ICS 11.040.40
C 45

1599

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1699—2020
代替 YY/T 0606.7—2008

组织工程医疗器械产品　壳聚糖

Tissue engineering medical device products—Chitosan

2020-02-21 发布　　2021-01-01 实施

国家药品监督管理局　发布

手机发送防伪码至13720083315
网站www.cnfw315.com
电话4006982315
刮涂层 查真伪

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 YY/T 0606.7—2008《组织工程医疗产品　第 7 部分：壳聚糖》，与 YY/T 0606.7—2008 相比，除编辑性修改外主要技术变化如下：

——标准名称修改为“组织工程医疗器械产品　壳聚糖”；

——删除了 YY/T 16886 系列规范性引用文件（仅 GB/T 16886.1、GB/T 16886.7 和 GB/T 16886.12 保留）（见第 2 章，2008 年版的第 2 章）；

——增加了规范性引用文件 YY/T 0771.1～0771.3《动物源医疗器械》（见第 2 章）；

——修改了规范性引用文件以及《中华人民共和国药典》的版本年号（见第 2 章，2008 年版的第 2 章）；

——修改了分类（见第 4 章，2008 年版的第 4 章）；

——修改了动物源性材料要求（见第 5 章，2008 年版的第 5 章）；

——修改了性状的要求（见 6.1，2008 年版的 6.1）；

——增加了傅里叶变换红外光谱的部分主要特征峰（见 6.2，2008 年版的 6.2）；

——增加了含量的要求及试验方法（见 6.3、7.3 及附录 A）；

——修改了脱乙酰度试验方法（见 7.4，2008 年版的 7.3）；

——修改了 pH 的要求及试验方法（见 6.5、7.5，2008 年版的 6.4、7.4）；

——增加了分子量及分布系数的要求及试验方法（见 6.7、7.7 及附录 B）；

——修改了重金属含量的试验方法（见 7.8，2008 年版的 7.6 及附录 A）；

——修改了蛋白质试验方法（见附录 C，2008 年版的附录 B）；

——修改了乙醇（有机溶剂）残余量的要求及试验方法（见 6.10 及附录 D，2008 年版的 6.8 及附录 C）；

——删除了灰分的要求及试验方法（2008 年版 6.10、7.10）；

——增加了炽灼残渣的要求及试验方法（见 6.12、7.12）；

——增加了砷盐的要求及试验方法（见 6.14、7.14 ）；

——修改了细菌内毒素限量要求（见 6.15，2008 年版的 6.12）；

——修改了无菌试验要求及试验方法（见 6.16，7.16，2008 年版的 6.13 及 7.13）；

——增加了微生物限量的要求及试验方法（见 6.17、7.17）；

——删除了生物学评价的具体要求及试验方法，仅保留总则（见 6.18、7.18，2008 年版的 6.14 及 7.14、7.15）；

——删除了第 7 章检验规则（见 2008 年版的第 8 章）；

——删除了附录 D 背景资料（见 2008 年版的附录 D）；

——增加了参考文献“动物源性医疗器械产品注册申报资料指导原则”和欧洲药典（见参考文献）；

——修改了参考文献 ASTM F2103-01 版本号（见参考文献，2008 年版的参考文献）。

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。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准由全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会组织工程医疗器械产品分技术委员会（SAC/TC 110/SC 3）归口。

本标准起草单位：上海其胜生物制剂有限公司、中国食品药品检定研究院、青岛博益特生物材料股

份有限公司。

本标准主要起草人：蒋丽霞、魏长征、郭盼盼、徐丽明、邵安良、韩宝芹、宋福来。

组织工程医疗器械产品　壳聚糖

1　范围

本标准规定了用于制备组织工程医疗器械产品的壳聚糖及其盐的要求、试验方法等。

本标准适用于制备组织工程医疗器械产品的壳聚糖及其盐。

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 191　包装储运图示标志

GB/T 16886.1　医疗器械生物学评价　第1部分：风险管理过程中的评价与试验

GB/T 16886.7　医疗器械生物学评价　第1部分：环氧乙烷灭菌残留量

GB/T 16886.12　医疗器械生物学评价第12部分：样品制备与参照样品

GB 18278.1　医疗保健产品灭菌　湿热　第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求

GB 18279.1　医疗保健产品灭菌　环氧乙烷　第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制的要求

