

奈米標章產品驗證制度

奈米抗菌紡織品驗證規範

文件編號：TN-051

版次：1.0

制定/修正紀錄

版次	日期	制定/修正摘要	審查/核准
1.0	102.11.26	規範制定	技術評議會 102 年度第 4 次會議通過。

前 言

奈米技術產品為一新興科技產品，21 世紀全球各先進國家均積極研發生產，市場上各類型之奈米產品亦日益增多，為提升奈米技術產品之品質與形象，保障民眾消費權益，進而促成國內奈米產業之健全發展，特由經濟部主導，工業局主管，並委由工業技術研究院推動「奈米標章產品驗證制度」。

奈米技術產品均為新興產品，多無相關之產品及檢測標準可供遵循，故由奈米標章專業執行機構敬邀國內相關學者專家，組成工作小組，起草制定產品規範草案，並予以檢測確認。產品規範草案完成後，經「奈米標章技術評議會」評議同意，送請「奈米標章推行審議會」審議通過後公告，作為奈米標章產品檢測確認及審查之依據。

奈米標章對奈米技術產品之驗證，主要重點包括產品的奈米尺寸、奈米功能及其他要求：(1)奈米尺寸：確認為真正之奈米技術產品，其奈米之粒徑尺度需小於 100 nm，或具有奈米結構者；(2)奈米功能：應較原傳統產品增加新功能，或增強原有功能者。如奈米技術紡織品，可能增加抗菌功能，或增強抗紫外線、保暖、散熱...等功能者；(3)其他要求：包括產品安全仍由主管機關審理。奈米技術產品如係法定管制品者，另需符合相關法規之要求；同時產品耐久性亦需符合產業一般要求。

奈米標章驗證產品規範之制定，主要是針對上述奈米尺寸及奈米功能之品質要求及試驗方法制定之。並為確保產品之品質，依產品規範之試驗方法，將廠商所申請之產品，交由具公信力之檢測機構確認其測試結果符合產品規範之要求。

新興之奈米抗菌技術應用於紡織用品，可在抑菌過程中保有長效，將原抗菌材料奈米化後可大幅增加其表面積，可有效的提高抗菌的效率。此產品規範之抗菌率係指試驗細菌在試驗樣品上經 18~24 小時培養所減少細菌數目之百分比，同時並須符合紡織品之安全性要求，以保護消費者，並藉奈米標章之驗證以供消費者識別良莠。

奈米標章驗證 產品規範	奈米抗菌紡織品	編號	TN-051
			
<p>1. 適用範圍</p> <p>本規範適用於具抗菌功能之非醫療用紡織品，並具其抗菌功能源自於奈米材料。</p> <p>2. 參考資料</p> <p>2.1 CNS 1528：1993 乙醇(95%)(試藥)。</p> <p>2.2 CNS 7302：1986 化學分析用玻璃皿。</p> <p>2.3 CNS 12915：一般織物試驗法。</p> <p>2.4 CNS 14393-12：2005 醫療器材生物性評估—第 12 部：樣品製備及參考材料。</p> <p>2.5 CNS 14945：2005 一般用途抗菌紡織品性能評估。</p> <p>2.6 CNS 14975：2006 奈米材料詞彙。</p> <p>2.7 CNS 17025：2007 測試與校正實驗室能力一般要求。</p> <p>2.8 TN-013 奈米銀抗菌家飾用紡織品驗證規範</p> <p>2.9 TN-017 奈米銀抗菌襪驗證規範</p> <p>2.10 TN-024 奈米銀抗菌衣著用紡織品驗證規範</p> <p>2.11 ISO 16700：2004(E) Microbeam Analysis — Scanning Electron Microscopy — Guidelines for Calibrating Image Magnification。</p> <p>2.12 ISO 10993-10：2002 Biological evaluation of medical devices Part 10：Tests for Irritation and Delayed-type Hypersensitivity。</p> <p>2.13 ISO 10993-12：2007 Biological Evaluation of Medical Devices-Part 12：Sample Preparation and Reference Materials。</p> <p>2.14 ISO 20743：2013 Textiles -- Determination of antibacterial activity of antibacterial finished products。</p> <p>2.15 ISO 22309：2006：Microbeam Analysis -- Quantitative Analysis Using Energy -Dispersive Spectrometry (EDS)。</p> <p>2.16 JIS L1902：2008 Testing Method for Antibacterial of Textile。</p> <p>2.17 JEC301：2007 抗菌防臭加工纖維製品認證基準。</p> <p>2.18 AATCC-100：2012 Antibacterial finishes on textile materials：Assessment of。</p> <p>2.19 AATCC-135：2012 Dimensional change of fabrics after home laundering。</p> <p>2.20 OECD guideline 420：2001 Acute Oral Toxicity：Fixed Dose Procedure。</p> <p>2.21 OECD guideline 423：2001 Acute Oral Toxicity：Acute Toxic Class Method。</p> <p>2.22 OECD guideline 425：2008 Acute Oral Toxicity：Up-and-Down Procedure。</p>			
公布日期 102 年 11 月 26 日	奈米標章產品驗證制度印行	修正日期 年 月 日	

