

# 中华人民共和国国家标准

GB/T ××××—××××

## 医疗器械生物学评价 纳米颗粒脱落和释放测量 颗粒跟踪分析法

Biological evaluation of medical devices - Measurement of shed/released nanoparticles - Particle tracking analysis

征求意见稿

2024年6月

(标准自发布之日起12个月后实施)

××-×-×发布

××-×-×实施

国家市场监督管理总局  
中国国家标准化管理委员会

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 符号和缩略语 .....	3
5 原理 .....	4
6 仪器与试剂 .....	4
7 实验步骤 .....	5
8 质量控制 .....	7
9 测试报告 .....	7
附录 A (资料性) 粒径检测下限 .....	9
附录 B (资料性) 实验流程图 .....	10
附录 C (资料性) 示例: 含纳米银敷料释放液中纳米银粒径和颗粒浓度测量 .....	11
参考文献 .....	13

## 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会纳米医疗器械生物学评价分技术委员会（SAC/TC248/SC1）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

TC248SC1征求意见稿

## 引 言

应用纳米材料的医疗器械在使用过程中具有产生脱落和释放纳米颗粒的风险,从而引起生物安全性隐患。因此,需对医疗器械中脱落和释放的纳米颗粒进行表征,包括数量浓度、粒径及粒径分布、元素组成及含量等。但是目前医疗器械的评价中缺乏对于纳米颗粒脱落和释放的测量方法,因此特制订本文件。

采用颗粒跟踪分析(PTA)方法通过追踪单颗粒的布朗运动从而能够获得溶液中的单颗粒粒径,通过统计分析可以获得溶液中颗粒数量浓度和粒径分布。因此本文件采用PTA技术,对医疗器械中脱落和释放的纳米颗粒进行粒径、粒径分布和数量浓度的量化表征。

# 医疗器械生物学评价 纳米颗粒脱落和释放测量 颗粒跟踪分析法

## 1 范围

本文件规定了医疗器械脱落和释放液的样品制备方法，以及脱落释放液中纳米颗粒的粒径、粒径分布及数量浓度的测量方法，适用于脱落释放纳米颗粒的表征。粒径检测下限见附录 A。

医疗器械脱落或释放其他尺寸颗粒的医疗器械也可以参考本文件。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 22235 液体黏度的测定

GB/T 30544.1 纳米科技 术语 第 1 部分：核心术语

GB/T 30544.6 纳米科技 术语 第 6 部分：纳米物体表征

GB/T 42348 粒度分析 颗粒跟踪分析法 (PTA)

## 3 术语和定义

GB/T 30544.1、GB/T 30544.6、YY/T 0528 和 GB/T 42348 界定的术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### **颗粒 particle**

有明确物理边界的微小物质，又称粒子。

注 1：物理边界也可以描述为界面。

注 2：颗粒能够作为一个整体移动。

注 3：该通用颗粒定义适用于纳米物体。

[来源 GB/T 30544.6-2016, 2.9]

### 3.2

#### **纳米颗粒 nanoparticle**

三个维度的外部尺寸都在纳米尺度的纳米物体。

注：如果纳米物体最长轴和最短轴的长度差别显著（比值大于3）时，采用术语纳米纤维或纳米片来指代纳米颗

粒。

[来源 GB/T 42348-2023, 3.3]

### 3.3

#### 粒度 particle size

在指定测量条件下用特定的测量方法确定的颗粒的线性尺寸。

注：不同的粒度分析方法基于对不同物理性质的测量。无论实际测量的物理性质为何，结果给出的是颗粒的线性尺寸。例如，等效球形直径。

[来源 GB/T 30544.6-2016, 3.1.1]

### 3.4

#### 粒度分布 particle size distribution

颗粒的分布与粒度之间的函数关系。

注：粒度分布可表示为累积分布或分布密度（在某尺寸区间内材料的分布除以该尺寸区间的宽度）。

[来源 GB/T 30544.6-2016, 3.1.2]

### 3.5

#### 流体力学直径 hydrodynamic diameter

与真实颗粒在该流体中具有相同扩散系数的颗粒的等效直径。

[来源 GB/T 30544.6-2016, 3.2.6]

