学剥脱、激光、脉冲光等医美治疗者；

3.1.2.6 不可避免长时间日光暴露者；

3.1.2.7 近2月内参加过其他临床试验者；

3.1.2.8 其他临床评估认为不适合参加试验者。

3.1.3 受试者限制

3.1.3.1 在试验期间受试部位必须使用试验机构提供的试验产品或对照产品，不能使用其他任何具有祛斑美白功效或者可能对测试结果产生影响的产品；

3.1.3.2 在试验期间不能有暴晒情况，并应做好试验部位的防晒工作。

3.2 受试物

3.2.1 试验产品：祛斑美白化妆品。

3.2.2 对照产品：不含祛斑美白功效成分的相应试验产品基质配方产品，与试验产品平行测试。

3.2.3 使用方法：由工作人员按照随机表发放试验产品和对照产品，并根据使用说明对受试者进行使用指导，确保受试者正确、连续使用产品8周；受试部位左右随机分侧使用两组产品时，需采用能够确保受试者正确区分和使用两侧试验产品和对照产品的监控措施（如在试验机构工作人员的指导、监督下使用等），并在试验报告中说明产品使用的监控方式。要求受试者记录使用时间及使用过程中的任何不适感和不良反应症状。

3.3 试验部位：根据产品使用说明确定需要使用祛斑美白化妆品的试验部位（如面部）。

3.4 仪器设备

3.4.1 皮肤色度仪：具有可以测量国际照明委员会（CIE）制定的*L\*a\*b\**颜色空间数据的仪器。

3.4.2 皮肤黑素检测仪：具有基于光谱吸收的原理检测皮肤MI值的仪器。

3.4.3 标准图像拍摄设备：能够拍摄正面、左侧和右侧面部或其它受试部位图像，具有可见光/偏振光滤镜的拍摄系统。

3.5 环境条件

试验结果观察应在温度为21±1°C、相对湿度为50±10% RH的恒定环境下进行，视觉评估还应在恒定光照条件（色温5500~6500K的日光灯管或LED光照）下进行，并且所有受试者应在此环境条件下适应至少30分钟后方可进行评估和测试。

3.6 试验流程

3.6.1 按照要求招募入组志愿受试者，签署书面知情同意书。入组前根据入选和排除标准等询问受试者一系列关于疾病史、健康状况等问题，同时对试验部位色斑等皮肤状况进行符合性评估和肤色测试筛选，并记录。

3.6.2 对入组的合格受试者进行产品使用前皮肤基础值评估和测试，包括视觉评估、仪器测试和标准图像拍摄，并记录；产品使用后2周、4周、8周再次进行相同的评估和测试。

3.6.2.1 视觉评估

在各访视时点，由经过培训的皮肤科医生借助由浅至深肤色的色卡对试验部位色斑区进行肤色评估，并记录评分。

3.6.2.2 皮肤色度以测量

在各访视时点，用皮肤色度仪分别测量试验组（侧）及对照组（侧）试验部位色斑区皮肤的*L\*、 a\*、 b\** 数值，每个测试区测试三次，记录并计算ITA°值。测试皮肤区域ITA°值越大，肤色越浅，反之越深。

3.6.2.3 皮肤黑素检测仪测量

在各访视时点，用皮肤黑素测试仪分别测量试验组（侧）及对照组（侧）试验部位色斑区皮肤的MI值，每个测试区测试三次，并记录；测试区MI值越小，肤色越浅，反之越深。

3.6.2.4 图像摄取和分析

在各访视时点，采用皮肤图像拍摄系统拍摄标准图像。用图像分析软件分析受试部位不同访视时点相关参数（色斑光密度均值、色斑面积占比），并记录；受试部位图像色斑光密度均值越小，肤色越浅。

3.7 数据统计

应用统计分析软件进行数据的统计分析。计量资料表示为：均值±标准差，并进行正态分布检验，符合正态分布要求，自身前后的比较采用配对t检验，否则采用两个相关样本秩和检验；等级资料使用前后的比较，采用两个相关样本秩和检验；试验产品和对照组之间比较采用独立样本t检验或秩和检验。上述统计分析均为双尾检验，显著性水平为α=0.05。

3.8 试验结论

试验组（侧）使用产品前后任一访视时点视觉评估、仪器测试或图像分析相关参数中任一参数的变化结果相差显著（*P*<0.05），或使用样品后测试值结果显著优于对照组（侧）结果时（*P*<0.05），则认定试验产品有祛斑美白功效，否则认为试验产品无祛斑美白功效。

4 检验报告

检验报告应包括下列内容：样品编号、名称、生产批号、生产及送检单位、样品物态描述以及检验起止时间等，检验项目、材料和方法、检验结果、结论。检验报告应有授权签字人签字，归档报告应有检验人、校核人和授权签字人分别签字，均需加盖试验机构检验检测专用章或公章。其中检验结果以表格形式给出，如下表1~3：

表1 试验产品及对照检测结果

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 受试物 | 受试者  编号 | 姓名  （首字母） | 性别 | 年龄 | 使用前 | | 使用后 | | | | | |
| 2周 | | 4周 | | 8周 | |
| ITA° | MI | ITA° | MI | ITA° | MI | ITA° | MI |
| 试验产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 对照产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

注：计量资料数据结果表

表2 试验产品及对照检测结果

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 受试物 | 受试者  编号 | 姓名  （首字母） | 性别 | 年龄 | 使用前 | | 使用后 | | | | | |
| 2周 | | 4周 | | 8周 | |
| 色斑光密度均值 | 色斑面积占比 | 色斑光密度均值 | 色斑面积占比 | 色斑光密度均值 | 色斑面积占比 | 色斑光密度均值 | 色斑面积占比 |
| 试验产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 对照产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  平均值  标准差SD |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

注：计量资料数据结果表

表3 试验产品及对照检测结果

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 受试物 | 受试者编号 | 姓名  （首字母） | 性别 | 年龄 | 使用前 | 使用后 | | |
| 2周 | 4周 | 8周 |
| 视觉肤色等级 | 视觉肤色等级 | 视觉肤色等级 | 视觉肤色等级 |
| 试验产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  最小值Min  中位数Median  最大值Max |  |  |  |  |  |  |  |
| 对照产品 | 01  02  03  04  05  06  07  08  09  10  ……  最小值Min  中位数Median  最大值Max |  |  |  |  |  |  |  |

注：等级资料数据结果表