3. 用語釋義

3.1 奈米抗菌紡織品：添加奈米材料之非醫療用紡織品，而使其具有抗菌之功能。

3.2 抗菌性：抑制產品表面細菌增殖的狀態。

3.3 抗菌率：抗菌加工製品與無加工製品上的細菌，經接種培養後之菌數差異百分比。

3.4 非醫療用紡織品類型參考(a)：

I類：衣著用紡織品（衣服、褲子、襪子等）

II類：家飾用紡織品（窗簾、沙發布、寢具等）

III類：產業用紡織品（車蓬、電器套等）

IV類：一次使用拋棄型（手套、衛生棉、尿布等）

參考衛生署醫療器材資料庫 <http://mdlicense.itri.org.tw/DB/MDCClassification.aspx>

4. 判定基準

奈米抗菌紡織品須依據本規範規定之方法進行測試並符合下列要求水準，方可取得奈米標章。

項目	特性	要求水準		備註
奈米尺寸	抗菌所使用之奈米材料的粒徑及成分。	奈米材料成分須確認，其平均粒徑任一維在 100 nm 以下。		申請者必須檢附皮膚刺激性(PII 值小於 2)或過敏性(無過敏反應)之動物實驗報告和產品中添加物之經口服急性毒性報告無異常現象之認證實驗室報告正本，或是原料廠商所提供之第三者檢驗報告副本及保證書。
奈米功能	依本規範規定之試驗方法，對特定之金黃色葡萄球菌及肺炎桿菌之抗菌率。	水洗試驗前，抗菌率須 99 % 以上，依據不同類型(a)做水洗試驗後，抗菌率須 90 % 以上。		
其他要求	耐久性及其類型	類型	耐水洗	
		I類	20次	
		II類	10次	
		III類	5次	
IV類	0次			
	該產品應有之功能特性，符合相關之 CNS 要求。若無相關之 CNS 則需符合產業公認之規範標準要求。	須優於或符合該產品原特性之規範標準要求。		

