

# 奈米標章產品驗證制度

## 奈米抗菌製品驗證規範

---

文件編號：TN-052

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)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；或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。

自奈米標章建立驗證規範執行以來，抗菌製品已依產品特性建立奈米標章驗證規範供廠商申請，有鑒於各抗菌製品驗證規範其判定基準有異同處，將以整合，擴大範圍，以讓更多廠商來申請。

奈米標章驗證 產品規範	<h2 style="margin: 0;">奈米抗菌製品驗證規範</h2>	編號	TN-052
			
<p><b>1. 適用範圍</b> 本規範適用於具抗菌功能之製品，其抗菌功能源自於奈米材料。</p> <p><b>2. 參考資料</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1 ASTM D2486-06 Standard Test Methods for Scrub Resistance of Wall Paints。</li> <li>2.2 ASTM D5673 Standard test method for elements in water by inductively coupled plasma-mass spectrometry。</li> <li>2.3 CNS 260：1981 洗滌肥皂。</li> <li>2.4 CNS 1074：2013 砂紙。</li> <li>2.5 CNS 10785：1984 建築材料及建築組件磨耗試驗法（研磨紙法）。</li> <li>2.6 CNS 11318：2000 建築用天然石相關詞彙。</li> <li>2.7 CNS 11319：2000 建築用天然石抗壓強度試驗法。</li> <li>2.8 CNS 11320：2000 石材腳踏磨損抗力試驗法。</li> <li>2.9 CNS 11322：2000 建築用天然石破壞模數試驗法。</li> <li>2.10 CNS 11367：1985 熱固性樹脂裝飾板檢驗法。</li> <li>2.11 CNS 15200-5-11：2010 塗料一般試驗法—第 5-11 部：塗膜機械性質：耐擦洗性及耐洗淨性。</li> <li>2.12 CNS 14393-10：2005 醫療器材生物性評估—第 10 部：刺激性及延遲型過敏性測試。</li> <li>2.13 CNS 15200-5-9：2010 塗料一般試驗法—第 5-9 部：塗膜機械性質：耐磨耗性（研磨輪法）。</li> <li>2.14 CNS 17025：2007 測試與校正實驗室能力一般要求。</li> <li>2.15 CNS 6300：1985 石材。</li> <li>2.16 CNS 9007：2011 塗料一般檢驗法-取樣及試驗一般條件。</li> <li>2.17 TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範。</li> <li>2.18 TN-003 奈米光觸媒抗菌燈管驗證規範。</li> <li>2.19 TN-016 奈米銀抗菌大理石驗證規範。</li> <li>2.20 TN-019 奈米銀抗菌工業用塑膠容器驗證規範。</li> <li>2.21 TN-032 奈米金屬氧化物抗菌木質板驗證規範。</li> <li>2.22 TN-033 奈米銀抗菌消費性電子產品外殼驗證規範。</li> </ol>			
公布日期 102 年 11 月 26 日	<h3 style="margin: 0;">奈米標章產品驗證制度印行</h3>	修正日期 年 月 日	

- 2.23 TN-035 奈米銀抗菌衛生陶瓷器驗證規範
- 2.24 TN-036 奈米銀抗菌塑膠馬桶蓋驗證規範。
- 2.25 TN-038 奈米銀抗菌馬桶用水箱塑膠零件驗證規範。
- 2.26 TN-042 奈米銀抗菌塑膠浴缸驗證規範。
- 2.27 TN-046 奈米金屬複合物抗菌室內牆面用陶瓷面磚驗證規範。
- 2.28 TN-047 奈米銀抗菌工程用塑膠網管驗證規範。
- 2.29 TN-048 奈米金屬氧化物抗菌家具板驗證規範。
- 2.30 ISO 10993-10 : 2010 Biological evaluation of medical devices —Part 10 : Tests for irritation and skin sensitization。
- 2.31 ISO 10993-12 : 2007 Biological evaluation of medical devices - Part 12 : Sample preparation and reference materials
- 2.32 ISO 16700 : 2004 Microbeam analysis - Scanning electron microscopy - Guidelines for calibrating image magnification。
- 2.33 ISO 22196 : 2011 Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces。
- 2.34 ISO 22309 : 2011 Microbeam analysis - Quantitative analysis using energy-dispersive spectrometry (EDS) for elements with an atomic number of 11 (Na) or above。
- 2.35 JIS Z 2801:2010 Antibacterial products - Test for antibacterial activity and efficacy。
- 2.36 OECD guideline 425 Acute oral toxicity - Up-and-down procedure。

### 3. 用語釋義

- 3.1 奈米材料：係指結構在三維空間中，至少有一維在 100nm 以下之材料。
- 3.2 抗菌率：抗菌加工製品與無加工製品，經接種試驗細菌於培養後之菌數差異百分比。
- 3.3 抗菌性：抑制產品表面細菌增殖的狀態。

### 4. 判定基準

奈米抗菌製品須符合下列之要求水準，廠商須提供測試報告或證明，方可取得奈米標章。

項目	特性	要求水準	備註
奈米尺寸	檢測所使用奈米材料之尺寸及成分。	確認奈米材料成分，其任一維平均尺寸在 100 nm 以下。	
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大腸桿菌之抗菌率。	耐久性測試 (耐刷洗性或耐磨耗性)前，其抗菌率須 99 % 以上。	
		• 抗菌率須 99 % 以上。	使用光觸媒做為

		•光線照射對光觸媒抗菌加工製品的效果 $\Delta R$ 須 1 以上。	奈米功能者，需做此項測試
其他要求	耐久性(耐刷洗性)	I 類：一般陶瓷類、塑膠類、木質、金屬類等材質，刷洗 200 週期/135 克/海棉，刷洗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上	
		II 類：衛生用陶瓷類、塑膠類、木質、金屬類等材質，刷洗 2,000 週期/450 克/海棉，刷洗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上	
	耐久性(耐磨耗性)	III 類：家具板等材質，磨耗 500 轉/500 克/AA180 號砂紙，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上	
		IV 類：大理石或人造石等材質，磨耗 5,000 轉/500 克/CS17 研磨輪，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上	
		V 類：地板類(木材類)或消費性電子產品外殼等材質，磨耗 20,000 轉/500 克/S39 人工皮革輪，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上	
		VI 類：不做耐刷洗測試及耐磨耗測試之製品，應做其他耐久性測試	
	皮膚刺激性測試	經皮膚刺激性測試，PII 值小於 2。	有與人體接觸者需做此項測試。廠商須提供測試報告或證明(可由原料廠商提供)
	口服急性毒性測試	經口服急性毒性測試，無出現任何臨床症狀、死亡、體重變化以及肉眼可見病變之結果	
	銀溶出性	銀溶出測試結果須小於 0.05 mg/L。	使用奈米銀做為奈米功能者，需做此項測試



	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「奈米抗菌製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「奈米抗菌製品抗菌性試驗方法」）：

以空白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。若使用光觸媒做為奈米功能者詳見附錄 10。

### 5.3 其他要求：

耐久性測試：耐刷洗測試詳見附錄 3；耐磨耗測試詳見附錄 4、附錄 5、附錄 6。  
 安全性測試：皮膚刺激性測試詳見附錄 7；口服急性毒性測試詳見附錄 8；銀溶出測試詳見附錄 9，若產品為塑膠網管，用於建築、土木或儲水之建築工程者，檢測方法請參考附錄 11。

