ICS 11.120.20
CCS C 30/49

团　　体　　标　　准

T/CSBM 0071—2026

医疗器械用乳铁蛋白原材料通用技术要求

General technical requirement for lactoferrin raw materials used in medical devices

2026-10-31 发布　　2027-04-30 实施

中国生物材料学会　发　布
中国标准出版社　出　版

目　　次

前言 ……Ⅲ
引言 ……Ⅳ
1　范围 ……1
2　规范性引用文件 ……1
3　术语和定义 ……1
4　动物源性材料要求 ……2
5　质量控制 ……2
6　技术要求 ……2
7　检验方法 ……5
8　稳定性 ……7
9　标志、包装、运输、贮存及保质期 ……7
附录A(规范性)　蛋白质分子量测定 ……9
附录B(资料性)　铁饱和度测定 ……12
附录C(资料性)　抑菌效果测定 ……14
参考文献 ……15

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专利的责任。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会标准工作委员会归口。

本文件起草单位：脉润医疗科技（绍兴）有限公司、浙江大学、浙江省医疗器械审评中心、浙江省医疗器械检验研究院、浙江大学医学院附属第二医院、西湖丝创生物科技（杭州）有限公司。

本文件主要起草人：朱旸、谢黎黎、晁园、谢昕、郑超、徐萍华、任探琛、郭成辰、孙小华、李美琴、李高文、周志龙、张栎文、戴斌垚。

引　言

乳铁蛋白是一种具有抗菌、抗病毒和免疫调节等多种功能的生物活性蛋白。随着科研工作的深入推进和生物医用材料产业的不断发展，乳铁蛋白在医疗健康领域的应用日益广泛，在预防和辅助治疗多种疾病方面展现出重要价值。为促进其在医疗器械领域的规范应用，建立完善的质量标准体系具有重要意义。

本文件旨在明确医疗器械用乳铁蛋白原材料的技术指标、检测方法和质量控制要求，推动行业健康发展，保护消费者权益。

医疗器械用乳铁蛋白原材料通用技术要求

1 范围

本文件界定了医疗器械用乳铁蛋白原材料的术语和定义，规定了技术要求、检验方法、稳定性、标志、包装、运输、贮存及保质期。

本文件适用于医疗器械用乳铁蛋白原材料。

注：鉴于目前的技术研发现状，本文件中的乳铁蛋白主要成分为从牛乳中提取的铁结合糖蛋白。基于非牛乳中提取的铁结合糖蛋白参考使用本文件，但需要根据具体的产品特性和生产工艺进行质量控制。

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。

GB/T 191 包装储运图形符号标志

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

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 16886.12—2023 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照材料

GB/T 16886.20 医疗器械生物学评价 第20部分：医疗器械免疫毒理学试验原则和方法

GB/T 32016—2015 蚕丝 氨基酸的测定

GB/T 44353.1 动物源医疗器械 第1部分：风险管理应用

GB/T 44353.2 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

YY/T 1465（所有部分） 医疗器械免疫原性评价方法

YY/T 1849—2022 重组胶原蛋白

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

乳铁蛋白 lactoferrin

转铁蛋白家族的一种非血红素铁结合糖蛋白。

3.2

铁饱和度 iron saturation

乳铁蛋白分子中实际结合的铁离子占其最大铁结合容量的百分比。

3.3

等电点　isoelectric point

乳铁蛋白分子解离时所带正电荷数与负电荷数相等、净电荷为零的状态对应的特定 pH 值。

注：处于该 pH 条件下的乳铁蛋白分子在电场中不发生迁移。

4　动物源性材料要求

用于提取医疗器械用乳铁蛋白的牛乳应按照 GB/T 44353.1、GB/T 44353.2、YY/T 0771.3 的规定进行管理和控制，包括种属、地理来源、饲养、牛乳采集过程等因素。

5　质量控制

作为医疗器械原材料使用，应建立适宜的方法对不同批次的产品进行质量控制，包括采用参比品和经验证的方法评估已知或潜在的成品相关物质和工艺相关物质，对其进行鉴别、理化、纯度、杂质、微生物、内毒素等检测分析。

