ICS 71.040
CCS 43

团 体 标 准

T/CI XX-2022

抗氧化性能光电化学测定方法及检测仪器

Antioxidant capacity determination by photoelectrochemical method and instruments

(征求意见稿)

2022- X- X 发布 2022- X - X 实施

中国国际科技促进会 发布

目 次

目 次 I
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语及定义 1
3.1 1
抗氧化剂 antioxidant 1
3.2 1
抗氧化能力 antioxidant capacity 1
3.3 1
抗氧化容量 antioxidant capacity 2
3.4 2
抗氧化标准品当量值 equivalent value of antioxidant standard 2
4 缩略语 2
5 原理 3
6 试剂或材料 4
6.1 三氯化钛($TiCl_3$)，密度 1.192 g/mL at 25 °C； CAS 号：7705-07-9。 4
6.2 对苯二甲酸(TA)，CAS 号：100-21-0。 4
6.3 没食子酸水合物(GA)，分析标准品，CAS 号：5995-86-8。 4
6.4 芦丁(RT)，分析标准品，CAS 号: 153-18-4。 4
6.5 槲皮素(QR)，分析标准品，CAS 号: 117-39-5。 4
6.6 1,1-二苯基-2-苦基肼（DPPH），分析标准品，CAS 号: 1898-66-4。 4
6.7 抗坏血酸(AA)，分析标准品，CAS 号:50-81-7。 4
6.8 谷胱甘肽(GSH),分析标准品，CAS 号: 70-18-8。 4
6.9 咖啡酸(CA)，分析标准品，CAS 号: 331-39-5。 4
6.10 儿茶素(CT)，分析标准品，CAS 号:154-23-4。 5
6.11 漆黄素(FT)，分析标准品，CAS 号: 345909-34-4。 5
6.12 白藜芦醇（RA），分析标准品，CAS 号: 501-36-0。 5
6.13 原花青素（PC），分析标准品，CAS 号: 4852-22-6。 5
6.14 表儿茶素(EC），分析标准品，CAS 号: 490-46-0。 5
6.15 绿原酸(CHA），分析标准品，CAS 号: 327-97-9。 5
6.16 表没食子儿茶素(EGC），分析标准品，CAS 号: 970-74-1。 5
6.17 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG），分析标准品，CAS 号: 989-51-5。 5
6.18 叔丁基对苯二酚(TBHQ), 分析标准品，CAS 号: 1948-33-0。 5
6.19 没食子酸丙酯(PG), 分析标准品，CAS 号: 121-79-9。 5
6.20 二丁基羟基甲苯(BHT), 分析标准品，CAS 号: 128-37-0。 5
6.21 丁基羟基茴香醚(BHA), 分析标准品，CAS 号: 25013-16-5。 5
6.22 维生素 E(VE), 分析标准品，CAS 号: 2074-53-5。 5
6.23 水溶性维生素 E(TROLOX)，分析标准品，CAS 号:53188-07-1。 5
6.24 半胱氨酸(Cys)，分析标准品，CAS 号: 52-90-4。 5
6.25 葡萄糖，分析标准品，CAS 号:50-99-7。 5

6.26 果糖，分析标准品，CAS 号:7660-25-5。 5
6.27 Folin-Ciocalteu (F-C)试剂，福林酚/酚试剂，CAS 号:12111-13-6。 5
6.28 0.1 mol·L^{-1} 的 PBS (pH=7.4)中 NaH_2PO_4/ Na_2HPO_4 的摩尔比例为 81:19，同时含有 10 mmol·L^{-1} 的氯化钠。 5
7 仪器设备 5
7.1 材料表征仪器设备 5
7.2 光电检测设备 6
8 抗氧化性能测定 6
8.1 试验步骤 6
8.2 试验数据处理 8
附 录 A （资料性附录） 9