5. 試驗方法

5.1 奈米尺寸（詳見附錄 1「奈米抗菌紡織品之奈米尺寸試驗方法」）：

以 TEM 或 SEM 或 AFM 鑑定奈米材料之特徵尺寸，並以 EDS 鑑定產品所含奈米材料之成分。

5.2 奈米功能（詳見附錄 2「奈米抗菌紡織品之抗菌功能試驗方法」）：

以空白或對照樣品與測試樣品於一定培養條件下，對測試細菌培養後菌數之

比較，以計算抗菌率。

5.3 其他要求（耐水洗性、皮膚刺激性、口服急性毒性）：

耐水洗性詳見附錄 3；皮膚刺激性詳見附錄 4；口服急性毒性詳見附錄 5。

6. 試驗報告

6.1 報告內容應符合 CNS 17025：2007 [測試與校正實驗室能力一般要求]第 5.10 節之要求。

6.2 對於奈米尺寸、奈米功能及其他要求之試驗報告應包含充分數據資料，必要時附加照片以茲佐證。

6.3 奈米尺寸之試驗報告至少應包含以下內容：

(1) 所鑑定產品所含奈米材料成分。

(2) 所鑑定產品所含奈米材料尺寸。

6.4 奈米功能與耐久性之試驗報告至少應包含以下內容：

(1) 樣品名稱。

(2) 試驗用菌株。

(3) 抗菌率。

(4) 試驗條件及測試結果。

7. 標示

符合奈米標章之產品應標示下列附加事項：

(1) 認可產品名稱

(2) 奈米標章及認可之產品功能說明（試驗用菌株、抗菌率與耐水洗性後之抗菌率）

(3) 產品含奈米抗菌紡織品之部位及材料

(4) 產品使用應注意事項

(5) 其他相關法規要求事項

8. 附則

本規範由工作小組制定，經奈米標章技術評議會審議核准後發行，修正時亦同。

附錄 1

奈米抗菌紡織品奈米尺寸試驗方法

1. 概要

本試驗方法係以穿透式/掃描式電子顯微鏡或原子力顯微鏡等對產品表面含 100 nm 以下奈米原料之尺寸測定法，及以能量散射光譜儀測定奈米原料的成分。

2. 裝置及材料

2.1 量測儀器

- (1) 穿透式/掃描式電子顯微鏡：參考 ISO 16700：2004(E) Microbeam analysis – Scanning electron microscopy – Guidelines for calibrating image magnification，及 TNS M017001-2012 奈米產品：表面粒子尺度測定法—掃描式電子顯微鏡。
- (2) 原子力顯微鏡：參考 ASTM E2382-04 Guide to Scanner and Tip Related Artifacts in Scanning Tunneling Microscopy and Atomic Force Microscopy。
- (3) 能量散射光譜儀：參考 ISO 22309：2011 Microbeam analysis – Quantitative analysis using energy-dispersive spectrometry (EDS) for elements with an atomic number of 11 (Na) or above。

2.2 樣品製備

- (1) 掃描式電子顯微鏡：將送測之奈米抗菌紡織品，裁切至適合掃描式電子顯微鏡量測的大小，以導電膠帶固定於量測儀器的樣品座，表面可視需要鍍導電層後再進行尺寸和成分分析。
- (2) 穿透式電子顯微鏡：將欲分析之樣品厚度處理至電子束可穿透厚度後進行分析。
- (3) 原子力顯微鏡：選取經抗菌處理試片，檢測其表面之結構。

3. 原理

3.1 掃描式電子顯微鏡

利用高能量的電子與樣品產生的交互作用作為基礎而獲得樣品表面的形貌影像。樣品表面影像量測操作方法主要是利用 0.1 kV~30 kV 左右的加速電壓使電子鎗產生電子束，此電子束會經由多組電磁透鏡作聚集並經由掃描線圈來控制偏折程度以對樣品表面進行二度空間的掃描，此來回掃描的動作會設計得與陰極射線管 (Cathode Ray Tube, CRT) 上的掃描動作同步。而由於電子與樣品作用會激發出以二次電子 (Secondary Electron, SE) 或背向散射電子 (Back Scattered Electron, BSE)，電子被偵測器偵測後，經由訊號放大送到 CRT，CRT 上的亮度與對比即根據所偵測到電子訊號的強弱而作改變，如此電子束掃描樣品任意點所產生的電子訊號強弱將可對應到 CRT 螢光幕上對應點的亮度，因此樣品的表面形貌影像即可藉由亮點同步成像方式呈現出來。

3.2 穿透式電子顯微鏡

利用高能量的電子 (200 keV) 與樣品產生的交互作用作為基礎而獲得樣品的微結構影像。在穿透式電子顯微基本成像原理中，低、中倍率 (倍率適用範圍為 2500 X

~150 kX) 之 TEM 顯微成像主要是利用穿透式電子束成像，因而形成明視野像 (Bright Field)，此種影像主要源自於振幅對比 (Amplitude Contrast)。而高分辨電子顯微影像成像 (倍率適用範圍為 200 kX~1.0 MX) 是利用穿透電子束與繞射電子束交互干涉而成週期性條紋或是晶格影像。其成像原理是來自於各電子束間的相位差，因此所產生的對比稱之為相位對比 (Phase Contrast)。接著利用電荷耦合元件攝相機 (Charge Coupled Device Camera) 紀錄影像，最後再根據影像利用分析軟體作為所欲量測輪廓兩點間之水平距離的量測。

3.3 原子力顯微鏡

探針貼近試片表面時，探針與試片之間的作用力大小反應於懸臂的形變上，藉由導入雷射光束並探測懸臂形變量，將訊號送至回饋控制電路處理並輸出至 Z 軸掃描器，可以得到等作用力的高度輪廓，加以 X 軸-Y 軸掃描器做探針-試片間相對性位移，即描繪出試片微區的表面形貌。經由表面形貌數據的統計，可以萃取出表面粗糙度、粒徑大小等參數。