参比品可选择已证明足够稳定的批次，或采用一个代表性批次产品，或采用经国家药品监督管理部门认可的标准物质，用于鉴别、理化、结构表征等各种分析。参比品应进行必要的分析鉴定，参照《中华人民共和国药典》(2025 年版)“生物制品国家标准物质制备和标定”的相关要求，宜对蛋白质含量、等电点、纯度、分子质量等进行分析。

用于理化测定等方面的参比品，可在无菌环境下分装制备，一般在－20 ℃以下或经验证的贮存条件下保存。用于微生物、内毒素检测的参比品，参照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“1100 生物检查法”的相关规定进行检测。

6　技术要求

6.1　性状

白色、淡粉色或褐红色固体粉剂，无异味。

6.2　装量

装量应符合表 1 的要求。

表 1　装量要求

规格/g	平均装量	每个容器装量
＜20	不少于标示装量	不少于标示装量 93%
≥20 且≤50		不少于标示装量 95%
＞50		不少于标示装量 97%

6.3　分子质量

分子质量分布应在 60 kDa～100 kDa 之间。

6.4 等电点

应符合制造商的声称值。

6.5 结构表征

乳铁蛋白的傅里叶变换红外光谱(FT-IR),实测谱带应在 1 700 cm^{-1}～1 600 cm^{-1},1 550 cm^{-1}～1 450 cm^{-1},以及 1 330 cm^{-1}～1 220 cm^{-1}处存在特征峰,分别对应乳铁蛋白的酰胺Ⅰ带、酰胺Ⅱ带以及酰胺Ⅲ带。

6.6 蛋白质含量

应为标示量的 90%～110%。

6.7 纯度

应≥95%(质量分数,干重)。

6.8 粒度分布

$d(0.5)$≤100 μm。

6.9 渗透压摩尔浓度

适用时,应符合制造商的声称值。

6.10 水溶解性/盐溶解性

水溶解性/盐溶解性应符合表 2 的要求。

表 2 水溶解性/盐溶解性要求

单位为毫克每毫升

溶解度	指标要求
难溶	≤0.1
微溶	>0.1且<10
可溶	≥10且<100
易溶	≥100

6.11 总氨基酸及特征氨基酸含量

总氨基酸含量应大于 90%(质量分数,干重),其中特征氨基酸赖氨酸、精氨酸、组氨酸总量应在(18±3)%范围内。

6.12 pH值

应为 5.0～8.0。

6.13 添加剂

如果使用了防腐剂、冻干保护剂、交联剂等添加剂,制造商应给出限量要求。

6.14 残余抗生素含量

适用时，应符合制造商的声称值。

6.15 铁饱和度

应符合制造商的声称值。

6.16 重金属含量

6.16.1 重金属总含量

重金属总含量（以 Pb 计）应≤10 μg/g。

6.16.2 砷、铬、镉、铜、汞、镍、铅、钼的含量

砷含量≤1 μg/g；铬、镉、铜、汞、镍、铅、钼总量应≤50 μg/g。

6.17 干燥失重

应≤11%（质量分数）。

6.18 炽灼残渣

应≤1.5%（质量分数）。

6.19 细菌内毒素含量

应符合制造商的声称值。

注 1：作为医疗器械原材料用的乳铁蛋白，细菌内毒素限量要求考虑最终产品与人体的接触方式，以此来规定细菌内毒素限值要求。

注 2：若作为植入医疗器械原材料使用，参考《中华人民共和国药典》（2025 年版）对注射剂的要求，人每千克体重每小时最大可接受的细菌内毒素剂量为 5 EU。

6.20 微生物限度

如以非无菌的方式提供，每 1 g 需氧菌总数应≤100 CFU，霉菌和酵母菌菌落数应≤10 CFU，不应检出大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌。

6.21 无菌

如以无菌的方式提供，结果应无菌。

6.22 抑菌效果（如适用）

抑菌率≥50%。

6.23 生物学评价

6.23.1 作为制备医疗器械产品的原（材）料，应按照 GB/T 16886.1 的要求对材料进行相应的生物学评价。

6.23.2 宜根据其预期的使用目的（适用时），对其可能的免疫原性和对人体的潜在免疫毒理学风险进行充分评价。

7 检验方法

本文件所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用标准溶液、制剂及制品，均按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部的规定制备，《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部方法外的试剂配制方法按照 GB/T 601、GB/T 603 的方法配制标定。