## 6. 試驗報告

### 6.1 奈米尺寸之試驗報告至少應包含以下內容：

- (1) 所鑑定產品或原材料中所含奈米材料成分。
- (2) 所鑑定產品中所含奈米材料之粒徑大小。

### 6.2 抗菌性之試驗報告至少應包含以下內容：

- (1) 樣品名稱
- (2) 測試菌種
- (3) 培養基
- (4) 試驗方法
- (5) 抗菌率

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

### 6.4 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。

## 7. 標示

符合奈米標章之產品應標示下列附加事項：

- (1) 使用之奈米級原材料及加工方式
- (2) 抗菌率及測試菌種
- (3) 須說明產品類別，耐刷洗週期數或耐磨耗轉數。如產品類別為 VI 類者，須說明其測試條件及測試結果。

(4)安全性

(5)產品使用應注意事項

## 8. 附則

本規範由工作小組制定，經奈米標章技術評議會評議審議核准後發行，修正時亦同。





## 附錄 1

### 奈米抗菌製品奈米尺寸試驗方法

本試驗方法係以穿透式電子顯微鏡或掃描式電子顯微鏡或原子力顯微鏡等對產品表面含 100 nm 以下奈米材料尺寸之測定法，並以能量散射光譜儀測定奈米材料的成分。其測試方法如下述：

#### 1. 裝置及材料

##### 1.1 量測儀器

- 1.1.1 掃描式電子顯微鏡 - 參考 ISO 16700(E) [Microbeam Analysis-Scanning Electron Microscopy - Guidelines for Calibrating Image Magnification]之規定。
- 1.1.2 穿透式電子顯微鏡-參考 ISO/IEC Guide 98-3：2008，規範：Uncertainty of measurement — Part 3：Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM：1995) 之規定
- 1.1.3 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。
- 1.1.4 能量散射光譜儀 - 參考 ISO 22309 [Microbeam Analysis - Quantitative Analysis Using Energy - Dispersive Spectrometry (EDS)]之規定。

##### 1.2 樣品製備

- 1.2.1 掃描式電子顯微鏡：將樣品裁切，將奈米抗菌製品之樣品以導電碳膠固定於樣品座，表面鍍導電層後進行分析。
- 1.2.2 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。
- 1.2.3 原子力顯微鏡：選取經處理之抗菌製品樣品，檢測其表面之結構。

#### 2. 原理

##### 2.1 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。

##### 2.2 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。

### 2.3 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。

### 2.4 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。

## 3. 注意事項

- 3.1 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。
- 3.2 檢測設備若須抽真空，易污染真空腔者，應作特殊處理。
- 3.3 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。
- 3.4 如必要時可將試片鍍導電層，以增加系統的判讀性。

## 4. 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

### 奈米抗菌製品抗菌性試驗方法

本試驗方法係奈米抗菌製品針對金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P)、大腸桿菌 *Escherichia coli* (ATCC 8739)所做的抗菌性測試。其測試方法如下述：

#### 1. 試驗準備

##### 1.1 試藥及器材

1.1.1 酒精：純度 95 % 以上，試劑級。

1.1.2 覆蓋薄膜：材質為聚乙烯、聚丙烯或聚酯纖維，應不影響試驗菌株發育，無吸水性（覆蓋薄膜：大小為 40 mm ± 2 mm 的正方形；薄膜大小為 50 mm ± 2 mm 的正方形），厚度無特別規定，但密著性要好，主要功能是讓撥水性試片上也能均一且確實接觸菌液。

1.1.3 氯化鈉：生理食鹽水，濃度 0.85 % (W/W)。

1.1.4 氫氧化鈉溶液：濃度 0.1 mol/L。

1.1.5 鹽酸溶液：濃度 0.1 mol/L。

1.1.6 非離子型界面活性劑：聚氧乙烯山梨糖醇酐單油酸酯 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate) 【聚山梨醇酯 80 (Tween 80)】。

1.1.7 培養皿：拋棄式培養皿或玻璃培養皿，皿底之內外應平坦、無氣泡、無刮傷或其他缺點。

1.1.8 高溫高壓滅菌釜：用於培養基和稀釋水等不能乾熱滅菌之材料及用具等之滅菌，能保持溫度 121 °C 及壓力 103 kPa (1.05 kg/cm<sup>2</sup>) 至少 15 分鐘。

1.1.9 乾熱滅菌器：用於試驗片與玻璃器皿之滅菌。可保持在 160 °C 至少 2 小時或 170 °C 至少 1 小時。

1.1.10 接種環：前端環圈約 4 mm 白金耳或拋棄式接種環。

1.1.11 培養箱：能保持溫度 (35 ± 1) °C。

1.1.12 量筒：100 mL、500 mL 及 1,000 mL 之量筒。

1.1.13 三角錐瓶：250 mL、500 mL、1,000 mL 及 2,000 mL 其材質能適用於高溫高壓滅菌釜

1.1.14 玻璃試管：其材質能適用於高溫高壓滅菌釜。

1.1.15 生物安全櫃：符合生物安全等級第二級或同等性能之無菌操作台。

1.1.16 菌落計數器：用於計算菌落數目。

##### 1.2 試驗菌株

1.2.1 金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (BCRC<sup>[註 1]</sup> 10451, ATCC<sup>[註 2]</sup> 6538P)。

1.2.2 大腸桿菌 *Escherichia coli* (BCRC<sup>[註 2]</sup> 11634, ATCC<sup>[註 3]</sup> 8739)

[註 1]：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 2]：ATCC (American Type Culture Collection)：美國標準菌種中心。

##### 1.3 培養基調製

依下列配方配製培養基，或使用市售的培養基均可。

### 1.3.1 營養瓊脂培養基 (Nutrient Agar, NA) <sup>[註3]</sup>

蛋白胨(Peptone)	5.0 g
肉精(Meat Extract)	3.0 g
瓊脂粉末(Agar powder)	15.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.6~7.0 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

[註 3]：參考 CNS 15380：2010。

### 1.3.2 營養培養液 (Nutrient Broth, NB) <sup>[註4]</sup>

蛋白胨(Peptone)	10.0 g
肉精(Meat Extract)	3.0 g
氯化鈉	5.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 7.0~7.2 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

### 1.3.3 1/500 營養培養液 (1/500 Nutrient Broth, 1/500 NB)

用蒸餾水/去離子水稀釋項次(2)配製之 NB，並以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C)，使其體積成為 500 倍，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 星期<sup>[註4]</sup>以上未用者則不應再使用。

[註 4]：參考 ISO 22196：2011。

### 1.3.4 SCDLP 液體培養基 (Soya Casein Digest Lecithin Polysorbate Broth) <sup>[註5]</sup>

酪蛋白製蛋白胨(Casein Peptone)	17.0 g
大豆製蛋白胨(Soybean Peptone)	3.0 g
氯化鈉	5.0 g
磷酸氫二鉀	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
卵磷脂(Lecithin)	1.0 g
非離子型界面活性劑	7.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