GB 18280.1　医疗保健产品灭菌　辐射　第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求

YY/T 0313　医用高分子制品包装、标志、运输和贮存

YY/T 0771.1　动物源医疗器械　第1部分风险管理应用

YY/T 0771.2　动物源医疗器械　第2部分：来源、收集与处置的控制

YY/T 0771.3　动物源医疗器械　第3部分：病毒和传播性海绵状脑病(TSE)因子去除与灭活的确认

《中华人民共和国药典》(2015年版)四部

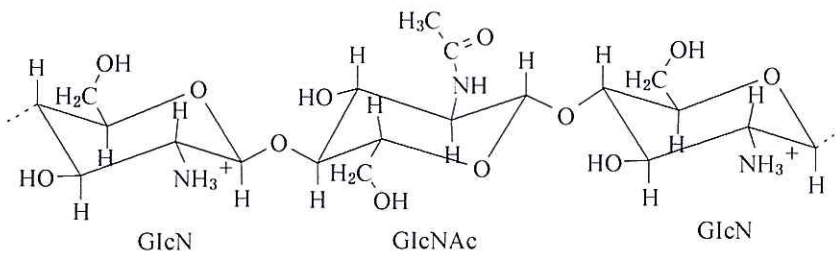
3　术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

壳聚糖　chitosan

由2-氨基-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖(GlcN)和2-乙酰氨基-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖(GlcNAc)通过β(1→4)连接而成的线性多糖。其结构式为：



3.2

脱乙酰度　degree of deacetylation

一个壳聚糖分子中葡萄糖胺单元(脱乙酰基的单元)的摩尔分数。

4　分类

按照是否与酸结合，可分为壳聚糖、壳聚糖盐酸盐、壳聚糖乙酸盐、壳聚糖谷氨酸盐和壳聚糖乳酸盐。

5　动物源性材料要求

动物组织中提取制备的壳聚糖及其盐应按照 YY/T 0771.1、YY/T 0771.2 、YY/T 0771.3 的要求进行管理和控制。

6　要求

6.1　性状

类白色或淡黄色粉末状、丝状或片状的固体，无臭。

6.2　傅里叶变换红外光谱(FT-IR)

壳聚糖或壳聚糖盐傅里叶变换红外光谱应符合相应的特征峰，宽峰(b)数值偏差不大于 150 cm^{-1}，其他峰数值偏差不大于 20 cm^{-1}。壳聚糖或壳聚糖盐典型的 FT-IR 频率(cm^{-1})如表 1 所示。

表 1　傅里叶变换红外光谱主要特征峰

基团		壳聚糖	壳聚糖乙酸盐	壳聚糖盐酸盐	壳聚糖谷氨酸盐	壳聚糖乳酸盐
特征峰	υ(O－H)+υ(N－H)	3447(b)	3362(b)	3344(b)		3420(b)
	υ(C－H)	2929				2934
	υ(C＝O)羧基					1736
	υ(C＝O)酰胺Ⅰ带	1652				
	δ(NH_2)			1605		
	δ(N－H)+υ(C－N) 酰胺Ⅱ带		1556	1513	1555(b)	1591
	δ(CH_2)+δ(CH_3)		1406			1458
	δ(CH_2)+δs(CH_3)	1380		1379	1396	1384
	υ(C－O)		1153	1154	1154	
	δ(C－O－C)	1070(s)	1083(s)	1086(s)	1085(s)	1086(s)