7.1 性状

通过鼻嗅和肉眼直接观测。

7.2 装量

按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0942 最低装量检查法”检测。

7.3 分子量

按附录 A 的方法进行检测。

7.4 等电点

按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0541 电泳法”的“第六法　等电聚焦电泳法”或“0542 毛细管电泳法”检测。

7.5 结构表征

按照傅里叶变换红外光谱(FT-IR)，取干燥至恒重的样品，按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0402 红外光谱法”规定的衰减全反射方法测定。

7.6 蛋白质含量

按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0731 蛋白质含量测定法”中规定的第一法　凯氏定氮法的测定法(1)检测(氮换算为蛋白质的系数为 6.38)。

7.7 纯度

7.7.1 色谱法

按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0512 高效液相色谱法”或“0514 分子排阻色谱法”进行检测，按面积归一化法计算纯度。

7.7.2 电泳法

如适用，按照 YY/T 1849—2022 中 5.4.1 描述的方法进行检测。

存在二硫键时，可能会形成寡聚体，且其电泳分子量大小可能会成倍增加。寡聚体可视为乳铁蛋白而非杂质。

7.8 粒度分布

如适用，按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0982 粒度和粒度分布测定法”进行检测。

7.9 渗透压摩尔浓度

如适用，用0.9%氯化钠溶液将样品制成1 mg/mL的溶液或根据临床预期使用，将样品配制成相应溶液，按照《中华人民共和国药典》(2025年版)四部通则“0632渗透压摩尔浓度测定法”进行检测。

7.10 水溶解性/盐溶解性

称取适量样品，溶解于25 ℃±2 ℃一定体积的溶剂中，每隔5 min强力振摇30 s；观察30 min内溶解情况，如无目视可见的溶质颗粒或液滴时，即视为完全溶解。

注：本文件规定的盐溶解性为pH 7.4的磷酸盐缓冲溶液(PBS)溶解。

7.11 总氨基酸

取干燥至恒重(60 ℃减压干燥)的样品，按照GB/T 32016—2015采用酸、碱、氧化水解方法进行样品水解预处理，并使用高效液相色谱仪或氨基酸分析仪进行总氨基酸(包括赖氨酸、精氨酸、组氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸、丙氨酸、甘氨酸、半胱氨酸、色氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、酪氨酸)的测定，并计算赖氨酸、精氨酸、组氨酸的总含量，结果应符合6.11的规定。

注：水解溶液：6 mol/L盐酸溶液(含0.1%～1.0%苯酚)。

7.12 pH值

浸提液按GB/T 16886.12—2023中的规定制备：取样品适当质量，以0.2 g/mL的比例加入水，在(37±1)℃下浸提(24±2)h，作为浸提液。

取浸提液，按照《中华人民共和国药典》(2025年版)四部通则“0631 pH值测定法”的规定检测。

7.13 添加剂

如果使用了防腐剂、冻干保护剂、交联剂等添加剂应给出相应的检测方法，按给出的检测方法进行检测。

7.14 残余抗生素含量

残余抗生素含量的测定按照YY/T 1849—2022中5.5.6描述的方法或其他经验证的方法进行检测。

7.15 铁饱和度

参照附录B或其他经验证的方法进行检测。

7.16 重金属含量

7.16.1 重金属总含量

按照《中华人民共和国药典》(2025年版)四部通则“0821重金属检查法”第二法的规定进行检测。

7.16.2 砷、铬、镉、铜、汞、镍、铅、钼的含量

检验液制备：取样品1.0 g，加入10 mL硝酸，加热，使样品完全消解。待溶液冷却后，加入水至总体积为50 mL，作为检验液。

取检验液，按照《中华人民共和国药典》(2025年版)四部通则“0406原子吸收分光光度法”或“0411电感耦合等离子体原子发射光谱法”或“0412电感耦合等离子体质谱法”规定进行检测。

7.17 干燥失重

取样品约 1.0 g,按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0831 干燥失重测定法”进行检测。

7.18 炽灼残渣

取样品 1.0 g～2.0 g,按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“0841 炽灼残渣检查法”进行检测。