### 3.6

#### 颗粒跟踪分析 particle tracking analysis; PTA

激光照射到悬浮液中做布朗运动的颗粒，并利用单个颗粒的位置变化测量粒度的方法。

注 1：通过分析颗粒位置随时间的变化得到平移扩散系数，进而通过斯托克斯-爱因斯坦（Stokes-Einstein）方程计算流体力学直径作为粒度。

注 2：纳米颗粒跟踪分析（NTA）常被称作 PTA，NTA 是 PTA 的一部分，因为 PTA 涵盖了大粒度范围不仅仅是纳米尺度范围。

[来源 GB/T 42348-2023, 3.12]

### 3.7

#### 光散射 light scattering

在具有不同光学性质的两个介质的界面上，光传播行为的变化。

[来源 GB/T 30544.6-2016, 3.2.5]

### 3.8

#### 黏度 viscosity

衡量液体流动或变形的阻力。

[来源 GB/T 42348-2023, 3. 15]

## 4 符号和缩略语

### 4.1 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PTA 颗粒跟踪分析 (particles tracking analysis)

SOP 标准操作程序 (standard operating procedure)

CV 变异系数 (variable coefficient)

### 4.2 符号

下列符号适用于本文件。

$d$ ——流体力学直径，单位为米 (m)；

$k_B$ ——玻尔兹曼常数，单位为平方米千克每二次方秒每开尔文 ( $\text{m}^2\text{kg}\text{s}^{-2}\text{K}^{-1}$ )；

$\eta$ ——分散介质黏度，单位为帕·秒 ( $\text{Pa}\cdot\text{s}$ )；

$T$ ——绝对温度，单位为开尔文 (K)；

$t$ ——时间，单位为秒 (s)；

$D_x$ ——一维扩散系数，单位为平方米每秒 ( $\text{m}^2/\text{s}$ )；

$D_{xy}$ ——二维扩散系数，单位为平方米每秒 ( $\text{m}^2/\text{s}$ )；

$D_{xyz}$ ——三维扩散系数，单位为平方米每秒 ( $\text{m}^2/\text{s}$ )；

$\overline{(x)^2}$ ——一维均方位移，单位为米的平方 ( $\text{m}^2$ )；

$\overline{(x,y)^2}$ ——二维均方位移，单位为米的平方 ( $\text{m}^2$ )；

$\overline{(x,y,z)^2}$ ——三维均方位移，单位为米的平方 ( $\text{m}^2$ )；

$C$ ——颗粒浓度，单位为个每毫升 (particles/mL)；

$N$ ——分析样品溶液中跟踪分析的颗粒数，单位为个 (particles)；

$l$ ——采样水平长度，单位为厘米 (cm)；

$w$ ——采样水平宽度，单位为厘米 (cm)；

$h$ ——采样深度，单位为厘米（cm）。

## 5 原理

颗粒跟踪分析（PTA）技术利用激光光源照射颗粒悬浮液，通过光学显微镜观察和收集颗粒的散射光信号，对每一个颗粒的布朗运动进行轨迹追踪和记录分析，根据公式（1）、（2）和（3），利用单位时间内颗粒的平均空间位移，可分别获得样品溶液中颗粒的一维、二维和三维扩散系数；根据斯托克斯-爱因斯坦（Stokes-Einstein）方程（公式4），获得流体力学直径<sup>[1,2]</sup>，进而得到样品体系中颗粒的粒度信息，并由追踪颗粒数和已知的采样体积，根据公式（5）估算出颗粒的浓度。

$$D_x = \frac{\overline{(x)^2}}{2t} \dots\dots\dots (1)$$

$$D_{x,y} = \frac{\overline{(x,y)^2}}{4t} \dots\dots\dots (2)$$

$$D_{x,y,z} = \frac{\overline{(x,y,z)^2}}{6t} \dots\dots\dots (3)$$

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\eta d} \dots\dots\dots (4)$$

$$C = \frac{N}{l \times w \times h} \dots\dots\dots (5)$$

## 6 仪器与试剂

### 6.1 仪器

本文件所用测试仪器如下：

- a) 颗粒跟踪分析仪；
- b) 超声波清洗设备；
- c) 磨损实验用设备；
- d) 移液器：量程 2.5  $\mu\text{L}$ ，量程 10  $\mu\text{L}$ ，量程 200  $\mu\text{L}$ ，量程 1000  $\mu\text{L}$ 。