3.4 能量散佈光譜儀

能量散佈光譜儀 (Energy Dispersive Spectrometer, EDS) 之原理係當原子的內層電子受到外來電子束的激發而脫離軌道時，外層電子將躍遷至內層軌道並釋放特定能量的 X 光。由於各元素之能階分佈不同，因此藉由分析此特性 X 光能量或波長即可用以鑑定材料的組成元素。

4. 注意事項

- 4.1 本檢測法為乾式量測法，毋須浸泡於溶液中。掃描式電子顯微鏡僅能量測顯露於試片表面之奈米粒子，如奈米粒子在塗層內部，須先進行樣品處理。
- 4.2 檢測設備若須抽真空，易污染真空腔者，應作特殊處理。
- 4.3 檢測設備須使用具追溯的標準樣本先行驗證，以確認檢測設備的準確性。
- 4.4 如必要時可將試片鍍導電層，以增加系統的判讀性。

5. 判定

奈米材料成分須確認，且其任一維平均尺寸在 100 nm 以下。

附錄 2

奈米銀抗菌衣著用紡織品之抗菌功能試驗方法

1. 試驗前準備

1.1 藥品及器材：

- (1) 乙醇：95% 試藥 CNS 1528[乙醇(95%)(試藥)]。
- (2) 洋菜(Agar)：微生物試驗用者。
- (3) 肉精(Beef Extract)：微生物試驗用者。
- (4) 蛋白胨(Peptone)：微生物試驗用者。
- (5) 氯化鈉(NaCl)：試藥特級
- (6) 濕潤劑：Sodium Dioctyl Sulfosuccinate 或其他濕潤劑。
- (7) 試劑水：蒸餾水或去離子水。
- (8) 無菌培養皿：拋棄式培養皿或玻璃培養皿。玻璃培養皿須符合 CNS 7302 第 5.4 節之規定，內徑約為 9 cm，深度 1.5~2.0 cm，皿底之內外應平坦，無氣泡，無刮傷或其他缺點。
- (9) 高壓滅菌釜：可在溫度 121°C 及壓力 103 kPa (1.05 kg/cm²) 下連續滅菌 15 分鐘以上者。
- (10) 量分光光度計：能在 660 nm 波長測量者。
- (11) 接種環：白金耳或丟棄式接種環。
- (12) 培養箱：能保持溫度(37 ± 2) °C。
- (13) 可調式恆溫震盪槽：溫度精度 ± 2°C，震盪數(110 ± 10) rpm。
- (14) 三角錐瓶：耐高溫高壓[溫度 121°C 及壓力 103 kPa (1.05 kg/cm²)]。
- (15) 玻璃試管：耐高溫高壓[溫度 121°C 及壓力 103 kPa (1.05 kg/cm²)]。
- (16) 無菌操作台：生物學用 II 級之生物學安全操作台。
- (17) 純棉無加工織物：必須先行確認無滅菌效果且細菌可在織物上正常生長(若無對照樣品時可以此當作空白組)。
- (18) 試管震盪器：轉速可調式，轉速 1800~2500 rpm。
- (19) 中性緩衝液：0.85% 氯化鈉或其他適當之中性緩衝溶液(SCDLP, Soybean-casein digest broth with lecithin and polysorbate 80)。
- (20) 烘箱：溫度可調式，溫度精度 ± 2°C，溫度控制範圍室溫至 100°C 或以上。
- (21) 菌數計數器：可計數至 4 位數。
- (22) 洗衣機、烘衣機與洗劑：應符合本附錄 3.2 操作之條件。

1.2 試驗菌株

- (1) 金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (BCRC* 10451, ATCC** 6538P)
 - (2) 肺炎克雷伯氏菌 *Klebsiella pneumoniae* (BCRC 16082, ATCC 4352)
- 註* BCRC (Bioresource Collection and Research Center)：財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心。
- 註** ATCC (American Type Culture Collection)：美國菌種中心。

2. 試片製作與培養基調製

2.1 將試驗樣品*剪成為直徑 48 mm 之圓形試片，依足夠吸 1 mL 菌液的試片片數作為一個測試樣(報告須註明試片片數)，每一測試菌種須準備 3 個對照樣品(無加工試料)及 3 個測試樣品(加工試料)，若無對照樣品，則以純棉無加工織物做為空白樣品代替。