7.19 细菌内毒素含量

按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“1143 细菌内毒素检查法”的规定进行检测。

7.20 微生物限度

随机抽取同批次不少于 2 件最小包装的样品,混合,取规定量样品 10 g 按照《中华人民共和国药典》(2025 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”进行检测。

7.21 无菌

如适用,按照《中华人民共和国药典》(2025 年版)四部通则“1101 无菌检查法”进行检测。

7.22 抑菌效果

如适用,参照附录 C 进行检测或其他经验证的方法进行检测。

7.23 生物学评价

7.23.1 按照 GB/T 16886.1 的要求,对材料进行相应的生物学评价。

注:按照 GB/T 16886.12 规定的试验样品处理方法对试验样品进行处理时,如果产品以非无菌的方式提供,如对试验程序适用,试验样品按制造商推荐的灭菌方法灭菌并无菌操作。

7.23.2 按照 GB/T 16886.20 和 YY/T 1465(所有部分)进行必要的免疫原性和免疫毒理学评价。

7.23.3 材料的细胞生物学效应评价:宜选择与预期用途相适应的细胞,进行材料的细胞生物学效应评价,如细胞在材料上黏附、增殖和/或迁移等。

8 稳定性

稳定性受多种因素影响,包括纯化工艺、微生物负载、包装贮存条件等。乳铁蛋白的稳定性变化,如降解,可能会直接影响预期用于医疗器械产品的安全性和有效性。因此,应对其稳定性进行动态评价和分析。与稳定性相关的工艺验证宜采用连续三批次乳铁蛋白进行。在工艺条件有变化时,考虑对乳铁蛋白稳定性的影响,必要时进行再次验证。

9 标志、包装、运输、贮存及保质期

9.1 标志

产品销售包装图示标志应按 GB/T 191 执行,标注内容为:产品名称、商标(如有)、保质期(用生产日期、保质期或生产批号、限期使用日期等方式组合表示)、制造商名称、地址、净含量以及根据产品特点所

应标注的其他内容。

9.2 包装

应采用适宜包装,确保产品的安全性和有效性。

9.3 运输

本产品属于非危险品,任何运输工具均可采用。运输时间在 28 d 内(含 28 d),运输温度 2 ℃～8 ℃,或在经验证的其他合适的运输条件下运输。

9.4 贮存

应在温度为－20 ℃±5 ℃,清洁、干燥、密闭环境下贮存。

9.5 保质期

在符合规定的运输和贮存条件下,产品在包装完整和未启封的情况下,保质期按销售包装标注执行。

附 录 A
（规范性）
蛋白质分子量测定

A.1 仪器与试剂

A.1.1 仪器

A.1.1.1 分析天平(0.000 1 g)。
A.1.1.2 电泳仪。
A.1.1.3 电泳槽。
A.1.1.4 微量注射器5 μL、10 μL。
A.1.1.5 离心机。
A.1.1.6 水浴锅。
A.1.1.7 凝胶影像分析系统。

A.1.2 试剂及试剂配制

A.1.2.1 30% 丙烯酰胺(A液):精确称取丙烯酰胺29.2 g和MBA 0.8 g溶于60 mL水中,置于37 ℃溶解,加水定容至100 mL,2 ℃～8 ℃避光保持。
A.1.2.2 1 mol/L Tris-HCl溶液(pH 6.8,B液):精确称取Tris 12.1 g加水溶解,HCl调pH值至6.8,加水定容至100 mL,2 ℃～8 ℃避光保存。
A.1.2.3 1 mol/L Tris-HCl溶液(pH 8.8,C液):精确称取Tris 12.1 g加水溶解,HCl调pH值至8.8,加水定容至100 mL,2 ℃～8 ℃避光保存。
A.1.2.4 10% SDS溶液(D液):精确称取SDS 1.0 g加水5 mL溶解,加水定容至10 mL,2 ℃～8 ℃保存。
A.1.2.5 10% 过硫酸铵(E液):精确称取过硫酸铵1.0 g加水5 mL溶解,加水定容至10 mL,临用前配制。
A.1.2.6 甘氨酸(Gly)电泳缓冲液(5×):精确称取Tris 15.1 g, Gly 94.0 g,SDS 5.0 g,加水溶解,加水定容至1 000 mL,室温保存,临用时做5倍稀释。
A.1.2.7 SDS样品缓冲液(5×):取B液0.6 mL、D液2 mL,溴酚蓝0.01 g,丙三醇2.5 mL,水4.4 mL,临用前加β-巯基乙醇500 μL混匀。
A.1.2.8 染色液:精确称取考马斯亮蓝R-250 0.5 g,加入乙醇225 mL、水225 mL、冰乙酸50 mL,混匀。
A.1.2.9 脱色液:量取乙醇800 mL、水100 mL、冰乙酸100 mL混匀。