注：s——强峰；b——宽峰。

6.3 含量

以干燥品计算，壳聚糖或其盐的含量应不小于85%。

6.4 脱乙酰度

应为标示值的90%～110%。

6.5 pH

壳聚糖检测液的pH应为5.0～8.0；壳聚糖盐检测液的pH应为4.0～6.0。

6.6 动力黏度

在20 ℃时壳聚糖的动力黏度不得超过标示量的80%～120%。

注：以mPa·s或Pa·s为单位标明黏度。

6.7 重均分子量及相对分子质量分布

壳聚糖或其盐重均分子量和相对分子质量分布（$\overline{M_w}/\overline{M_n}$）由制造商确定。

6.8 重金属含量

重金属含量（以Pb计）应不大于10 μg/g（质量分数）。

6.9 蛋白质含量

壳聚糖蛋白质残留量应不大于0.2%（质量分数）。

6.10 乙醇等有机溶剂残余量

乙醇残余量应不大于0.5%（质量分数）。

注：如在加工过程中使用了除乙醇之外的其他有机溶剂，应建立相应的检验指标和检验方法。

6.11 干燥失重

应不大于10%（质量分数）。

6.12 炽灼残渣

应不大于1.0%（质量分数）。

6.13 不溶物

应不大于0.5%（质量分数）。

6.14 砷盐

不得过百万分之一。

6.15 细菌内毒素含量

每1.0 mg壳聚糖或其盐细菌内毒素含量应小于0.05 EU。

注：如果以非无菌的方式提供，则最终用户需进行去除细菌内毒素的处理以达到细菌内毒素限量要求。

6.16 无菌试验

应无菌。如果壳聚糖或其盐以无菌方式提供，应进行该项目的检测，并按照 GB 18278.1、GB 18279.1、GB 18280.1 进行无菌工艺确认。如果采用环氧乙烷灭菌，还应按照 GB/T 16886.7 对其残留量进行控制和检测。

6.17 微生物限度

每克(g)供试品中需氧菌总数小于 100 CFU，霉菌和酵母菌菌落数小于 20 CFU，不得检出金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌。

注：如果壳聚糖或其盐以非无菌的方式提供，则进行该项目的检测。

6.18 生物学性能

应按照 GB/T 16886.1 的要求对壳聚糖及其盐进行生物学评价。

7 试验方法

7.1 性状

肉眼直接观测，应符合 6.1 规定。

7.2 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)

按照《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部，通则 0402，红外分光光度法规定的方法测定，应符合 6.2 规定。

注：用溴化钾压片作为仲裁方法。

7.3 含量

按照附录 A 的方法测定，应符合 6.3 规定。

7.4 脱乙酰度

7.4.1 脱乙酰度可采用以下方法测定，但不限于以下方法，应符合 6.4 规定。

7.4.2 壳聚糖盐样品的制备

称取约 2g 壳聚糖盐，置烧杯中，加乙醇 100 mL，边搅拌边滴加 10%氢氧化钠溶液，至 pH 大于 8。过滤，用水洗涤沉淀物至洗出液呈中性，50 ℃干燥 4 h，再于 105 ℃干燥至恒重，作为供试品。

7.4.3 脱乙酰度测定-酸碱滴定法

准确称取在 105℃下干燥至恒重的样品 0.2 g～0.3 g，置于 250 mL 锥形瓶中，加入 0.1 mol/L 的盐酸滴定液 30 mL，在 20 ℃～25 ℃下搅拌至完全溶解(可加入适量水稀释)。加入甲基橙-苯胺蓝(将 0.1%的甲基橙水溶液和 0.1%苯胺蓝水溶液以 1∶2 体积比混合)指示剂 5 滴～6 滴，用氢氧化钠滴定液(0.1 mol/L)滴至红色褪去。按式(1)和式(2)计算。

$$p=\frac{(c_1V_1-c_2V_2)\times10^{-3}\times16}{m}\times100\% \quad \cdots\cdots(1)$$