註*：樣品選取時應注意：選取外觀無破損或異常且產生功能之主要部位。

2.2 培養基調製

Nutrient、Trypticase Soy 或 Brain-Heart Infusion agar 配方粉末均為合適的培養基。

2.2.1 例 1—Nutrient Agar 培養基(NA)配製法：

蛋白胨 5 g；肉精 3 g，洋菜 15 g；加蒸餾水至 1000 mL。加熱使其溶解，以 0.1 N 氫氧化鈉(NaOH)水溶液調整 pH 值到 (6.8 ± 0.1) *。放入高溫高壓滅菌釜滅菌備用，滅菌後之培養基應該置於恆溫水槽待冷卻至 45~50 °C，方可使用。若無法完全使用完，應置於 5~10 °C 環境中保存，最多放置 1 個月。

2.2.2 例 2—Nutrient Broth 培養基(NB)配製法：

蛋白胨 5 g；肉精 3 g；加蒸餾水至 1000 mL。加熱使其溶解，以 0.1 N 氫氧化鈉(NaOH)水溶液調整 pH 值到 (6.8 ± 0.1) *。放入高溫高壓滅菌釜滅菌備用。若無法完全使用完，應置於 5~10 °C 環境中保存，最多放置 1 個月。

註*：培養基若為自行調製者須確認 pH 值。

2.2.3 例 3—SCDLP Broth 配製法：

Casein peptone 17 g；大豆蛋白 3 g；氯化鈉 5 g；磷酸二氫鉀 2.5 g；葡萄糖 2.5 g；卵磷脂(Lecithin) 1 g；polysorbate 80 7.0 g；加蒸餾水至 1000 mL，調整 pH 值到 (7.0 ± 0.2) (25°C)。放入高溫高壓滅菌釜滅菌備用。若無法完全使用完，應置於 5~10 °C 環境中保存，最多放置 1 個月。

2.3 操作前滅菌：

試驗樣品、三角錐瓶、試管、吸管(玻璃才需要，丟棄式不需要)、培養皿(玻璃培養皿才需要，丟棄式不需要)、培養基、蒸餾水等以高壓滅菌釜滅菌備用。

2.4 試驗前菌種前培養與菌濃度測定

2.4.1 將凍乾管保存之菌種依指示將菌種活化。以滅過菌之白金耳或直接使用丟棄式接種環，刮取活化之菌種於 NA(或適當之固體培養基)進行劃線培養，於 (37 ± 2) °C 培養箱培養 24~48 小時，於 5~10 °C 環境中保存(保存期限不得超過 1 週以上)，在此之菌種後述稱為前培養 a。

2.4.2 取 20 mL NB(或適當之液體培養基)，放入 100 mL 容量之三角錐瓶，以滅過菌之白金耳或丟棄式接種環刮取前培養 a 之菌種放入三角錐瓶中震盪培養(18~24)小時溫度 (37 ± 2) °C。震盪數 (110 ± 10) rpm，在此之菌種後述稱為前培養 b。

2.4.3 利用分光光度計或計數器測定前培養 b 之細菌濃度。以無菌之 NB(或適當之液體培養基)調整濃度到 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL (CFU： Colony Forming Unit)。

2.4.4 取 20 mL NB(或適當之液體培養基)，放入 100 mL 容量之三角錐瓶，加入前培養 b 之 0.4 mL 菌液於溫度(37 ± 2) °C、震盪數(110 ± 10) rpm 培養 2 小時，此時菌濃度應為 10⁷ CFU/mL。在此之菌種後述稱為前培養 c。

3. 試驗操作

3.1 抗菌功能試驗方法

3.1.1 植菌數：將 NB(或適當之液體培養基)稀釋 20 倍後，以此稀釋之 NB(或適當之液體培養基)調整前培養 c 之菌濃度為 1 × 10⁵ ~ 2 × 10⁵ CFU/mL。以此作為試驗菌液。

3.1.2 植菌：調整後的試驗菌液取 1 mL 到 3 個試驗樣品上、6 個空白對照樣品上或純棉無加工處理的織物上。若試驗樣品為撥水性之素材，不易吸收菌液時，可於稀釋 20 倍後的試驗菌液加入適當比例的濕潤劑*。

註*：添加濕潤劑來濕潤疏水性纖維製品，所使用之濕潤劑不可引起菌數減少(使用前必須將預計使用濃度進行預測是否影響菌數)，測試實驗室必須於測試報告上標明濕潤劑名稱及濃度。