### 6.2 试剂

除非另有说明，分析使用的实验用水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。模拟磨损/脱落释放试验中的试验介质应根据医疗器械选用适合的介质。

## 7 实验步骤

### 7.1 脱落和释放液制备通则

医疗器械种类繁多，本标准的使用者可根据特定类型医疗器械的临床使用方式设计相应的模拟脱落和释放试验，包括选择对应的模拟生理环境和其他条件，如模拟脱落和释放的试验介质、温度、往复频率、力度、角度、时间等。当有标准化的模拟脱落和释放模型可供参考时，可直接参照其规定执行；在没有标准方法参考的情况下，需对自行设计的实验方法的适用性进行论证。一些相关标准如

YY/T 1426.1、YY/T 1426.2、YY/T 1426.3 等已经给出了涉及全膝关节模拟临床使用时磨损试验设计的参考，在获得相应骨科材料模拟脱落和释放试验液时可以遵照采用；YY/T 1863 等已经给出了涉及敷料模拟临床使用时的模拟脱落和释放试验设计，在获得敷料类材料的脱落和释放液时可以参考采用。

### 7.1.1 试验介质

PTA 法测量颗粒粒度分布和浓度需要脱落和释放的颗粒样品均匀分散在适宜的、且与颗粒具有不同折射率的分散介质中。分散介质在满足相应医疗器械模拟脱落和释放条件的同时，应为不引起显著透射光衰减的透明介质，且应与 PTA 装置相容。试验介质在进行脱落释放试验前应经 2  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤。

### 7.1.2 干扰颗粒排除

通常情况下，达到试验周期后收集的脱落和释放液可经涡旋震荡混匀后直接进行 PTA 上机检测。若出现严重干扰测量的大颗粒，则需经 2  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤去除大颗粒后检测。

若模拟脱落和释放的介质溶液中存在其他种类干扰颗粒，可通过物理、化学或生物的手段去除干扰颗粒后进行 PTA 测量。

## 7.2 样品检测

### 7.2.1 待测样品准备

将 7.1 中制备的待测样品用相应的分散介质适当稀释。为使样品有足够数量的颗粒能够被定位和跟踪，同时避免样品浓度过高导致测量干扰以及清洗困难，应制备两个浓度以上的样品稀释液至少各 1 mL，平衡至室温后待测。

注：建议样品稀释液颗粒浓度范围为  $10^6$  -  $10^9$  particles/mL。不同样品的最佳颗粒测量浓度不同，可在保证测量数量准确的同时通过对样品进行系列稀释获得最佳颗粒数量浓度范围。

### 7.2.2 仪器初始化

检查仪器各个组件是否连接正常。依次打开仪器电源和检测软件，为尽可能提供稳定的检测条件，仪器应达到热平衡，保持测量过程中样品温度变化控制在  $\pm 3^\circ\text{C}$  以内。根据待测样品的理化性质初设适合的捕获参数。

### 7.2.3 进样

将 7.2.1 中的待测样品溶液从低浓度向高浓度进行测试。将样品以自动或手动方式注入样品池。样品池内的样品应尽量保持稳定，避免较大的颗粒漂移，进样过程中应避免产生气泡，以免引起对体积和数量的估算偏差。

### 7.2.4 检测参数设置

打开激光照射样品。根据样品分散介质和待测颗粒的最佳对比度选择最适激光波长、捕获次数和单次捕获时间，根据分散介质选择相应的介质黏度，若自动进样则设置泵速参数，形成本次检测的标准操作程序（SOP）。

注：可根据待测样品的理化性质对检测参数进行相匹配的调整。粒径小、散射弱、多分散的颗粒需要设置较长的捕获时间、捕获次数和激光强度，以获取足够的信号实现颗粒跟踪。而对于粒径大、散射强、单分散的颗粒则相反。