$$D.D=\frac{203\times p}{16+42\times p}\times100\% \quad \cdots\cdots(2)$$

式中：

p ——样品中氨基含量，%；

c_1 ——盐酸滴定液的浓度，单位为摩尔每升(mol/L)；

V_1 ——盐酸滴定液的体积，单位为毫升(mL)；

c_2 ——氢氧化钠滴定液的浓度，单位为摩尔每升(mol/L)；

V_2 ——氢氧化钠滴定液的体积，单位为毫升(mL)；

16 ——氨基的相对分子质量；

m ——样品质量，单位为克(g)；

$D.D$ ——样品的脱乙酰度，%；

203 ——N-乙酰氨基-D-葡萄糖结构单元相对分子质量；

42 ——乙酰基的相对分子质量。

7.4.4 脱乙酰度测定——双突跃电位滴定法

准确称取在105 ℃下干燥至恒重的样品0.2 g～0.3 g，加入过量的0.1 mol/L盐酸滴定液，搅拌至完全溶解。然后在电位滴定装置上用氢氧化钠滴定液滴定，氢氧化钠滴定液首先中和过量的HCl，pH出现急剧上升，即第一个突变，然后氢氧化钠滴定液再中和与壳聚糖的氨基结合的盐酸，达到滴定等当点时，pH出现第二个突变，两个突跃点消耗的氢氧化钠摩尔数相当于样品中的氨基摩尔数。按式(3)计算。

$$D.D(\%)=\frac{\Delta V\times c_{NaOH}\times 10^{-3}\times 16}{m\times 0.0994} \quad \cdots\cdots(3)$$

式中：

$D.D$ ——样品的脱乙酰度，%；

ΔV ——两突跃点之间消耗的氢氧化钠滴定液体积之差，单位为毫升(mL)；

c_{NaOH} ——氢氧化钠滴定液的浓度，单位为摩尔每升(mol/L)；

m ——样品质量，单位为克(g)；

16 ——氨基的相对分子质量；

0.0994 ——理论氨基含量。

以方法7.4.4为仲裁方法。

7.5 pH

取壳聚糖盐，用纯化水制成10 mg/mL的溶液，搅拌溶解，制备检测液；取壳聚糖，以10 mg/mL的比例加入纯化水，在37 ℃±1 ℃于密闭容器中浸提24 h，制备检测液，按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部通则0631 pH测定法测定，应符合6.5规定。

7.6 动力黏度

壳聚糖/壳聚糖盐用1%乙酸溶液/纯化水溶解至浓度为10 mg/mL的溶液，搅拌溶解后，按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部通则0633黏度测定法第三法测定，采用旋转式黏度计或流变仪，在规定的转速和转子号或剪切速率，20 ℃±0.5 ℃条件下，应符合6.6规定。

7.7 重均相对分子质量及相对分子质量分布

按照附录B规定的方法测定，应符合6.7规定。

7.8 重金属含量

按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则0821，重金属检查法(第二法)测定。若按该法操作溶液有颜色，可按2015年版四部，通则0821，重金属检查法(第一法)第一段中“若供试液带颜色”进行。应符合6.8规定。

7.9 蛋白质含量

按照附录C规定的方法测定，应符合6.9规定。

7.10 乙醇残余量

按照附录D规定的方法测定，应符合6.10规定。

7.11 干燥失重

按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则0831，干燥失重测定法，取本品1.0 g，在105 ℃±2 ℃下干燥至恒重，按照干燥后重量与取样量进行计算，应符合6.11规定。

7.12 炽灼残渣

按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则0841，炽灼残渣检查法，取本品1.0 g进行测定，应满足6.12要求。

7.13 不溶物

准确称取供试品2.0 g，壳聚糖用1%乙酸溶液或壳聚糖盐用纯化水400 mL溶解，待完全溶解后。将溶液转移至2 L容器中，加纯化水200 mL。加热至沸腾并保持微沸2 h，加热过程中盖住烧杯口。用砂芯漏斗(3#)过滤，用水洗涤残留物，100 ℃～105 ℃干燥至恒重，按照残留物重量与取样量进行计算，应符合6.13规定。

7.14 砷盐

取本品2.0 g，加氢氧化钙1.0 g，混合，加水2 mL，搅拌均匀，置水浴上蒸干，以小火烧灼至炭化，后以500 ℃～600 ℃炽灼使完全炭化，放冷，加盐酸5 mL，加水23 mL，按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则0822，砷盐检查法(第一法)测定，应符合6.14规定。