征求意见稿

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。

本文件由广东鼎诚电子科技有限公司提出。

本文件由中国国际科技促进会归口。

本文件起草单位：广东鼎诚电子科技有限公司、广州市标准化促进会、广州大学、广东诺驰化工有限公司、广州市凯闻食品发展有限公司。

本文件主要起草人：韩冬雪、牛利、王文忠、刘美辰、王伟、韩方杰、王梓潼、刘振邦、梁芷珊、唐晶晶、吴雨洲、吴志芳、韩立鹏。

本文件为首次发布。

征求意见稿

抗氧化性能光电化学测定方法及检测仪器

1 范围

本文件规定了光电化学法测定抗氧化性能的方法及检测仪器。

本文件适用于基于超薄 g-C_3N_4/TiO_2 的光电化学平台对水溶性以及油溶性体系抗氧化剂的抗氧化性能检测分析。可以实现对含有天然及人工合成抗氧化剂体系的抗氧化性能检测，如天然蔬果、果汁、红酒、茶叶、食用油等食品体系，及中药、保健品、化妆品等领域产品的检测。

基于其他光电材料的光电化学平台对抗氧化剂的抗氧化性能检测参照使用。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语及定义

下列术语和定义适用于本文件。

3．1

抗氧化剂 antioxidant

一类分子或离子，其在较低浓度的情况下可以保护生物体免受氧化活性物质的损伤。

3．2

抗氧化能力 antioxidant capacity

又称为还原能力，即抗氧化剂消除氧化活性物质的能力，或者称为抗氧化剂与氧化活性物质反应的能力。以水溶性以及油溶性体系抗氧化剂抗氧化容量来表示。

3．3

抗氧化容量 antioxidant capacity

如蓄水池能够容纳多少水一样，是对抗氧化能力的一种量化。

3．4

抗氧化标准品当量值 equivalent value of antioxidant standard

测定实际样品的抗氧化容量时，需要先对抗氧化标准品进行浓度梯度检测得到光电流-浓度线性拟合方程，然后检测实际样品得到光电流值将其代入线性拟合方程，得到对应的浓度值即为该实际样品的抗氧化标准品当量值。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AO：抗氧化能力（antioxidant activity）

ITO：氧化铟锡（Indium-Tin Oxide）透明导电膜玻璃

GA：没食子酸（gallic acid）

AA：抗坏血酸（ascorbic acid）

QR：槲皮素（quercetin）

CA：咖啡酸（caffeic acid）

CT：儿茶素（catechin）

GSH：谷胱甘肽（glutathione）

RT：芦丁（rutin）

FT：漆黄素（fisetin）

RA： 白藜芦醇(resveratrol)

PC： 原花青素（procyanidins）

EC：表儿茶素（epicatechin）

CHA：绿原酸（chlorogenic acid）

EGC：表没食子儿茶素（epigallocatechin）

EGCG：表没食子儿茶素没食子酸酯（epigallocatechin gallate）

TBHQ：叔丁基对苯二酚(tert-butylhydroquinone)

征求意见稿

PG：没食子酸丙酯(propyl gallate)

BHT： 二丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene)

BHA：丁基羟基茴香醚(butyl hydroxy anisole)

VE：维生素E（vitamin E）

TROLOX：水溶性维生素E

Cys：半胱氨酸(Cysteine)

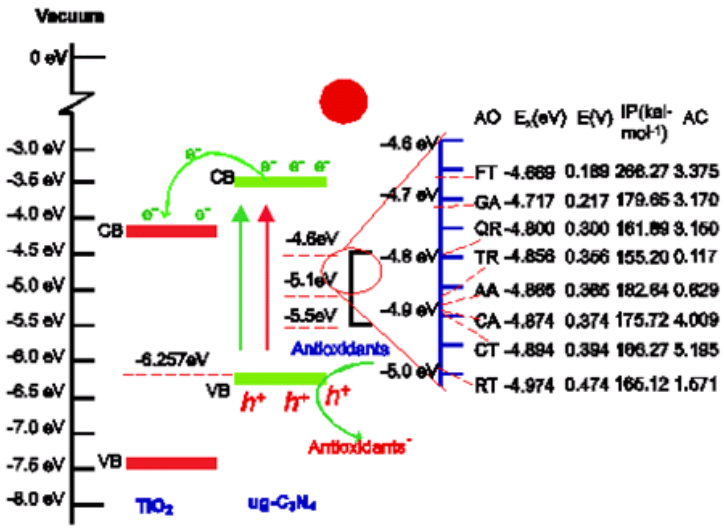
F-C试剂：福林酚/酚试剂(Folin-Ciocalteu)