[註 5]：參考 JIS Z 2801：2010。

### 1.3.5 磷酸緩衝液 (Phosphate Buffer Solution) <sup>[註4]</sup>

以 500 mL 蒸餾水/去離子水溶解 34.0 g 磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)，使用氫氧化鈉溶



液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C)後，加蒸餾水/去離子水至 1000 mL。經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

#### 1.3.6 磷酸緩衝生理食鹽水 (Phosphate Buffered Physiological Saline) (生菌數測定用)

以生理食鹽水稀釋項次(5)配製之磷酸緩衝液至 800 倍。經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 分鐘後備用。若無法完全使用完，應置於 5 °C~10 °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

#### 1.4 試驗菌株的活化與保存

自菌種保存機構取得的菌株，依所附活化說明書進行活化。進行活化後，移植一白金耳量至 NA 培養基，於攝氏(35 ± 1) °C 下培養 24 小時~48 小時後，以 5 °C~10 °C 冷藏保存。移植細菌後，於 1 個月以內進行同樣的次代培養。以從保存機關取得的原株進行次代培養時，以 5 次為限度。移植後超過 1 個月，則不得再使用<sup>[註 3]</sup>。

#### 1.5 試驗菌株前培養

將 1.4 節活化後的試驗菌株移植至 NA 培養基，最適培養溫度為(35 ± 1)°C，培養 16 小時~24 小時後，再移植一白金耳量至新的 NA 培養基，最適培養溫度為(35 ± 1) °C，培養 16 小時~20 小時。

#### 1.6 接種用菌液濃度調製

取 1.5 節前培養之一白金耳試驗菌株均勻地懸溶於適量之 1/500 NB，並將接種用菌液依適當方法（如光密度法）推算其生菌數，並調整至 ( $2.5 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ ) 個/mL<sup>[註 3]</sup>，若須保存可置於冰上(0 °C)，但不可超過 2 小時。

## 2. 樣品製備

待測抗菌製品樣品(或從產品本身選取或提供相同材質的試驗片)，裁切為邊長 50 mm ± 2 mm (厚度 10 mm 以內) 表面平整之正方形塊，作為樣品。樣品之全面以脫脂棉沾酒精 (95 % 以上) 輕輕擦拭 2 至 3 回，並放置使乾燥。樣品各 2 片 (即 2 重覆) × 2 菌種，計 4 片；另須準備無處理之樣品各 2 片 (即 2 重覆) × 2 菌種 × 2 組，計 8 片，若沒有無處理之樣品時，可以用替代薄膜來替代。

## 3. 試驗操作

### 3.1 抗菌性測試

#### 3.1.1 對照組 (即無加工試驗片；2 重覆/株菌)

培養皿 4 個 (2 重覆 × 2 菌種)，分別放入無加工試驗片，接種 0.4 mL 接種用菌液 ( $1.0 \times 10^5 \sim 4.0 \times 10^5$  菌/片)，然後在其上面覆蓋薄膜 (大小為 40 mm ± 2 mm 的正方形)，置於(35 ± 1) °C，相對濕度 90 % 以上，培養 18 小時~24 小時。

#### 3.1.2 試驗組 (即加工試驗片；2 重覆/株菌)

培養皿 4 個 (2 重覆 × 2 菌種)，分別放入加工試驗片，接種 0.4 mL 接種用菌液，然後在其上面覆蓋薄膜，置於(35 ± 1) °C，相對濕度 90 % 以上，培養 18 小時~24 小時。

### 3.2 生菌數的測定

### 3.2.1 接種對照組（即接種後立即洗下之菌數）

培養皿 4 個（2 重覆 × 2 菌種），分別放入無加工試驗片，並在其上接種 0.4 mL 接種用菌液，且在其上面覆蓋薄膜後，接入後迅速以 10 mL SCDLP 培養基充分洗出附著之菌液。並依生菌數法<sup>[註 6]</sup>以 NA 培養基在(35 ± 1) °C 下培養 40 小時~48 小時，測出洗出之液體 1 mL 中之生菌數（個/mL），並求出 2 重覆生菌數的平均值。其 10 倍的值即為接種對照組之菌數(A)。

[註 6]：參考 CNS 10890：2009。

### 3.2.2 對照組

經培養後之無加工試驗片培養皿 4 個（2 重覆 × 2 菌種），依第 3.2 (1) 節所述生菌數法，計算其生菌數，並求出 2 重覆生菌數的平均值。其 10 倍的值即為對照組之菌數(B)。

### 3.2.3 試驗組

經培養後之加工試驗片培養皿 4 個（2 重覆 × 2 菌種），依第 3.2 (1) 節所述生菌數法，計算其生菌數，並求出 2 重覆生菌數的平均值。其 10 倍的值即為試驗組之菌數(T)。

## 4. 試驗條件

4.1 對於「接種對照區」及「對照組」之各 2 個生菌數，依下列公式計算，其計算值在 0.2 以下。

$$(\text{最高對數值} - \text{最低對數值}) / \text{對數平均值} \leq 0.2$$

4.2 對於「接種對照區」及「對照組」的減少率，依下列公式計算，其計算值在 90 % 以下。

$$(\text{接種對照區} - \text{對照組}) / \text{接種對照區} \times 100 \leq 90 \%$$

4.3 對於「接種對照區」的 2 個生菌數，其平均值在  $(1.0 \times 10^5 \sim 4.0 \times 10^5)$  CFU 範圍內。

備考：CFU 為菌落形成單位(Colony Forming Unit)

## 5. 結果

$$R = \frac{B-T}{B} \times 100\% \quad (\text{表示到小數第二位})$$

式中，R = 抗菌率(%)，表示到小數點以下第二位。

B = 對照組菌數

T = 試驗組菌數

## 6. 判定

耐久性測試(耐刷洗性或耐磨耗性)前，其抗菌率須符合 99 % 以上之判定基準。



### 附錄 3

#### 奈米抗菌製品耐久性測試—耐刷洗性測試方法

本試驗係廠商提供的樣品材質為 I 類及 II 類之耐刷洗性測試方法。

其中 I 類為一般陶瓷類、塑膠類、木質、金屬類等材質，刷洗 200 週期/135 克/海棉，刷洗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上；II 類為衛生用陶瓷類、塑膠類、木質、金屬類等材質，刷洗 2,000 週期/450 克/海棉，刷洗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上。

刷洗 200 週期/135 克/海棉或刷洗 2,000 週期/450 克/海棉，其試驗方法係參考 CNS 15200-5-11 及 ASTM D2486-06 之試驗方法，其測試方法如下述：

#### 1. 裝置及材料

##### 1.1 擦洗試驗裝置

由具有行程長度(300 ± 5) mm，以每分鐘約(37 ± 2) 擦洗週期作操作之往復擦洗試驗機所構成。應具有記錄擦洗週期數之計數器。

##### 1.2 擦洗墊支撐座底座

由裝配保持研磨墊所需之銷的金屬板所構成，此金屬板可寬鬆的架設於具有孔穴之夾具板之下，使施加向下之力於試片之質量為(135 ± 1) 克或(450 ± 1) 克。

##### 1.3 擦洗墊

外形大小為長(90.0 ± 0.5) mm × 寬(39.0 ± 0.5) mm 之海棉，每次試驗應使用新擦洗墊。

#### 2. 試藥

0.5 % 肥皂水：依 CNS 260 [洗滌肥皂] 所規定的一般肥皂，以去離子水溶解者。

#### 3. 試片之製作

取切成外形尺寸為 50 mm × 50 mm 之 4 片樣品，再配合 4 片以上一樣大小的空白試驗板，使耐擦洗試驗板總長 400 mm 及寬 50 mm 以上，厚度小於 5 mm。