7.15 细菌内毒素含量

壳聚糖用细菌内毒素检查用水浸提或壳聚糖盐用细菌内毒素检查用水溶解，按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则1143，细菌内毒素检查法测定，应符合6.15规定。

7.16 无菌试验

按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则1101，无菌检查法测定，应符合6.16规定。

7.17 微生物限度

按照《中华人民共和国药典》(2015年版)四部，通则1105，非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法测定，通则1106，非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法测定，应符合6.17规定。

7.18 生物学性能

按照GB/T 16886.12规定的方法制备实验样品，按照GB/T 16886.1确定相关生物学评价试验。

8 标志

8.1 大包装应有下列标志：

a) 生产厂名和地址；
b) 产品名称；
c) 执行标准编号；
d) 规格和数量；
e) 生产批号或日期；
f) 失效日期；
g) 贮存条件。

8.2 小包装应有下列标志：

a) 产品名称；
b) 生产厂名和地址；
c) 规格和数量；
d) 生产批号或日期；
e) 原料来源；
f) 失效日期；
g) 贮存条件；
h) 灭菌方法；
i) 适用范围。

8.3 贮运标志

应符合 GB/T 191 中的规定。

注：可参考 YY 0466.1 中所给出的图形符号满足上述要求。

9 包装、运输和贮存

9.1 应采用适宜的包装，确保壳聚糖及其盐产品的安全性和有效性。

9.2 产品的包装、贮存、运输应符合 YY/T 0313 的规定。

附 录 A
（规范性附录）
含 量 测 定

A.1 测定方法

按《中华人民共和国药典》（2015 年版）四部，通则 0704，氮测定法第二法（半微量法）规定的方法进行。

A.2 结果计算

壳聚糖含量按照式（A.1）和式（A.2）（壳聚糖及其一元羧酸盐）、式（A.3）（壳聚糖二元羧酸盐）计算：

$$N=\frac{(V_1-V_0)\times c\times 2\times 14}{m\times(1-F)} \quad \cdots\cdots(A.1)$$

$$w=\frac{N\times\overline{m}}{14\times 1\,000}\times 100\% \quad \cdots\cdots(A.2)$$

$$w=\frac{2\times N\times\overline{m}}{14\times(2+DD\%)\times 1\,000}\times 100\% \quad \cdots\cdots(A.3)$$

式中：

N ——待检样品中的总氮含量，单位为毫克每克（mg/g）；

m ——待检样品质量，单位为克（g）；

F ——待检样品中水分含量，%；

V_1 ——样品管消耗标准硫酸溶液体积，单位为毫升（mL）；

V_0 ——空白管消耗标准硫酸溶液体积，单位为毫升（mL）；

c ——标准硫酸溶液的浓度，单位为摩尔每升，（mol/L）；

w ——壳聚糖含量，%；

14 ——氮原子质量；

$\overline{M}$ ——理论条件下，壳聚糖或其盐单元平均相对分子质量。

壳聚糖或壳聚糖盐单元平均相对分子质量计算式：

壳聚糖及其一元羧酸盐：$203-42\times DD\%+M\times DD\%$ ……（A.4）

壳聚糖二元羧酸盐：$203-42\times DD\%+1/2\times M\times DD\%$ ……（A.5）

式中：

M ——壳聚糖盐的羧酸根摩尔质量[壳聚糖：0；盐酸盐：36.5；乙酸盐：60；乳酸盐：90；谷氨酸盐（$C_5H_9NO_4$）：147]；

$DD\%$ ——壳聚糖或其盐的脱乙酰度，%。

注：$\overline{M}$ 应根据壳聚糖或其盐的脱乙酰度的不同给定。

附 录 B
（规范性附录）
重均相对分子质量及相对分子质量分布系数测定

B.1 原理

光散射法是测定高聚物绝对分子质量的方法。高分子溶液可视为不均匀介质，当光通过它时，入射光就会发生散射。其散射光强度远高于纯溶剂，并且与高聚物的相对分子质量链形态、溶液浓度、散射光角度和折光指数增量(dn/dc)密切相关。因此由光散射法测得不同浓度(c)的高聚物溶液在不同散射角(θ)下的散射光强(I_θ)数据后，即可求得其重均相对分子质量(M_w)等。若要得到相对分子质量分布系数，可采用激光散射-凝胶渗透色谱联用法(LLS-GPC)。