5 原理

利用构建的半导体及复合材料通过光催化法产生含氧自由基，自由基类活性物质可与被检测体系中的抗氧化剂物种发生反应而引起光电流的变化，且与体系中的其他物种不发生反应。这类设计开发独特的光电检测体系，包括必要的进样系统、电解池系统、光驱动系统、数据传输/分析系统及配套传感芯片等，通过对光电流的收集和数据分析可实现被测体系抗氧化能力的检测。

如图1所示，在可见光的照射下，电子从ug-C3N4的价带跃迁到导带，而价带则留有空穴生成。因为ug-C3N4和TiO2导带位置的匹配，电子迅速通过TiO2的导带而到达ITO电极产生光电流。当在体系中加入抗氧化剂后，抗氧化剂可以与ug-C3N4价带上的空穴反应，重新获得电子，进而进行下一次激发，这个过程放大光电流的信号。使用抗氧化容量仪检测的时候，先用标准品测出一组浓度梯度值，得到一个拟合直线方程，输入到仪器程序里面，测定实际样品时，会直接输出浓度值。在上述论述的原理中基于单电子的转移，测定了抗氧化剂的抗氧化容量。

征求意见稿



说明：

AO：抗氧化剂；

Ex（eV）：抗氧化剂的相对真空的氧化还原电位；

E（V）：抗氧化剂相对vs Ag/AgCl的氧化还原电位；

IP（kcal•mol-1）：抗氧化剂的离子势；

AC：从抗氧化剂直线方程得到的抗氧化容量。

图1 光电化学抗氧化剂抗氧化容量检测机理图

6 试剂或材料

除非另有说明，本方法所用的试剂均为分析纯，试验用水为GB/T 6682规定的超纯水。所有购买的试剂直接使用未进行进一步纯化。

6．1 三氯化钛($TiCl_3$)，密度 1.192 g/mL at 25 °C； CAS 号：7705-07-9。

6．2 对苯二甲酸(TA)，CAS 号：100-21-0。

6．3 没食子酸水合物(GA)，分析标准品，CAS 号：5995-86-8。

6．4 芦丁(RT)，分析标准品，CAS 号: 153-18-4。

6．5 槲皮素(QR)，分析标准品，CAS 号: 117-39-5。

6．6 1,1-二苯基-2-苦基肼（DPPH），分析标准品，CAS 号: 1898-66-4。

6．7 抗坏血酸(AA)，分析标准品，CAS 号:50-81-7。

6．8 谷胱甘肽(GSH),分析标准品，CAS 号: 70-18-8。

6．9 咖啡酸(CA)，分析标准品，CAS 号: 331-39-5。

6．10 儿茶素(CT)，分析标准品，CAS 号:154-23-4。

6．11 漆黄素(FT)，分析标准品，CAS 号: 345909-34-4。

6．12 白藜芦醇（RA），分析标准品，CAS 号: 501-36-0。

6．13 原花青素（PC），分析标准品，CAS 号: 4852-22-6。

6．14 表儿茶素(EC），分析标准品，CAS 号: 490-46-0。

6．15 绿原酸(CHA），分析标准品，CAS 号: 327-97-9。

6．16 表没食子儿茶素(EGC），分析标准品，CAS 号: 970-74-1。

6．17 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG），分析标准品，CAS 号: 989-51-5。

6．18 叔丁基对苯二酚(TBHQ), 分析标准品，CAS 号: 1948-33-0。

6．19 没食子酸丙酯(PG), 分析标准品，CAS 号: 121-79-9。

6．20 二丁基羟基甲苯(BHT), 分析标准品，CAS 号: 128-37-0。

6．21 丁基羟基茴香醚(BHA), 分析标准品，CAS 号: 25013-16-5。

6．22 维生素 E(VE), 分析标准品，CAS 号: 2074-53-5。

6．23 水溶性维生素 E(TROLOX)，分析标准品，CAS 号:53188-07-1。

6．24 半胱氨酸(Cys)，分析标准品，CAS 号: 52-90-4。

6．25 葡萄糖，分析标准品，CAS 号:50-99-7。

6．26 果糖，分析标准品，CAS 号:7660-25-5。

6．27 Folin-Ciocalteu (F-C)试剂，福林酚/酚试剂，CAS 号:12111-13-6。

6．28 0.1 $mol·L^{-1}$的 PBS (pH=7.4)中 NaH_2PO_4/ Na_2HPO_4的摩尔比例为 81:19，同时含有 10 $mmol·L^{-1}$的氯化钠。