A.2 试验方法

A.2.1 样品变性处理

称取样品适量加水至终体积8 mL,SDS样品缓冲液(5×)2 mL,混合后于100 ℃水浴加热5 min～10 min使蛋白质变性,离心。

注:如果样品溶解后的pH值非中性时,在加SDS样品缓冲液之前用NaOH或HCl调整至中性。

A.2.2 电泳凝胶制备

A.2.2.1 凝胶溶液组成见表A.1。

表 A.1 凝胶溶液组成

试液	凝胶种类	
	分离胶溶液(7.5%)/mL	浓缩胶溶液(5%)/mL
水	2.82	2.1
A液	1.5	0.5
C液	2.28	—
B液	—	0.38
D液	0.06	0.03
E液	0.06	0.03
TEMED	0.008	0.005
以上试剂也可用市售凝胶成品或凝胶溶液,凝胶中丙烯酰胺5%～15%,分离胶和浓缩胶比例为推荐条件,可进行适当调整		

A.2.2.2 分离胶制备:根据表A.1配制分离胶溶液,灌入凝胶板内至一定高度,加水封顶,室温下聚合(室温不同,聚合时间不同)。

A.2.2.3 浓缩胶制备:根据表A.1配制浓缩胶溶液,待分离胶溶液聚合后,用滤纸吸取上面的水层,再灌入浓缩胶溶液(用前加TEMED),插入样品梳,注意避免气泡出现。

A.2.3 加样

待浓缩胶溶液聚合后小心拔出样品梳,将电极缓冲液注满电泳槽的前后槽,在加样孔中加入蛋白Marker 5 μL和待测样品10 μL。

A.2.4 电泳

将电泳缓冲液加入电泳槽内,安装好凝胶板,可采用恒压或者恒电流模式。参考电泳条件为:推荐采用恒压电泳,初始电压为80 V,进入分离胶时调至120 V～150 V;恒电流模式推荐条件为:以恒流10 mA条件下开始电泳,至样品溶液进入分离胶后将电流调至20 mA,直至电泳结束。

可根据不同电泳仪设置不同参数。电泳结束时电泳前沿不应离开分离胶。

A.2.5 染色

电泳完毕后取出胶片,置于染色液中轻轻晃动条件下染色1 h～2 h,或者能看到蓝色清晰条带时取出。

A.2.6 脱色

染色后的凝胶先用水冲洗表面的多余染料,再用脱色液浸泡脱色。更换脱色液,至凝胶背景透明为止。

A.3 结果

A.3.1 电泳图谱

用凝胶电泳成像仪拍照。

A.3.2 分子量计算

A.3.2.1 迁移率

用凝胶影像分析系统测量溴酚蓝指示剂和蛋白迁移距离。每条谱带距分离胶顶部的距离为迁移距离，将每条蛋白质谱带的迁移距离除以染料前沿的迁移距离，即为蛋白的相对迁移率。按公式(A.1)计算迁移率。