B.2 设备

分析天平、激光散射仪、示差检测器、HPLC 泵、柱温箱、保护柱、线性柱(TSKG6000PWXL-CP)或相关色谱柱、1.0 mL 进样环。

B.3 溶液制备

B.3.1 流动相(推荐)

0.25 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 4.5、0.2‰叠氮化钠)：准确称取乙酸钠 205 g、叠氮化钠 2.0 g，用冰乙酸调 pH 至 4.5，加蒸馏水溶解并稀释至 10 000 mL，并用 0.45 μm 的滤膜过滤。

B.3.2 样品制备

准确称取供试品适量，用上述流动相溶解并稀释至适宜浓度，用 0.22 μm 过滤器过滤。

B.3.3 样品制备(dn/dc 测定)

准确称取供试品适量，用上述流动相溶解并稀释至适宜浓度，再用流动相按照 1∶5、2∶4、3∶3、4∶2、5∶1 的浓度比进行梯度稀释，配制成 6 个不同浓度的系列样品，用 0.22 μm 过滤器过滤。

B.4 步骤

B.4.1 折光指数增量(dn/dc)：用流动相清洗后的进样器，依次从低浓度到高浓度抽取适量样品，注入示差检测器，在基线出现平行时采集数据 1 min，通过仪器系统测定出 dn/dc。

B.4.2 将色谱柱与激光散射仪和示差检测器连接，流动相冲洗至基线平稳后，取适量样品溶液进样，在规定流速、色谱柱温度条件下检测样品的相对分子质量及相对分子质量分布。

B.5 结果计算

检测完毕后，通过仪器配套的色谱分析软件确定样品的峰面积，输入 dn/dc 值，根据软件要求设置

其他相关参数，计算相对分子质量及相对分子质量分布系数并输出报告。

注 1：同一物质在同一溶剂下的折光指数增量为一恒值。

注 2：可采用凝胶色谱法，但应予以验证并在报告中说明。

附 录 C
（规范性附录）
蛋白质含量测定

C.1 原理

考马斯亮蓝(Coomassie Brilliant Blue)G-250 具有两种色调，在游离状态下呈红色，与蛋白质结合后转为青色，蛋白质与染料结合物在 595 nm 处有最大光吸收，且吸光度与蛋白质含量成正比，可用比色法测定。

C.2 设备

C.2.1 分析天平。
C.2.2 紫外分光光度计。
C.2.3 旋涡式混合器。

C.3 溶液制备

C.3.1 考马斯亮蓝 G-250 试液：称取考马斯亮蓝 G-250 100 mg 溶解于 50 mL 的 95%乙醇中，再加入浓盐酸 50 mL，并用水稀释至 1 000 mL，混匀。过滤，取滤液，置于棕色瓶内，室温贮存。如有沉淀产生，使用前过滤。
C.3.2 蛋白质标准液(30 μg/mL)：精确称取牛血清白蛋白对照品，用水稀释成约 300 μg/mL 作为储备液，4 ℃下贮存。临用时，用 1%乙酸稀释成约 30 μg/mL。

注：实验所用试剂均为分析纯。

C.4 样品准备

准确称取供试品约 50 mg，用 1%乙酸溶解并稀释，制成 5 mg/mL 的溶液。精密量取 1 mL 置样品管中，以供检查。

注：由于高相对分子质量壳聚糖的絮凝作用，与考马斯亮蓝会产生沉淀，影响检测结果，在样品溶解后应置于 80 ℃中恒温 4 h 或其他可降解壳聚糖但不影响蛋白结果的处理方式进行样品处理。

C.5 测定步骤

C.5.1 按下表制备蛋白质标准液。

表 C.1 蛋白质标准溶液系列浓度

试管号	0	1	2	3	4	5
蛋白质标准溶液/mL	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0
1%乙酸溶液/mL	1.0	0.9	0.8	0.6	0.2	0
蛋白质浓度/(μg/mL)	0	3	6	12	24	30

