ICS 点击此处添加 ICS 号
CCS 点击此处添加 CCS 号

T/CASME

中 国 中 小 商 业 企 业 协 会 团 体 标 准

T/CASME XXXX—2023

化妆品 保湿功效的测定 鱼胚法

Cosmetics Determination of moisturizing effect Fish embryo method

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2023－XX－XX 发布　　202X－XX－XX 实施

中国中小商业企业协会　　发 布

目　　次

前言 II
引言 III
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　术语和定义 1
4　缩略语 1
5　测定材料 1
5.1　测定用鱼 1
5.2　主要测定仪器 1
5.3　主要测定材料 1
6　测定操作 2
7　计算结果 2
8　判定依据 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》的规定起草。

本文件由广州鲁比生物科技有限公司提出。

本文件由中国中小商业企业协会归口。

本文件起草单位：XXX、XXX、XXX。

本文件主要起草人：XXX、XXX、XXX。

引　　言

斑马鱼表皮具有一定的渗透压耐受范围，超过耐受范围将产生脱水现象，因此用高渗透溶液可以建立斑马鱼补水保湿模型。斑马鱼用氯化钠处理，由于渗透压的原因皮肤表面将会失水皱缩，导致斑马鱼整体因脱水皱缩而变小，通过对尾部长度的影响评价化妆品的补水保湿效果。

化妆品 保湿功效的测定 鱼胚法

1 范围

本文件规定了化妆品 保湿功效的测定 鱼胚法的术语和定义、缩略语、试验材料、测定操作、计算结果、判定依据。

本文件适用于化妆品的保湿功效测定评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

化妆品安全技术规范（2015版）

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件

hpf ：受精后小时（hour post fertilization）

5 测定材料

5.1 测定用鱼

本次测试所用斑马鱼为AB系斑马鱼。

5.2 主要测定仪器

a) 斑马鱼养殖单元。
b) 连续变倍体式显微镜。
c) 曲线控制生化培养箱。
d) SQP 万分之一电子天平。

5.3 主要测定材料

氯化钠（2%）、透明质酸钠（0.2%）。

5.3.1 溶液配制

——空白对照：标准稀释水

称量NaCl（3.5g）、NaHCO3（0.2g）、KCl（0.05g）和CaCl2（0.1175g），加入蒸馏水定容至1000mL，真空过滤器（孔径0.2μM）过滤，高压灭菌锅灭菌，常温备用。

——模型对照组：2.0%氯化钠溶液

称量1000.0mg的氯化钠于50.0mL EP管中，加入50mL的标准稀释水溶解。

——阳性对照组：0.2%透明质酸钠

称量10.0mg的透明质酸钠于10.0mL EP管中，加入10mL的2%氯化钠溶液溶解。

——样品组：

用2%氯化钠溶液配制溶液。

6 测定操作

6.1 测定设置空白对照组、模型对照组、阳性对照组和不同浓度的样品组，每组 10 尾。
6.2 随机挑选发育正常的 72hpf 野生型斑马鱼胚胎于载玻片上使其平躺，体式显微镜下局部拍取斑马鱼尾鳍长度（拍摄视野为尾鳍缺口处至整条尾巴），记为 0min，之后各组分别采用此方法进行拍照处理。
6.3 将斑马鱼胚胎转移至 96 孔细胞培养板中，1 尾/孔，每孔加入 150μL 溶液，置于 28℃恒温培养箱孵育 20min。20min 后，将斑马鱼置于载玻片上使其平躺，体式显微镜下局部拍取斑马鱼尾鳍长度，记为 20min，之后各组分别采用此方法进行拍照处理。
6.4 用 Image J 测量斑马鱼尾部长度。
6.4.1 导入要测量的斑马鱼胚胎照片，如图 1。

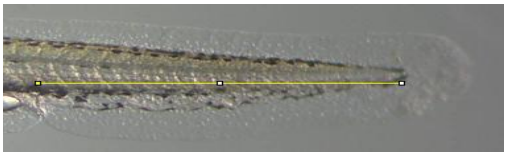

图 1

6.4.2 选择直线工具，测量范围为尾鳍缺口处至整条尾巴，如图 2。

图 2

6.4.3 从尾鳍缺口处按住鼠标左键画直线，直到尾巴末端（透明鱼鳍部分不要），如图 3。

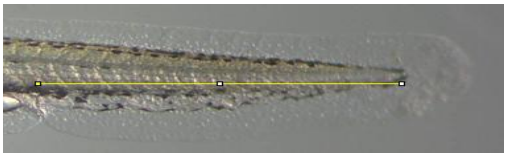

图 3

6.4.4 点击 Ctrl+m，取 length 值为测量出来的尾巴长度。

Area	Mean	Min	Max	Angle	IntDen	RawIntDen	Length
553	115.74	69	175.67	0	64005.67	64005.67	552

图 4

7 计算结果

按照公式计算斑马鱼尾部长度收缩率（%）

$$尾部长度收缩率(\%) = \frac{Length\ 脱水前 - Length\ 脱水后}{Length\ 脱水前} \times 100\%$$

使用GraphPad Prism 8统计分析软件（或类似功能的其它工具）对各组别中斑马鱼尾部长度收缩率进行统计分析，数值用均值±标准误（Mean ± SEM）表示。

8 判定依据

测试指标	判定标准
尾部长度收缩率（%）	受试物与模型对照组相比，斑马鱼尾部长度收缩率越小，且具有显著性差异（$p<0.05$）说明受试物在该受试浓度下具有抑制斑马鱼脱水的能力。

参 考 文 献

[1]Gault WJ, Enyedi B, Niethammer P. Osmotic surveillance mediates rapid wound closure through nucleotide release. J Cell Biol. 2014;207(6):767-782.