3.1.3 立即沖刷組：3 個空白對照樣品立即以 100 mL 中性緩衝液(8.5 g 氯化鈉加入蒸餾水稀釋至 1000 mL) 或其他適當之中性緩衝溶液 (SCDLP) 沖刷，用試管震盪器將其充分混合，將菌液以序列稀釋法分別稀釋至適當之倍率後，吸取 1 mL 之各稀釋後之菌液至 9 cm 無菌培養皿中，加入 18~20 mL NA 充分混和均勻，待培養基冷卻至 45~50 °C 凝固後，置於(37 ± 2) °C 培養箱培養 18~24 小時後取出計算生菌數(A)。

3.1.4 實驗組：將菌液分別植入空白對照或測試樣本置於(37 ± 2) °C 培養箱，培養 18~24 小時後取出，以 100 mL 中性緩衝液(8.5 g 氯化鈉加入蒸餾水稀釋至 1000 mL) 或其他適當之中性緩衝溶液 (SCDLP) 沖刷，用試管震盪器將其充分混合，將菌液以序列稀釋法分別稀釋至適當之倍率後，吸取 1 mL 之未稀釋菌液及各稀釋後之菌液至 9 cm 無菌培養皿中，加入約 18~20 mL NA(或適當之固體培養基)充分混和均勻，待培養基冷卻至 45~50 °C 凝固後，置於(37 ± 2) °C 培養箱培養 18~24 小時後，取出分別計算空白對照樣品之生菌數(B)及試驗樣品生菌數(C)。

4. 結果

抗菌率(R) % 計算公式如下：

4.1 抗菌率(R) % = [(A - C) / A] × 100% (計算至小數點後兩位)

A：對照樣品或純棉無加工處理織物，培養 18~24 小時後之菌數。

C：試驗樣品培養 18~24 小時後之菌數。

4.2 菌活性：Log(B) - Log(A) ≥ 1.5，表示試驗結果成立，否則表示試驗結果失敗，須重新測試。

A：對照樣品或純棉無加工處理的織物，立即沖刷後之生菌數。

B：對照樣品或純棉無加工處理的織物培養 18~24 小時後之菌數

附錄 3

奈米銀抗菌衣著用紡織品之功能耐久性試驗方法

參照 AATCC 135(1)III(A)i [Alternative Washing and Drying Condition] 測試操作條件，清潔劑可選擇 AATCC 標準 WOB*清潔劑或日本 JAFET**標準洗劑，依不同類型產品進行不同水洗次數後，再依 3.1 抗菌功能試驗方法測試抗菌功能。測試操作條件如下：

1. 水洗及烘乾條件

洗衣機循環條件	水洗溫度	烘乾過程
一般/棉織物	(41±3) °C	滾筒型

2. 洗衣機條件

	一般/棉織物
(a) 水位	(18±1) gal
(b) 旋轉速度	(179±2) rpm
(c) 水洗時間	12 min
(d) 脫水速度	(645±15) rpm
(e) 完成脫水時間	6 min

3. 烘乾設定條件

	一般/棉織物
排出溫度	(66±5) °C
冷卻時間	10 min

4. 清潔劑

使用 AATCC 標準 WOB 參考清潔劑(或日本 JAFET 標準洗劑)

清潔劑量	水位量
(66±1) g (AATCC)	(18±1) gal
90.8 mL (JAFET)	

註*：WOB (Without Optical Brightener)：不含螢光增白劑。

註**：JAFET 標準洗劑，日本(社團法人)纖維評價技術協議會(Japan Textile Evaluation Technology Council)。

附錄 4

奈米抗菌紡織品皮膚刺激性試驗方法

1. 試驗物質萃取液製備

本試驗係依據 CNS 14393-10 所規定之方法進行試驗評估，試驗所使用之動物為成年白化雄性或雌性兔子。將試驗物質以直接接觸方式，或將試驗物質萃取液施加在兔子背部去毛部位 4 小時。觀察 72 小時內試驗部位出現的紅斑（erythema）及水腫（edema）之情形，以評估試驗物質對兔子皮膚的刺激性。

1.1 試樣製備

選取合適的試樣，測定任何可溶出物在生物系統中的生物反應性，以證明可溶出物的危害性與使用時對人體健康的危險性評估。

1.2 萃取液製備

依 CNS 14393-12 之方法進行萃取。選擇適合之萃取溶劑，萃取溶劑可分為極性（如生理食鹽水）或非極性（如棉籽油）。由試驗物質之表面積或質量依一定比例計算萃取溶劑所需體積，萃取溫度則因測試材料不同而異，一般萃取條件為 37°C、50°C、70°C 或 121°C，將最後所得之萃取液（extract），進行生物相容性試驗。