#### 4. 操作

- 4.1 確認擦洗墊驅動系統平行於試片表面，且使固定裝置（支持座支撐具）不得與擦洗墊支持座接觸。
- 4.2 將樣品以雙面膠黏貼於尺寸大約為 430 mm × 80 mm 之平板且與長邊平行之中央位置上，將其安裝於擦洗試驗機之平台。
- 4.3 檢查海綿是否固定架妥，摩擦面以 0.5 % 肥皂水保持濕潤狀態而摩擦試片表面。
- 4.4 設耐刷洗試驗週期數（I 類為 200 週期；II 類為 2,000 週期），啟動擦洗試驗機。
- 4.5 耐刷洗試驗週期完成後，將試片從試驗機取下，以清水將試片沖洗乾淨，放入烘箱中以(110 ± 5) °C 烘乾，取出試片於室溫中冷卻備用。
- 4.6 依附錄 2 測試抗菌性。

## 5. 判定

I 類抗菌製品經耐刷洗試驗 200 週期/135 克/海棉後或 II 類經耐刷洗試驗 2,000 週期/450 克/海棉後，確認無露出基材，再經由附錄 2 奈米抗菌製品抗菌性試驗方法測試樣品表面之抗菌率須符合 90 % 以上之判定基準。



## 附錄 4

### 奈米抗菌製品耐久性測試—耐磨耗測試方法(1)

本試驗係針對廠商所提供的樣品為Ⅲ類耐磨耗測試方法。

Ⅲ類為家具板等材質，磨耗 500 轉/500 克/AA180 號砂紙，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上所訂的測試方法。

耐磨耗測試方法(1)係參考 CNS 11367 及 CNS15200-5-8 之試驗方法，其測試方法如下述：

#### 1. 概要

樣品設定在耐磨耗500轉/500克/AA180號砂紙，在規定條件下以裝設在研磨試驗機之研磨輪，施加規定載重於研磨輪磨擦，耐磨耗性係指樣品經過500轉/500公克/AA180號砂紙磨耗後，再測試其抗菌性。

#### 2. 裝置

2.1 研磨試驗機：由旋轉盤、研磨輪、計數器、固定螺栓及真空吸引裝置等所組成。

2.1.1 旋轉盤：可將試片置於中央並予以固定，而且以 $(60 \pm 2)$  rpm之速度旋轉。

2.1.2 研磨輪：兩個12mm，直徑50mm外包橡膠的圓形輪，其橡膠部份厚6mm且合乎CNS 3555加硫橡膠硬度試驗法之彈簧式硬度50~55之規度，兩輪相距50~55mm。

2.1.3 計數器：記錄旋轉盤之旋轉數。

2.1.4 真空吸引裝置：具有兩個管嘴。其中一個應位於兩橡膠輪之中間，而另一個位於通過前者之直徑的相對側。惟兩個管嘴之軸間距離應為 $(75 \pm 2)$  mm，而管嘴與試片間距應為1mm至2mm。當真空吸引裝置在操作位置時，吸引裝置之空氣壓力應小於大氣壓1.5 kPa至1.6 kPa (1 kPa = 10 mbar)。

2.2 法碼：可將2個研磨輪質量各增加至500 g。

2.3 砂紙：CNS 1074所規定AA 180號砂紙，需依CNS 11367規定校正合格，裁切成寬 $(12 \pm 0.2)$ mm，長約175mm之條狀砂紙。

2.4 校正用基準板(鋅板)：厚度為0.8~1mm，作為校正裝置之用(參考CNS 15200-5-8 附錄B)。

2.5 雙面黏膠帶：若無自黏式砂紙可用，可使用寬 $(12 \pm 0.2)$ mm，長約175mm之雙面黏膠帶。

#### 3. 試片之製作：

由每張抗菌家具試樣板裁取尺寸約為102mm x 102mm，厚度7mm以下做為樣品，並於樣品中央鑽一直徑6~7mm之孔，以便安裝固定於旋轉台，若無法由成品裁取樣品，亦可以以相同材質相同製程製備上述之樣品以供測試。

#### 4. 操作：

4.1 試驗條件：溫度 $(23 \pm 2)$ °C及相對濕度 $((50 \pm 5) \%$ 。

4.2 調整各條狀砂紙長度，以雙面黏貼膠帶使砂紙覆蓋研磨輪外緣表面而無重疊或間隙，將其裝設於磨耗試驗機，並增加法碼至載重500克。

4.3 將試片以螺栓鎖緊固定於旋轉盤上，放下研磨輪於樣品上，並將計數器歸零。

4.4 起動磨耗試驗機及真空吸引裝置，研磨至500轉。

4.5 拆下試片，依附錄2測試其抗菌性。

## 5. 判定

Ⅲ類抗菌製品經磨耗 500 轉/500 克/AA180 號砂紙磨耗後，確認無露出基材，再經由附錄 2 奈米抗菌製品抗菌性試驗方法測試樣品表面之抗菌率須符合 90 % 以上之判定基準。



## 附錄 5

### 奈米抗菌製品耐久性測試—耐磨耗測試方法(2)

本試驗係針對廠商所提供的樣品為IV類耐磨耗測試方法。

IV類為大理石或人造石等材質，磨耗 5,000 轉/500 克/CS17 研磨輪，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 %以上所訂的測試方法。

耐磨耗測試方法(2)為係參考 CNS 10757 第 10 節、CNS 15200-5-9 及 CNS 10785 第 2 節之試驗方法，其測試方法如下述：

#### 1. 概要

試片固定於碟盤型(Taber)磨耗試驗機，由研磨輪的傳動測定塗膜磨耗程度。

#### 2. 裝置、器具及材料

2.1 研磨試驗機參考 CNS 10757 第 10 節、CNS 10785 第 2 節所規定的研磨試驗裝置。  
旋轉速度為 $(60 \pm 2)$  rpm。

##### 2.2 研磨輪

碟盤型磨耗輪：參考 CNS 10757 第 10 節，使用市售的 CS 17，磨耗輪的外徑為 44.6~51.6 mm。各為厚度 $(12.7 \pm 0.2)$  mm，兩個研磨輪安裝於水平軸上並可繞著水平軸自由旋轉，二個研磨輪內側之間距為 $(53.0 \pm 0.5)$  mm，而連結二軸之假想線在距離旋轉盤中心軸 $(19.1 \pm 0.1)$  mm 處，研磨輪之外徑，在新品時應為 $(51.6 \pm 0.1)$  mm，不得小於 44.4 mm。

##### 2.3 表面重整材

使用 CNS 1074 所規定的 AA 320 號或是相同品質者(S-11 刮削器(Refacer))，用於調整第 2(2)節所規定之研磨輪的表面粗度。

##### 2.4 校正用基準板(鋅板)

厚度為 0.8~1mm，作為校正裝置之用(參考 CNS 15200-5-9 附錄 B)。使用 CNS 15200-1-4 規定處理之 I 型鋼板，厚度 0.60~1.00 mm。