### 7.2.5 焦点调节

在视野内，将激光强度调节至最佳。在此激光强度下，利用焦点调节按钮调节显微镜视野焦点至最佳。

注：激光强度及焦点调节以视野内可见颗粒亮度最大、背景干扰最小、可见尽可能多的颗粒为最佳。

### 7.2.6 采样

运行 SOP，对标准样品进行至少 3 次的重复采样和跟踪记录。

### 7.2.7 颗粒轨迹跟踪分析

采样结束后，根据待测样品的粒径和散射强度设置合适的分析检测阈值，对捕获图像中的颗粒轨迹进行逐一跟踪分析。

注：检测阈值设置值以在不采集背景噪声的条件下能够跟踪最多的颗粒数为最佳。

## 7.3 数据分析

### 7.3.1 粒径及浓度计算

本文件利用颗粒在  $x$  和  $y$  平面的均方位移  $\overline{(x,y)^2}$ ，根据公式 (2) 和 (4) 获得样品中颗粒的流体力学直径  $d$ 。依据式 (5) 获得颗粒浓度  $C$ 。

根据原理，颗粒跟踪分析法获得的粒径与分散介质的黏度值  $\eta$  直接相关。上式中分散介质的黏度值通常可查表获得。对于无法查表获得的黏度值可根据 GB/T 22235 等中规定的方法在相应的温度下进行测量，将其代入公式 (4)，获得该体系中纳米颗粒的粒径值信息。

### 7.3.2 粒度分布分析

对所有轨迹的粒径分析结果进行分峰拟合，从而构建样品体系中颗粒的粒度分布，获得每个粒径段内颗粒的数量以及颗粒数量占比等重要信息。拟合步骤如下：

(1) 选择合适的拟合函数：一般情况下可选择高斯函数拟合。

(2) 确定拟合参数：确定每个高斯峰的峰位和半峰宽起始参数值，通过优化拟合，使得拟合曲线与实验数据实现最佳吻合，从而获得溶液中颗粒的粒径分布、数均粒径信息。

### 7.3.3 导出结果报告

导出的结果报告中需包括 PTA 测量和分析的关键参数，如激光的类型、波长和强度、相机的类型、帧目数、温度、黏度、检测阈值等。

### 7.3.4 测量流程图和测量示例

测量流程图参见附录 B。附录 C 给出了以纳米银敷料为例的脱落释放液制备和 PTA 检测示例。

## 8 质量控制

### 8.1 样品浓度

本方法中，仪器采样体积内的颗粒数量决定了对其粒径和浓度统计结果的质量。跟踪的颗粒数目过少所获得的颗粒分布结果不具有代表性；过多则颗粒路径相互影响，单个颗粒的独立跟踪能力下降，

同样会使颗粒分布结果产生较大偏差。因此，可通过对待测样品溶液进行系列稀释获得最佳颗粒数量浓度范围。对于多分散样品，应统计尽可能多的数量以确保测量精确性。

## 8.2 准确度

### 8.2.1 系统准确度

温度变化范围： $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ；操作温度变化范围内，分散剂黏度变化小于 $\pm 2\%$ 。

### 8.2.2 样品测量结果准确度

同一样品重复测量的粒径和浓度平均值标准偏差小于 $\pm 30\%$ 。

## 9 测试报告

本标准检测后出具的测试报告含有但不限于以下内容：

- a) 待测样品信息：样品名称、样品编号、委托单位信息等；
- b) 使用的PTA设备、仪器信息：名称、型号或设备编号、序列号等；
- c) 样品前处理方法：包括模拟释放方法、样品分散条件等；
- d) PTA仪器测量条件：包括激光的类型和强度、相机增益值、帧目数、温度、检测阈值等；
- e) 测试结果：粒径、浓度值及其准确度等；
- f) 本部分中未提及的、可选的、任何可影响结果的其他实验细节。