C.5.2 在标准液系列的各试管及样品试管中分别加入 5 mL 的考马斯亮蓝 G-250 溶液。用旋涡式混合器使试管中溶液充分混合，并在室温 20 ℃±10 ℃下放置 15 min。用 0 号管作对照，按照《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部，通则 0401，紫外-可见分光光度法，在 595 nm 处测定各标准管和样品管的吸光度。

C.5.3 根据标准管吸光度和蛋白质浓度，绘制吸光度-浓度标准曲线，根据样品的吸光度，计算样品管的蛋白质浓度。

C.6 结果表示

按式(D.1)计算壳聚糖或壳聚糖盐中蛋白质含量(ρ_3，%)：

$$\rho_3 = \frac{\rho_2}{\rho_1} \times 100\% \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (C.1)$$

式中：

ρ_1——样品管中壳聚糖或壳聚糖盐浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

ρ_2——样品管中蛋白质浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)。

附 录 D
（规范性附录）
乙醇残留量测定（气相色谱法）

D.1 原理

采用顶空气相色谱法使要测定的乙醇与其他组分分开，用氢火焰离子化检测器检测，并将得到的乙醇色谱峰与外标物得到的色谱峰相比较。

D.2 设备和试剂

D.2.1 气相色谱仪（配备 FID 检测器、顶空进样器）。
D.2.2 色谱柱：DB-624 或相同分离效果的其他色谱柱。
D.2.3 无水乙醇标准品：色谱纯（纯度＞99.5%）。

D.3 乙醇标准溶液制备

取色谱纯无水乙醇适量置于容量瓶中，精密称定，用纯化水稀释至刻度，摇匀，制成每 1.0 mL 含 500 μg 的标准储备溶液。在 4 ℃下贮存，有效期为 1 个月。临用前，取上述标准储备溶液稀释成 25 μg/mL 作为标准溶液。

D.4 样品制备

准确称取约 0.01 g 壳聚糖或壳聚糖盐于 10 mL 顶空瓶中，加入 2 mL 纯化水，压盖密封，混匀。

D.5 操作条件

D.5.1 柱温：60 ℃，保持 2 min。
D.5.2 汽化室温度 200 ℃，检测室温度 250 ℃。

D.6 步骤

精密量取乙醇标准溶液各 2 mL，置 10 mL 顶空瓶中，压盖密封，混匀。将样品瓶和标准系列置于 80 ℃加热 30 min，在规定的色谱分析条件下，顶空进样，待乙醇色谱峰流出后，量取乙醇峰的面积值，作为外标的定量标准。

D.7 结果计算

壳聚糖或壳聚糖盐中乙醇的浓度 C_i 可按式(D.1)计算：

$$C_i = C_r \times \frac{A_i}{m \times A_r} \times 10^{-6} \times 100\% \quad \cdots\cdots (D.1)$$

式中：

C_i ——壳聚糖或壳聚糖盐中乙醇的浓度，%；

C_r ——乙醇标准液的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

A_i ——供试品的峰面积；

A_r ——乙醇标准液的峰面积；

m ——壳聚糖或壳聚糖盐称样量，单位为克（g）。

参 考 文 献

[1] 动物源性医疗器械产品注册申报资料指导原则(2009年发布,关于印发无源植入性和动物源性医疗器械注册申报资料指导原则的通知,食药监办械函[2009]519号).

[2] ASTM F2103-11 Standard Guide for Characterization and Testing of Chitosan Salts as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue Engineered Medical Product Applications (预期用于生物医疗和组织工程产品初始材料的壳聚糖盐表征和试验指南).

[3] European EP.8.0 version(欧洲药典 8.0 版本).

中华人民共和国医药
行业标准
组织工程医疗器械产品 壳聚糖
YY/T 1699—2020
*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 34 千字
2020年3月第一版 2020年3月第一次印刷
*
书号:155066·2-34740 定价 26.00元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

YY/T 1699-2020