##### 2.5 法碼

可將 2 個研磨輪質量各增加至 500 克。

##### 2.6 試驗板

施行 CNS 9007[塗料一般檢驗法-取樣及試驗一般條件]所規定前處理之鋼板，尺寸為 100 mm × 100 mm × 1 mm 或是直徑 100 mm × 1 mm 的圓片，中心有直徑 6~7 mm 的孔。

#### 3. 研磨輪的調整

碟盤型研磨輪：每一次試驗前，先用刮削器(Refacer)調整，或者是參考 CNS 10757 第 10.2.3 節規定之表面重整材固定於旋轉盤上，以載重 9.81 N (1.0 kgf)旋轉 50 轉進行調整，研磨試驗時每 500 轉須再重整 1 次。

#### 4. 試片之製作

由成品試樣裁取成尺寸 102mm \* 102mm，厚度 7mm 以下做樣品，並於樣品中央鑽



一直徑 6~7 mm 之孔，以便於安裝固定於旋轉台。若無法由成品裁取樣品，亦可以以相同材質相同製程製備上述之樣品以供測試。

## 5. 操作：

- 5.1 將試片的塗面朝上，水平固定於磨耗試驗機的旋轉盤。
- 5.2 將 2.2 所規定的研磨輪，安裝於軸上，用安裝螺絲固定。
- 5.3 在兩臂上置放指定載重的法碼。
- 5.4 將研磨試驗機和電動式除塵裝置用管子連結。
- 5.5 將研磨輪靜靜的放置於試片上。
- 5.6 靜靜地將研磨試驗機的除塵口，靠近於試片上，調整與試片的距離為 $(3 \pm 0.2)$  mm。
- 5.7 將旋轉數設定於試驗旋轉數，起動除塵裝置和研磨試驗機，使旋轉盤旋轉。
- 5.8 旋轉達旋轉數 5,000 轉，停止後，提上兩臂和除塵口，卸下試片，再切割 4 片外形尺寸 50mm x 50mm，依附錄 2 測試抗菌性。

## 6. 判定

IV類抗菌製品經磨耗 5,000 轉/500 克/CS17 研磨輪磨耗後，確認無露出基材，再經由附錄 2 奈米抗菌製品抗菌性試驗方法測試樣品表面之抗菌率須符合 90 %以上之判定基準。



nano



## 附錄 6

### 奈米抗菌製品耐久性測試—耐磨耗測試方法(3)

本試驗係針對廠商所提供的樣品為 V 類耐磨耗測試方法。

V 類為地板類(木材類)或消費性電子產品外殼等材質，磨耗 20,000 轉/500 克/S39 人工皮革輪，磨耗後對特定之金黃色葡萄球菌及大腸桿菌之抗菌率須 90 % 以上所訂的測試方法。

耐磨耗測試方法(3)為係參考 CNS 15200-5-9 之試驗方法，其測試方法如下述：

#### 1. 概要

塗料之乾燥塗層，在規定條件下以裝設在研磨試驗機之研磨輪，施加規定載重於研磨輪磨擦，耐磨耗性係指以經過規定旋轉數後，再測試其抗菌性。

#### 2. 裝置及材料

2.1 磨耗試驗機以符合：由旋轉盤、研磨輪、計數器、固定螺栓及真空吸引裝置等所組成。

2.1.1 旋轉盤：可將試片置於中央並予以固定，而且以 $(60 \pm 2)$  rpm 之速度旋轉。

2.1.2 研磨輪(2 個)：各為厚度 $(12.7 \pm 0.2)$  mm，兩個研磨輪安裝於水平軸上並可繞著水平軸自由旋轉，二個研磨輪內側之間距為 $(53.0 \pm 0.5)$  mm，而連結二軸之假想線在距離旋轉盤中心軸 $(19.1 \pm 0.1)$  mm 處，研磨輪之外徑，在新品時應為 $(51.6 \pm 0.1)$  mm，不得小於 44.4 mm。研磨輪之材質為人工皮革(編號 S-39)。

2.1.3 計數器：記錄旋轉盤之旋轉數。

2.1.4 真空吸引裝置：具有兩個管嘴。其中一個應位於兩橡膠輪之中間，而另一個位於通過前者之直徑的相對側。惟兩個管嘴之軸間距離應為 $(75 \pm 2)$  mm，而管嘴與試片間距應為 1mm 至 2mm。當真空吸引裝置在操作位置時，吸引裝置之空氣壓力應小於大氣壓 1.5 kPa 至 1.6 kPa (1 kPa = 10 mbar)。

2.2 法碼：可將 2 個研磨輪質量各增加至 500 克。

2.3 表面重整材：為碟型研磨材，用於調整研磨輪之表面粗度。

2.4 校正用基準板(鋅板)：厚度為 0.8~1 mm，作為校正裝置之用(參考 CNS 15200-5-9)。

#### 3. 試片之製作：

由成品試樣裁取成尺寸 102mm \* 102mm，厚度 7mm 以下做樣品，並於樣品中央鑽一直徑 6~7 mm 之孔，以便於安裝固定於旋轉台。若無法由成品裁取樣品，亦可以以相同材質相同製程製備上述之樣品以供測試

#### 4. 操作：

4.1 試驗條件：溫度 $(23 \pm 2)$  °C 及相對濕度 $(50 \pm 5)$  %。

4.2 以表面重整材置於旋轉盤上，施行研磨輪之重整，旋轉數為 50 轉。研磨試驗時每 500 轉需再重整一次。

4.3 將試片以螺栓鎖緊固定於旋轉盤上，並將計數器歸零。

4.4 起動磨耗試驗機及真空吸引裝置，研磨至 20,000 轉。研磨前後分別以天平量測試片質量以計算磨耗量。

4.5 拆下樣品，再切割成 4 片外形尺寸為 50 mm × 50 mm，依附錄 2 測試抗菌性。

## 5. 判定

V 類抗菌製品經磨耗 20,000 轉/500 克/S39 人工皮革輪磨耗後，確認無露出基材，再經由附錄 2 奈米抗菌製品抗菌性試驗方法測試樣品表面之抗菌率須符合 90 % 以上之判定基準。



## 附錄 7

### 奈米抗菌製品安全性測試—皮膚刺激性測試方法

本試驗係若應用場合有與人體接觸者需做此項測試，廠商須提供測試報告或證明(可由原料商提供)。其測試方法如下述：

#### 1. 概述

本試驗係參考 OECD guideline 404:2002 所規定之方法進行試驗評估，試驗所使用之動物為成年紐西蘭大白兔。將試驗物質或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，以評估試驗物質或試驗物質萃取液對兔子皮膚的刺激性。

#### 2. 試驗物質或試驗物質萃取液製備：

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。萃取方法係依據 ISO 10993-12 [Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials] 之方法進行萃取。萃取方法為使用適合之萃取溶劑，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來計算萃取溶劑所需的體積，萃取溫度則可因測試材料不同而異，一般實施的萃取條件為 37 °C、50 °C、70 °C 或 121 °C，最後將所得之萃取液 (Extract)，進行須測試之生物相容性試驗。