附录 A  
(资料性)  
粒径检测下限

A.1 不同种类单分散纳米颗粒的已知检测下限

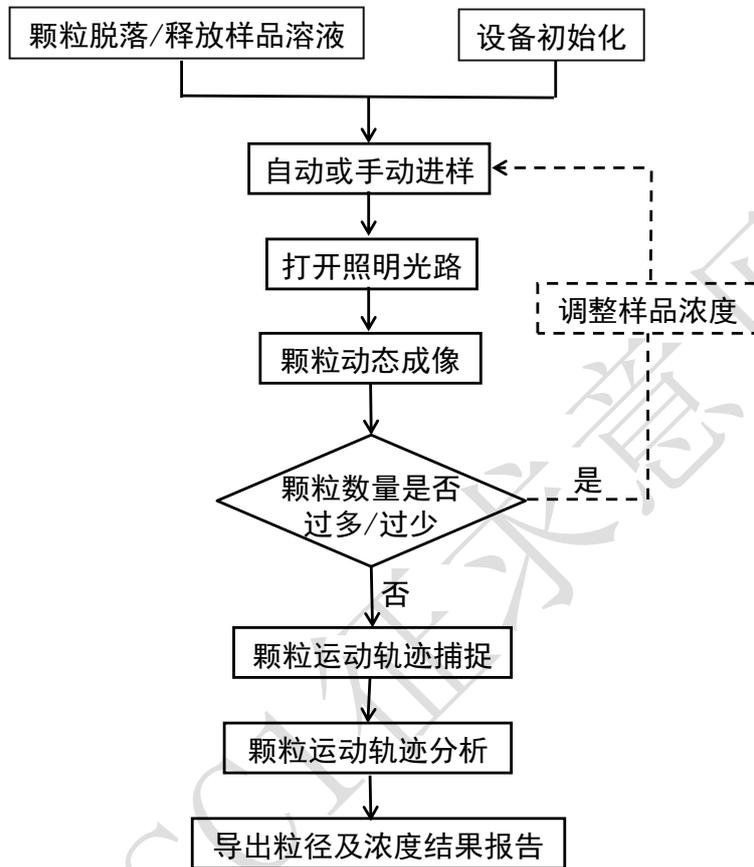
表 A.1 不同种类单分散纳米颗粒的检测下限

颗粒种类	流体力学直径检测下限 (nm)
金	15
聚苯乙烯	45
二氧化硅	75
生物材料	60
其他金属或金属氧化物	25

TC248SC1征求意见稿

附录 B  
(资料性)  
实验流程图

B.1 PTA测量流程图



图B.1 PTA测量流程图

## 附录 C

(资料性)

### 示例：含纳米银敷料释放液中纳米银粒径和颗粒浓度测量

#### C.1 实验目的

验证 PTA 方法在市售纳米医疗器械产品在释放介质中脱落释放纳米颗粒的粒径和数量浓度检测的可行性。

#### C.2 实验材料

某市售纳米银医用抗菌敷料。

#### C.3 实验方法

根据 YY/T 1863 中的相关规定，采用往复支架法，分别在水体系和 SBF 模拟体液中进行纳米银敷料的模拟脱落释放实验；根据本文件中对于 PTA 测量方法的规定，对纳米银敷料脱落释放液进行颗粒粒径和数量浓度的 PTA 分析。

#### C.4 主要实验设备

- a) 溶出度仪；
- b) 颗粒跟踪分析仪。

#### C.5 实验步骤

##### C.5.1 往复支架法制备纳米颗粒脱落释放液

将市售的纳米银抗菌敷料裁剪成 7 cm×5 cm 大小后固定于样品支架上，在溶出杯中量入 200mL 的超纯水或 SBF 模拟体液，在 32℃温度条件下，以 30 dpm (Displacement Per Minute, 每分钟排量) 的往复速度进行脱落释放实验，往复行程 2 cm。72 h 后，取样 5 mL 用于 PTA 检测。

##### C.5.2 SBF溶液黏度测量

SBF 溶液的黏度暂时无法查表获得，因此根据 GB/T 22235 中规定的方法进行测量。利用乌氏黏度计，通过测量 3 次相同体积溶液的流出时间，测得 SBF 溶液在 25℃温度下的黏度为 0.89 mPa·s。

##### C.5.3 PTA法检测脱落释放液中纳米颗粒的粒径、粒径分布和数量浓度

按照本文件7.2中规定的流程测定水体系及SBF体系的脱落释放液中纳米颗粒的粒径和数量浓度。主要测定条件见表C.1。将C.5.2中测得的SBF溶液黏度代入公式4获得SBF体系中纳米颗粒的粒径结果。

表C.1 PTA主要检测条件

参数	温度	颗粒运动轨迹捕获时长	重复测量次数	激光强度	检测阈值
数值	25℃	40 s	3	12	5

#### C.6 实验结果

根据本文件“7.3 数据分析”的规定进行脱落释放液中纳米颗粒粒径和数量浓度计算，并进行粒径分布分析。粒径检测结果如下图所示。总颗粒数量浓度分别为 $3.3 \times 10^8 \pm 9.1 \times 10^7$ 个/mL和 $1.0 \times 10^8 \pm 2.0 \times 10^7$ 个/mL。