2. 試驗方法

2.1 實驗動物及飼養環境：

2.1.1 單一性別雄性或雌性紐西蘭大白兔 3 隻，體重不得小於 2 公斤。

2.1.2 飼養條件：

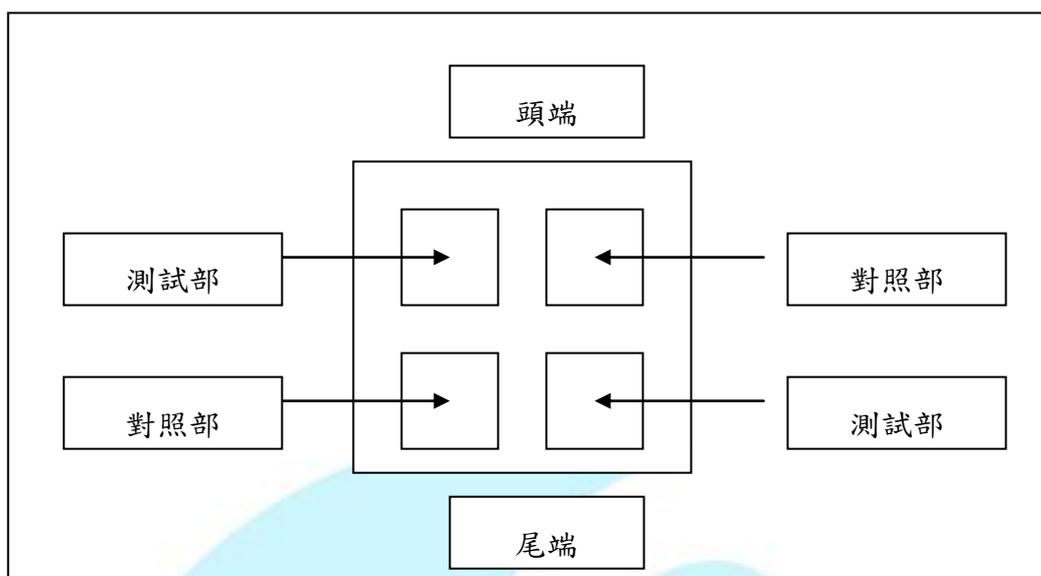
- (1) 溫度：(20 ± 3)°C。
- (2) 相對濕度：30~70 %。
- (3) 換氣頻率：10~15 次/小時。
- (4) 光照：12 小時之光暗週期。
- (5) 飼養狀況：個別籠飼。

2.2 材料及方法：

2.2.1 試驗前 24 小時，以電動剪毛機將動物背部被毛去除（約 10 cm × 15 cm 的區域）。

2.2.2 以肉眼觀察方式檢查動物背部皮膚，確定無任何損傷。

2.2.3 試驗時，將試驗物質以直接接觸方式，或將體積約 0.5 mL 的試驗物質萃取液滴在大小約 2.5 cm × 2.5 cm 的透氣紗布上，直接施加於動物背部皮膚。測試部位如下圖所示：



2.2.4 使用彈性繃帶進行包紮，將含有試驗物質的紗布固定於兔子背側。

2.2.5 對照部位則施加空白對照萃取液或對照物質，並於對照部位覆蓋一紗布，並以彈性繃帶進行包紮。

2.2.6 作用 4 小時後取下所有敷料，並在測試部位進行標記。使用清水將殘留測試部位的試驗物質清洗乾淨。

2.2.7 分別在取下敷料後 1 小時、24 小時、48 小時及 72 小時，以肉眼觀察紀錄測試部位之外觀，並根據附件一之歸類系統對測試部位加以評分。

2.3 刺激性評估標準

以 24 小時、48 小時及 72 小時觀察之結果進行評分。將每隻動物 3 個時間點所測得紅斑及水腫狀況之主要刺激評分值相加，並除以觀測之總數（一次觀察同時包括了每個測試部位之紅斑及水腫）。以相同方式計算對照部位之主要刺激評分值，然後由試驗物質之主要刺激評分值中扣除對照部位評分值，即可得實際試驗物質之主要刺激評分值。將每隻動物的主要刺激評分值相加後，除以動物總數，即為主要刺激指數（Primary Irritation Index, PII）。主要刺激指數之特性由附件二中之數值及敘述界定。