#### 3. 試驗方法

3.1 試驗動物：需使用體重 2 kg 以上單一品系之健康成年紐西蘭大白兔。

3.2 飼養環境與條件：

3.2.1 溫度：(20 ± 3) °C。

3.2.2 相對濕度：(30~70) %。

3.2.3 換氣頻率：(10~15)次/小時。

3.2.4 光照：12 小時之光暗週期。

3.2.5 飼養狀況：個別籠飼。

3.3 材料及方法：

3.3.1 試驗前 18~24 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)。

3.3.2 以肉眼觀察方式檢查動物背部皮膚，確定無任何損傷。

3.3.3 試驗時，將體積約 0.5 mL 的試驗物質或試驗物質萃取液滴在大小約 2.5 cm × 2.5 cm 的透氣紗布上，直接敷貼於兔子動物背部左上方及右下方之部位，測試部位如圖 1 所示。

3.3.4 使用透氣繃帶進行包紮，將含有試驗物質或試驗物質萃取液的透氣紗布固定於兔子背側。

3.3.5 將體積約 0.5 mL 的生理食鹽水滴在大小約 2.5 cm × 2.5 cm 的透氣紗布上，直接敷貼於兔子動物背部左下方及右上方之部位，對照部位如圖 1 所示，並使用

透氣繃帶進行包紮。

- 3.3.6 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或試驗物質萃取液清洗乾淨。
- 3.3.7 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，並根據表 1 之歸類系統對測試部位加以評分。

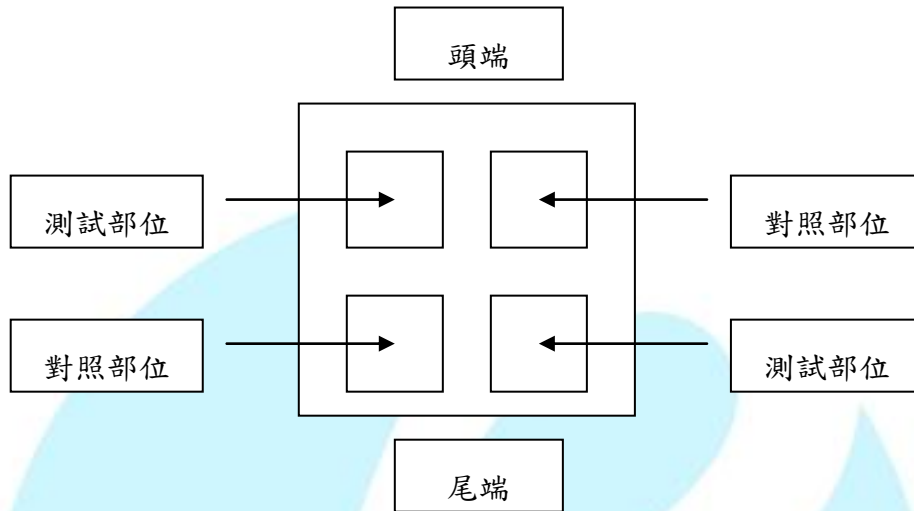


圖 1 皮膚刺激性試驗敷貼示意圖

#### 3.4 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，然後由試驗物質或試驗物質萃取液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或試驗物質萃取液之主要刺激評分值。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表 2 中之數值及敘述界定。

#### 4. 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。

表 1 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

表 2 兔子試驗之刺激反應分類

主要刺激指數(PII) <sup>[註 7]</sup>	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

[註 7]：主要刺激指數 (Primary Irritation Index) 之計算方式係由所有動物「實際主要刺激分值」之總和除以動物總隻數。



## 附錄 8

### 奈米抗菌製品安全性測試—口服急性毒性測試

本試驗係若應用場合有與人體接觸者需做此項測試，廠商須提供測試報告或證明(可由原料商提供)。其測試方法如下述：

#### 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 5 第 2 節之規定。

#### 3. 試驗方法

##### 3.1 實驗動物及飼養環境：

- 3.1.1 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。
- 3.1.2 溫度：(22 ± 3) °C。
- 3.1.3 相對濕度：(30~70) %。
- 3.1.4 換氣頻率：(10~15) 次/小時。
- 3.1.5 光照：12 小時之光暗週期。
- 3.1.6 飼養狀況：不同性別大鼠分開飼養，每籠 2 隻~3 隻。
- 3.1.7 飼料：採無限制供應方式給予。
- 3.1.8 飲水：採無限制供應方式給予。

##### 3.2 試驗設計及方法：

##### 3.2.1 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 <sup>[註 8]</sup>	5	5	口服
雌鼠	試驗物質	5	5	口服

[註 8] 試驗物質或試驗物質萃取液投予

- 3.2.2 每隻大鼠以耳標方式進行標記。
- 3.2.3 將試驗大鼠分成 2 組 (單一性別各 5 隻)。
- 3.2.4 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。
- 3.2.5 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



5g/kg。

- 3.2.6 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。
- 3.2.7 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。
- 3.2.8 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。



## 附錄 9

### 奈米抗菌製品安全性測試—銀溶出性試驗方法

本試驗方法係奈米材料為奈米銀，使用奈米銀做為奈米功能者，需做此項測試。若產品為塑膠管，採用奈米銀表面抗菌功效，具有抗菌功能之效果，可用於建築、土木或儲水之建築工程者，其檢測方法請參考附錄 11 或 TN-047 奈米銀抗菌工程用塑膠網管驗證規範。

#### 1. 設備

1.1 感應耦合電漿質譜儀 - 參考 ASTM D5673 [Standard test method for elements in water by inductively coupled plasma-mass spectrometry]之規定，或可選用其他偵測極限達 0.05 mg/L 以下之儀器設備。

#### 1.2 原理

感應耦合電漿質譜儀 (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer, ICP-MS) 結合感應耦合電漿的高游離能力與磁場式質量分析器的高質量解析度，使其成為具備快速、高精確及高準確度的微量元素分析利器，絕大部分元素的偵測極限可達  $\mu\text{g/L}$  等級，特別適合用來精確分析環境中極微量的重金屬元素或過渡元素的濃度。ICP-MS 主要包含樣品導入系統、感應耦合電漿離子源和質譜儀三大構造，樣品經霧化器以高速氣流產生壓力差，將液體霧化再導入感應耦合電漿炬焰管中，分析試樣於高溫電漿中分解、游離，再進入質譜儀進行偵測分析。

#### 2. 銀溶出試驗

##### 2.1 樣品製備

奈米銀抗菌馬桶用水箱塑膠零件大小為  $50\text{ mm} \pm 2\text{ mm}$  (厚度 10 mm 以內) 的正方形奈米銀塑膠試片。

##### 2.2 測試方式

奈米銀塑膠試片置入含去離子水的容器中 (去離子水與容器之 Ag 含量皆須 0.01 mg/L 以下)，所加水量為試片表面積每  $\text{cm}^2$  對應 2 mL 去離子水，密封容器口於室溫靜置 7 天後，再取出水樣進行 ICP-MS 或其他偵測極限達 0.05 mg/L 以下之儀器設備的銀溶出定量分析。