$$R'_m = D_P / D_B \quad \cdots\cdots (A.1)$$

式中：

R'_m——相对迁移率；

D_P——蛋白迁移距离；

D_B——溴酚蓝指示剂迁移距离。

A.3.2.2 标准曲线

以R'_m为横坐标，Marker各条带分子质量(kDa)的对数值为纵坐标，拟合线性回归方程，绘制标准曲线，给出标准曲线方程的公式(A.2)。

$$\lg M = aR'_m + b, R^2 \quad \cdots\cdots (A.2)$$

式中：

$\lg M$——蛋白Marker分子质量(kDa)的对数值；

a、b ——常数；

R'_m ——相对迁移率；

R^2 ——标准曲线回归常数(R^2应≥0.95)。

A.3.2.3 分子质量计算

将供试品蛋白相对迁移率代入公式计算，由Marker的标准曲线求得供试品的最浓条带链分子量，乳铁蛋白分子质量按公式(A.3)计算：

$$M = M_\alpha \quad \cdots\cdots (A.3)$$

式中：

M——乳铁蛋白分子质量，单位为千道尔顿(kDa)；

M_α——最浓条带链分子质量，单位为千道尔顿(kDa)。

附 录 B
（资料性）
铁饱和度测定

B.1 目的

以紫外-可见分光光度法(UV-Vis)快速测定乳铁蛋白的铁饱和度。

B.2 仪器与耗材

B.2.1 紫外-可见分光光度计(带宽≤2 nm,波长准确度±0.5 nm)。

B.2.2 1 cm石英比色皿(配对误差≤0.000 5 nm)。

B.2.3 分析天平(0.01 mg)。

B.2.4 15 mL聚丙烯离心管、0.22 μm水系滤膜。

B.2.5 恒温混匀仪(25 ℃±1 ℃)。

B.3 试剂

B.3.1 柠檬酸铁铵储备液:100 μg·mL^{-1}(以Fe计)[GBW(E)080123]。

B.3.2 空白溶液:磷酸盐缓冲液50 mmol/L,pH 7.4(GB/T 6682一级水配制)。

B.3.3 样品稀释液:空白溶液+0.05% NaN_3。

B.4 标准曲线

包括以下步骤:

a) 将柠檬酸铁铵储备液稀释成0 μg·mL^{-1}(以Fe计)、2 μg·mL^{-1}(以Fe计)、5 μg·mL^{-1}(以Fe计)、10 μg·mL^{-1}(以Fe计)、20 μg·mL^{-1}(以Fe计)、40 μg·mL^{-1}(以Fe计)系列;

b) 分别加入恒定浓度样品2 mg/mL,25 ℃孵育30 min;

c) 测定样品在465 nm处的吸光值A_{465}与280 nm处的吸光值A_{280},计算$\Delta A_{465}=A_{465}$(样品)$-A_{465}$(空白),绘制ΔA_{465} vs Fe浓度曲线,确认线性$r\geqslant0.995$。

B.5 样品制备

包括以下步骤:

a) 精密称取0.100 g样品,置于15 mL离心管;

b) 离心管中加入10 mL样品稀释液;涡旋2 min,25 ℃静置15 min至样品完全溶解;

c) 溶解液体经0.22 μm水系滤膜过滤,得蛋白浓度10 mg/mL待测液;

d) 取蛋白浓度10 mg/mL待测液1 mL,加入15 mL离心管,在离心管中加入9 mL样品稀释液,涡旋2 min至液体完全混合均匀;

e) 将液体经0.22 μm水系滤膜过滤,得蛋白浓度1 mg/mL待测液。

B.6 测定步骤

包括以下步骤:

a) 开机预热30 min,用空白溶液调零;

b） 将10 mg/mL待测液和1 mg/mL分别注入1 cm比色皿，分别读取1 mg/mL待测液在280 nm处的吸光值A_{280}（蛋白总量），10 mg/mL待测液在465 nm处的吸光值A_{465}（铁结合态）；

c） 每样品平行3管，取其平均值。

B.7 计算

计算$\Delta A_{465}=A_{465}$（样品）$-A_{465}$（空白）。

铁饱和度按公式（B.1）计算，结果保留一位小数。

$$IS=\frac{\Delta A_{465}\times 1.3}{A_{280}\times 0.48}\times 100\% \qquad \text{(B.1)}$$

式中：

IS ——铁饱和度（Iron Saturation）；

1.3 ——质量浓度1 mg/mL乳铁蛋白溶液在280 nm处达到饱和时的吸光度；

0.48——质量浓度10 mg/mL乳铁蛋白溶液在465 nm处达到饱和时的吸光度。

附 录 C
（资料性）
抑菌效果测定

C.1 样品准备

将样品溶解于水中，溶液浓度5 mg/mL，溶液经0.22 μm微孔过滤器过滤除菌。

C.2 菌种选择

金黄色葡萄球菌（*ATCC 6538*）、大肠埃希菌（*ATCC 8099*）、白色念珠菌（*ATCC 10231*）及根据蛋白特定用途所用的其他菌株。

C.3 试剂

稀释液：0.03 mol/L磷酸盐缓冲液（PBS）（pH 7.2～7.4），培养基：金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的培养使用胰酪大豆胨琼脂培养基，白色念珠菌的培养使用沙氏葡萄糖琼脂培养基。