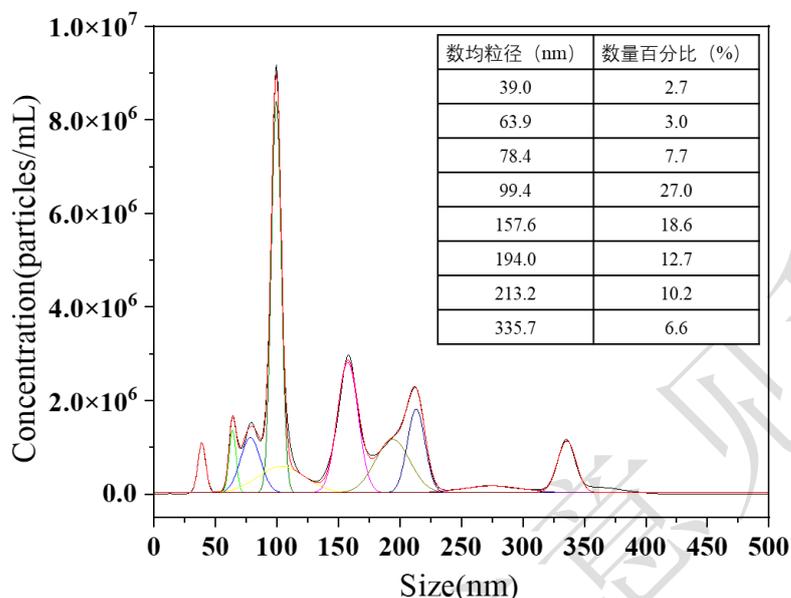
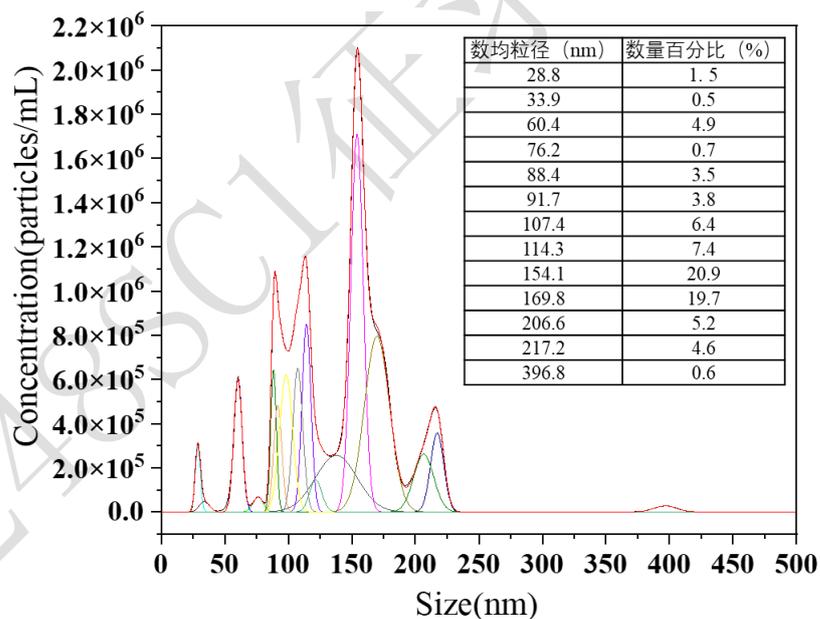


图 C. 1. 水体系敷料释放液中纳米颗粒的 PTA 检测结果。插表为粒径分析的分峰拟合结果。



图C. 2. SBF体系敷料释放液中纳米颗粒的PTA检测结果。插表为粒径分析的分峰拟合结果。

## 参 考 文 献

- [1] URSELL T.S. The Diffusion Equation A multi-dimensional Tutorial, California Institute of Technology, Pasadena, 2007
- [2] Malloy, A., Carr,R., “NanoParticle Tracking Analysis-The Halo System,” Particle & Particle Systems Characterization(Special Issue: Particle Systems Analysis), 23(2), 2006, 197-204
- 

TC248SC1征求意见稿