#### 3. 判定

銀溶出測試結果須小於 0.05 mg/L。

## 附錄 10

### 奈米光觸媒抗菌製品抗菌性試驗方法

本試驗方法係奈米材料為奈米光觸媒，使用奈米光觸媒做為奈米功能者，需做此項測試，其檢測方法如下述：

#### 1. 試驗準備

##### 1.1 試藥及器材

1.1.1 酒精：純度 95 % 以上，試劑級。

1.1.2 覆蓋薄膜：材質為聚乙烯、聚丙烯、或聚酯纖維，應不影響試驗菌株發育，無吸水性，大小為(40 ± 2) mm 的正方形，厚度無特別規定，但密著性要好，主要功能是讓撥水性試片也能均一且確實接觸菌液。

1.1.3 氯化鈉：生理食鹽水，濃度 0.85 % (W/W)。

1.1.4 氫氧化鈉溶液：濃度 0.1 mol/L。

1.1.5 鹽酸溶液：濃度 0.1 mol/L。

1.1.6 非離子型界面活性劑：聚氧乙烯山梨糖醇酐單油酸酯 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate) (Polysorbate 80) 【聚山梨醇酯 80 (Tween 80)】。

1.1.7 培養皿：拋棄式培養皿或玻璃培養皿。皿底之內外應平坦、無氣泡、無刮傷或其他缺點。

1.1.8 高溫高壓滅菌釜：用於培養基和稀釋水等不能乾熱滅菌之材料及用具等之滅菌，能保持溫度 121 °C 及壓力 103 kPa (1.05 kg/cm<sup>2</sup>) 至少 15 min。

1.1.9 乾熱滅菌器：用於試片與玻璃器皿等用具之滅菌。可保持在 160 °C 至少 2 h 或 170 °C 至少 1 h。

1.1.10 接種環：前端環圈約 4 mm 白金耳或拋棄式接種環。

1.1.11 培養箱：能保持溫度(35 ± 1) °C。

1.1.12 量筒：100 mL、500 mL 及 1,000 mL 之量筒。

1.1.13 三角錐瓶：250 mL、500 mL、1,000 mL 及 2,000 mL，其材質能適用於高溫高壓滅菌釜。

1.1.14 玻璃試管：其材質能適用於高溫高壓滅菌釜。

1.1.15 生物安全櫃：符合生物安全等級第二級或同等性能之無菌操作台。

1.1.16 菌落計數器：用於計算菌落數目。

##### 1.2 試驗菌株

1.2.1 金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (BCRC<sup>[註 1]</sup> 10451, ATCC<sup>[註 2]</sup> 6538P)。

1.2.2 大腸桿菌 *Escherichia coli* (BCRC<sup>[註 1]</sup> 11634, ATCC<sup>[註 2]</sup> 8739)

[註 1]: 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 2]: ATCC (American Type Culture Collection)：美國標準菌株中心。

##### 1.3 培養基調製

依下列配方配製培養基，或使用市售培養基均可。

1.3.1 營養瓊脂培養基 (Nutrient Agar, NA)<sup>[註 3]</sup>

蛋白朊(Peptone)	5.0 g
肉精(Meat Extract)	3.0 g
瓊脂粉末(Agar powder)	15.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.6~7.0 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

註<sup>(3)</sup>：參考 CNS 15380：2010。

1.3.2 營養培養液 (Nutrient Broth, NB)<sup>[註 3]</sup>

蛋白朊(Peptone)	10.0 g
肉精(Meat Extract)	3.0 g
氯化鈉(Sodium Chloride)	5.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 7.0~7.2 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

1.3.3 1/500 營養培養液 (1/500 Nutrient Broth, 1/500 NB)<sup>[註 4]</sup>

用蒸餾水/去離子水稀釋項次(2)配製之 NB，並以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C)，使其體積成為 500 倍，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 週不應再使用。

1.3.4 SCDLP 液體培養基 (Soya Casein Digest Lecithin Polysorbate broth)<sup>[註 5]</sup>

酪蛋白製蛋白朊(Casein Peptone)	17.0 g
大豆製蛋白朊(Soybean Peptone)	3.0 g
氯化鈉(sodium chloride)	5.0 g
磷酸二氫鉀(Potassium dihydrogen phosphate)	2.5 g
葡萄糖(Glucose)	2.5 g
卵磷脂(Lecithin)	1.0 g
非離子型界面活性劑(Nonionic Surfactant)	7.0 g
蒸餾水/去離子水	1,000 mL

以氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C)，經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

1.3.5 磷酸緩衝液 (Phosphate Buffer Solution)<sup>[註 4]</sup>

以 500 mL 蒸餾水/去離子水溶解 34.0 g 磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)，使用氫氧化鈉溶液或鹽酸溶液調整 pH 值為 6.8~7.2 (25 °C) 後，加蒸餾水/去離子水至 1000 mL。經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。



### 1.3.6 磷酸緩衝生理食鹽水 (Phosphate Buffered Physiological Saline) [註4]

以生理食鹽水稀釋項次(5)配製之磷酸緩衝液至 800 倍。經高溫高壓滅菌釜滅菌 15 min 後備用。若無法完全使用完，應置於(5~10) °C 環境中保存，若配製後超過 1 個月不應再使用。

### 1.4 試驗菌珠的活化與保存

自菌種保存機構取得的菌株，依所附活化說明書進行活化。進行活化後，移植一白金耳量至 NA 培養基，於(35 ± 1) °C 下培養(24~48) h 後，以(5~10) °C 冷藏保存。保存有效期限為 1 個月，在保存期限內可持續再使用，而再使用的次數，以 5 次為限[註3]。

### 1.5 試驗菌珠前培養

將 1.4 節活化後的試驗菌株移植至 NA 培養基，最適培養溫度為(35 ± 1) °C，培養(16~24) h 後，再移植一白金耳量至新的 NA 培養基，最適培養溫度為(35 ± 1) °C，培養(16~20) h。

### 1.6 接種用菌液濃度調製

取 1.5 節前培養之一白金耳試驗菌株，均勻地懸溶於適量之 1/500 NB，並將接種用菌液依適當方法(如光密度法)推算其生菌數，並調整至  $(6.7 \times 10^5 \sim 2.6 \times 10^6)$  個/mL [註3]。若須保存可置於冰上(0 °C)，但不可超過 2 h。

## 2. 樣品製備

- 2.1 將標準試驗板裁切為邊長(50 ± 2) mm (厚度 10 mm 以內) 表面平整之正方形塊，作為標準尺寸之試驗板。試驗板材料應依當事人間之協議決定。
- 2.2 將送測之奈米光觸媒抗菌塗料均勻塗布於試驗板上以作為試片。塗佈方法應依當事人間之協議決定。
- 2.3 試驗組試片(有奈米光觸媒抗菌塗料加工)共 8 片：2 菌種 × 各 2 片(即 2 重覆) × 2 條件(明條件與暗條件)。
- 2.4 對照組試片(無奈米光觸媒抗菌之塗料加工)共 8 片：2 菌種 × 各 2 片(即 2 重覆) × 2 條件(明條件與暗條件)。無對照組試片時，可以覆蓋薄膜取代，大小為(50 ± 2) mm 的正方形。
- 2.5 試片全面以脫脂棉沾酒精(95 % 以上)輕輕擦拭(2~3) 回，並放置使乾燥。如以酒精擦拭會造成試片軟化、表面塗層溶解、成分溶出等，並且判斷此原因會影響到測試結果時，可用無菌水或在不加以清潔的情況下進行測試。若以其他方式進行，須於測試報告說明。
- 2.6 暗條件試驗的試片須保存於密封及黑暗無光狀態下 48 h 以上，且須在黑暗無光下進行試驗。