C.4 器材

恒温水浴箱、计时器、Ⅱ级生物安全柜等。

C.5 试验步骤

取试验菌24 h新鲜斜面培养物用PBS洗下，用PBS稀释至约5.0×10^5 CFU/mL～4.5×10^6 CFU/mL菌悬液备用。取无菌试管，先加入5.0 mL样品溶液，置20 ℃±1 ℃水浴中5 min后，再加入0.1 mL试验用菌悬液，迅速混匀并立即计时。待试验菌与样品溶液相互作用24 h，分别吸取1.0 mL试验菌与样品混合液接种2个平皿，倾注培养基。菌量无法计数时，以PBS做10倍系列稀释，选择适宜稀释度分别吸取0.1 mL接种2个平皿，做活菌培养计数。

同时用PBS代替样品，进行平行试验，作为阳性对照。阳性对照回收菌落数在1.0×10^4 CFU/mL～9.0×10^4 CFU/mL之间。取同批次PBS、培养基作阴性对照。所有试验样品和对照样品均在36 ℃±1 ℃培养，细菌繁殖体培养48 h观察最终结果；白色念珠菌培养72 h观察最终结果。试验重复3次，计算抑菌率。

C.6 结果计算

抑菌率按公式（C.1）计算。

$$X=\frac{A_0-A_1}{A_0}\times100\% \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (C.1)$$

式中：

X ——抑菌率；

A_0——阳性对照回收菌量，单位为菌落形成单位每毫升（CFU/mL）；

A_1——试验组回收菌量，单位为菌落形成单位每毫升（CFU/mL）。

参 考 文 献

［1］ WS/T 650—2019 抗菌和抑菌效果评价方法

［2］ YY/T 1805.2—2021 组织工程医疗器械产品 胶原蛋白 第2部分：Ⅰ型胶原蛋白分子量检测 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法

［3］ 牛乳中乳铁蛋白的纯化和抗菌活性研究[J]. 食品工业科技，2007(4)：115-117.

［4］ 乳酸乳球菌表达重组牛乳铁蛋白肽的抑菌活性分析[J]. 微生物学报，2021，61(2)：1-10.

［5］ 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2025年版[M].北京:中国医药科技出版社,2025.

［6］ SKIBA M，PIVOVAROV A，MAKAROVA A，et al. Plasma-chemical synthesis of silver nanoparticles in the presence of citrate[J]. Chemistry Journal of Moldova，2018，13(1)：7-14. DOI：10.19261/cjm.2018.475.

［7］ SHIMAZAKI K，KAWANO N，URASHIMA T，et al. Comparison of amino acid and carbohydrate compositions of bovine，goat and sheep lactoferrin[J]. Nihon Chikusan Gakkaiho，1991，62(7)：645-650.

［8］ BRISSON M G，BRITTEN Y，POULIOT Y. Effect of iron saturation on the recovery of lactoferrin in rennet whey coming from heat-treated skim milk[J]. Journal of Dairy Science，2007，90(6)：2655-2664.

［9］ XIA Y，TAN W，LAN L，et al. Comparison of detection methods for lactoferrin iron saturation[J]. International Journal of Food Science and Agriculture，2024，8(3)：127-130. DOI：10.26855/ijfsa.2024.09.006.

［10］ OSTRÓWKA M，DUDA-MADEJ A，PIETLUCH F，et al. Testing antimicrobial properties of human lactoferrin-derived fragments[J]. International Journal of Molecular Sciences，2023，24(13)：10529. DOI：10.3390/ijms241310529.

中国生物材料学会
团 体 标 准
医疗器械用乳铁蛋白原材料通用
技术要求
T/CSBM 0071—2026
*
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)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533　发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230　1/16　印张 1.5　字数 31 千字
2026 年 9 月第 1 版　2026 年 9 月第 1 次印刷
*
书号:155066·5-22698　定价 50.00 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

T/CSBM 0071-2026