3. 結果分析

計算主要刺激指數（Primary Irritation Index, PII），評估其刺激反應分類。若刺激反應超過 72 小時，則須持續觀察及記錄皮膚刺激性反應至第 14 天止，以評估該皮膚傷害為可逆性或不可逆性。

附件一、皮膚反應之評分系統

刺激反應	主要刺激評分數值
紅斑及痂之生成	
無紅斑	0
非常輕微之紅斑（幾乎無察覺之程度）	1
清晰之紅斑	2
中度之紅斑	3
重度紅斑（甜菜紅）至形成痂以致無法評估紅斑之程度	4
水腫之生成	
無水腫	0
非常輕微之水腫（幾乎無察覺之程度）	1
清晰之水腫（部位邊緣有清晰之隆起）	2
中度之水腫（突起約 1 mm 高）	3
重度之水腫（突起超過 1 mm 高且面積大於暴露區域）	4
最大可能刺激評分	8

附件二、兔子試驗之刺激反應分類

主要刺激指數 (PII) ^a	反應分類
0~0.4	可忽略
0.5~1.9	輕微
2.0~4.9	中度
5.0~8.0	嚴重

^a PII：主要刺激指數（Primary Irritation Index）之計算方式係由所有動物「實際主要刺激分數」之總和除以動物隻數

附錄 5

奈米抗菌紡織品經口服急性毒性試驗方法

1. 概述

本試驗之目的係參考 OECD guideline 425：2008 評估試樣方法，依個別試驗大鼠體重，使用餵食針以管餵方式將試驗物質或試驗物質萃取液經口餵食已禁食試驗 Sprague-Dawley (SD) 大鼠（包含 24 小時內完成的多次給予），投予劑量則單次不超過 5 g/kg。試驗觀察期為 14 天，記錄試驗動物顯示的毒性症狀、症狀發生時間、症狀持續時間以及中毒後的復原性，以評估此試驗物質或試驗物質萃取液對哺乳類動物所可能產生之急性毒性反應。

2. 試驗物質或試驗物質萃取液製備

依附錄 4 第 2 節之規定。

3. 試驗方法

3.1 實驗動物及飼養環境：

- (1) 動物種類：10 隻(5 隻雄鼠與 5 隻雌鼠)6 週~8 週齡 SPF 級 Sprague-Dawley (SD) 品系大白鼠。
- (2) 溫度：(22 ± 3) °C。
- (3) 相對濕度：(30~70) %。
- (4) 換氣頻率：(10~15)次/小時。
- (5) 光照：12 小時之光暗週期。
- (6) 飼養狀況：不同性別大鼠分開飼養，每籠 2 隻~3 隻。
- (7) 飼料：採無限制供應方式給予。
- (8) 飲水：採無限制供應方式給予。

3.2 試驗設計及方法：

- (1) 口服急性毒性極限法(Limit test)之試驗設計

組別	投予物質	動物隻數	劑量 (g/kg)	投予途徑
雄鼠	試驗物質 ^a	5	5	口服
雌鼠	試驗物質	5	5	口服

^a 試驗物質或試驗物質萃取液

- (2) 每隻大鼠以耳標方式進行標記。
- (3) 將試驗大鼠分成 2 組（單一性別各 5 隻）。
- (4) 試驗物質或試驗物質萃取液投予前，將試驗大鼠禁食約 18 小時。
- (5) 試驗時，以管餵方式將試驗物質或試驗物質萃取液投予試驗大鼠，投予劑量為 5 g/kg。

- (6) 臨床觀察：單次投予試驗物質或試驗物質萃取液後，進行連續 14 天之臨床觀察，每天觀察 2 次以確定大鼠之死亡情形。詳細紀錄大鼠顯示的毒性症狀、症狀發生時間、症狀持續時間以及復原性。
- (7) 試驗大鼠之體重：投予試驗物質或試驗物質萃取液前，測試大鼠之體重，試驗期間每週進行測量一次。
- (8) 臨床觀察期間死亡的大鼠及試驗結束時所有存活的大鼠均須由獸醫師進行病理解剖和肉眼病理檢查，所有肉眼病變均須紀錄。

4. 試驗結果：

試驗結果為單次投予試驗物質或試驗物質萃取液後，經 14 天之臨床觀察，試驗大鼠有無出現任何臨床症狀及死亡率、體重變化以及肉眼病理學之結果。