## 3. 試驗操作

### 3.1 抗菌性測試

#### 3.1.1 光照射條件

紫外光照射[註9]：波長(315~400) nm，待測物之測試表面(覆蓋薄膜上)，接

收  $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  的能量。

[註 9]：參考 CNS 15380：2010 精密陶瓷—光線照射下光觸媒抗菌加工製品之抗菌性能測定法之第 9.2 節光線照射條件。

### 3.1.2 接種對照組試驗（即空白組）

培養皿 4 個（2 重覆 × 2 菌種），分別將覆蓋薄膜（大小為  $(50 \pm 2)$  mm 的正方形）放入，接種 0.15 mL 接種用菌液（ $6.7 \times 10^5 \sim 2.6 \times 10^6$  菌/片），然後在其上面覆蓋薄膜（大小為  $(40 \pm 2)$  mm 的正方形）。

### 3.1.3 暗條件對照組試驗（2 重覆/株菌）

無奈米光觸媒塗料加工試片 4 片（2 重覆 × 2 菌種，無試片時以覆蓋薄膜代替），分別放於培養皿中，接種 0.15 mL 接種用菌液，然後在其上面覆蓋薄膜，置於  $(23 \pm 2)$  °C 環境及黑暗無光中 24 h。

### 3.1.4 明條件對照組試驗（2 重覆/株菌）

無奈米光觸媒塗料加工試片 4 片（2 重覆 × 2 菌種，無試片時以覆蓋薄膜代替），分別放於培養皿中，接種 0.15 mL 接種用菌液，然後在其上面覆蓋薄膜，於  $(23 \pm 2)$  °C 環境中，依 3.1.1 節規定的光照射條件，連續照射 24 h。

### 3.1.5 暗條件試驗組試驗（2 重覆/株菌）

奈米光觸媒抗菌塗料試片 4 片（2 重覆 × 2 菌種），分別放於培養皿中，接種 0.15 mL 接種用菌液，然後在其上面覆蓋薄膜，於  $(23 \pm 2)$  °C 環境及黑暗無光中 24 h。

### 3.1.6 明條件試驗組試驗（2 重覆/株菌）

奈米光觸媒抗菌塗料試片 4 片（2 重覆 × 2 菌種），分別放於培養皿中，接種 0.15 mL 接種用菌液，然後在其上面覆蓋薄膜，於  $(23 \pm 2)$  °C 環境中，依 3.1.1 節規定的光照射條件，連續照射 24 h。

## 3.2 生菌數的測定

### 3.2.1 接種對照組 A（即空白組）

接種後立即（接觸 0 h）用 10 mL SCDLP 培養基充分洗出附著之菌。並依生菌數法以 NA 培養基在  $(35 \pm 1)$  °C 下培養（24~48）h，測出洗出之液體 1 mL 中之生菌數（個/mL），並求出 2 個（重複）生菌數的平均值。其 10 倍的值稱之為 A「接種對照組」（即接種後立即洗下之菌數）。而測定生菌數時之稀釋液為滅菌之磷酸緩衝生理食鹽水。

### 3.2.2 暗條件對照組 B0

經 24 h 黑暗無光保存後之暗條件對照組（2 片），分別與前項一樣，測出其生菌數，並求出 2 個生菌數的平均值。其 10 倍的值稱之為 B0。

### 3.2.3 明條件對照組 B1

經 24 h 照光後之明條件對照組（2 片），分別與前項一樣，測出其生菌數，並求出 2 個生菌數的平均值。其 10 倍的值稱之為 B1。

### 3.2.4 暗條件試驗組 C0

經 24 h 黑暗無光保存後之暗條件試驗組（2 片），分別與前項一樣，測出其生



菌數，並求出 2 個生菌數的平均值。其 10 倍的值稱之為  $C0$ 。

### 3.2.5 明條件試驗組 $C1$

經 24 h 照光後之明條件試驗組 (2 片)，分別與前項一樣，測出其生菌數，並求出 2 個生菌數的平均值。其 10 倍的值稱之為  $C1$ 。

## 4. 試驗成立條件

4.1 對於「接種對照組」 $A$  及「暗條件對照組」 $B0$  之各 2 個生菌數，依下列公式計算，其計算值在 0.2 以下。

$$\text{「(最高對數值-最低對數值) / 對數平均值」} \leq 0.2。$$

4.2 對於「接種對照組」 $A$ 、「暗條件對照組」 $B0$  及「明條件對照組」 $B1$  的減少率在 90 % 以下。

$$(A-B0)/A \times 100 \leq 90$$

$$(A-B1)/A \times 100 \leq 90$$

4.3 對於「接種對照組」 $A$  的 2 個生菌數，其平均值在  $(1.0 \times 10^5 \sim 4.0 \times 10^5)$  個/試片範圍內。

4.4 對於「暗條件試驗組」 $C0$  的各 2 個生菌數在  $1.0 \times 10^3$  個以上。若暗條件試驗組之生菌數小於  $1.0 \times 10^3$  個，即表示其抗菌能力來自樣品本身，而非由奈米光觸媒所產生之抗菌性。

## 5. 結果

$$5.1 R = \frac{B1 - C1}{B1} \times 100 \%$$

式中， $R$  = 抗菌率 (%)，表示到小數點以下第二位。

$B1$  = 對照組菌數

$C1$  = 試驗組菌數

5.2 光線照射對光觸媒抗菌加工製品的效果  $\Delta R$

$$\Delta R = \log[B1/C1] - \log[B0/C0] \text{ (表示到小數第二位)}$$

式中， $\Delta R$  = 光線照射對光觸媒抗菌加工製品的效果

## 附錄 11

### 奈米抗菌製品安全性測試—銀溶出試驗方法

本試驗方法係產品為塑膠管等可用於建築、土木或儲水之建築工程者，採用奈米材料為奈米銀，使奈米銀具有奈米功能，其檢測方法如下述，或請參考 TN-047 奈米銀抗菌工程用塑膠網管驗證規範。

#### 1. 設備

- 1.1 高解析感應耦合電漿質譜儀 (HR ICP-MS)，或可達到規格要求之適用儀器設備。參考 NIEA W311.52C。
- 1.2 功能簡介：一般分析的對象包括材料（如半導體）、金屬、觸媒…有機/無機混成微孔材料中元素組成分析。

#### 2. 測試方式

- 2.1 自奈米銀抗菌製品裁切 5 cm × 5 cm 大小之奈米銀塑膠試片，置入 200mL 工業用純水中 (Ag 含量 0.01 ppm 以下)，於室溫靜置 7 天後，再取出水樣做銀分析。其銀析出測試結果須小於 0.05 ppm。
- 2.2 自奈米銀抗菌製品裁切 5 cm × 5 cm 大小之奈米銀塑膠試片，置入 3% 硝酸的水溶液 (PH 約 0.2) 中，於室溫靜置 6 小時後，再取出水樣做銀分析。其銀溶出測試結果須小於 0.05 ppm。