7 仪器设备

试验所用的测量仪器，仪表应经过计量检定机构的检定合格，并在有效期内。进入试验场后进行计量复查，复查合格后给出准用证。

7．1 材料表征仪器设备

7．1. 1 XRD 分析仪，Cu Kα radiation, λ= 0.15406 nm，在操作电压 40 kV 和电流 30 mA 的情况下对材料进行 XRD 分析，扫描角度 2θ范围为 15-80°。

7．1. 2　高分辨透射电子显微镜，在操作电压为 200 kV，对材料进行 TEM 和 HRTEM 分析。

7．1. 3　XPS 分析仪，对材料进行元素分析，Al Kα X 射线作为辐射源。

7．1. 4　扫描电镜（SEM），在 20 kV 的加速电压下使用 SEM 对修饰的 ITO 电极进行断面扫描。

7．1. 5　紫外可见光谱仪和积分球附件，以 $BaSO_4$ 为对照物，使用光谱仪和积分球附件对材料进行紫外可见漫反射分析。

7．1. 6　荧光光谱仪，在 315 nm 激发光下，使用荧光光谱仪对材料进行荧光分析。

7．1. 7　红外光谱仪，使用红外仪对材料进行红外测定。

7．1. 8　原子力显微镜，使用原子力显微镜对获得的超薄 g-C_3N_4 片层进行厚度测定。

7．1. 9　阻抗分析仪，使用阻抗分析仪对材料进行阻抗测定，测定溶液为 1 mmol·L^{-1} $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$和 0.1 mol·L^{-1} KCl (amplitude 10 mV，频率 10^{-1}到 10^5 HZ)。Mott-Schottky 图的测定溶液为 1 mol·L^{-1} Na_2SO_4，测定频率为 1000 和 2000 Hz。

7．2　光电检测设备

7．2. 1　所有的电化学实验在电化学工作站上进行，Ag/AgCl (3 mol·L^{-1} KCl)为参比电极，铂丝为对电极，玻碳电极(GCE d=3 mm)、修饰光电材料的 ITO 电极为工作电极。

7．2. 2　光电测定光源为 LED（420 nm，功率 3 W）。

7．2. 3　光电检测池：自制光电检测池装备，参见附录 A 图 A。

7．2. 4　流动泵，使用流动泵进行流动进样。

7．2. 5　检测芯片，ug-C_3N_4/TiO_2 作为光电材料修饰的 ITO 光电极。

8　抗氧化性能测定

8．1　试验步骤

8．1. 1　样品制备

8．1. 1. 1　待测抗氧化剂分析标准品的制备

水溶性抗氧化剂使用超纯水配制，称取定量的抗氧化剂标准品（抗坏血酸、没食子酸、芦丁、槲皮素、咖啡酸、儿茶素、芪黄素等水溶性抗氧化剂）配制成10 mmol/L的抗氧化剂

分析标准溶液，作为原液备用，通过加入不同体积的溶液实现不同浓度的标准品的分析检测。油溶性抗氧化剂使用95%分析纯的乙醇配制。

8．1．1．2 待测实际样品的制备

对于水果类，从果肉中榨取果汁，取100-500微升作为待测样品溶液；

对于饮料类，直接取100-500微升作为待测样品溶液；

对于茶叶类，称取0.25 g，加入30 mL的沸水浸泡30 min后，用三角漏斗快速收集滤液；

对于咖啡类，称取0.25 g加入到25 mL的沸水中，3 min后过滤得到滤液。限三天内使用，测定前将滤液使用一定量的PBS稀释，得到待测抗氧化样品溶液。

其他类待测实际样品参照水果类、饮料类、茶叶类、咖啡类方法配置待测溶液。

所有实际样液均储存于4℃冰箱中备用。

8．1．1．3 光电半导体材料的制备

将研磨成粉末的三聚氰胺放入气氛炉中，以2.5 K·min-1 的升温速度加热到550 ℃，并保持2 h，自然冷却至室温，依次用二次蒸馏水、乙醇及二次蒸馏水洗涤样品，75℃加热干燥获得bg-C3N4。

将50 mg bg-C3N4放入50 mL的二次水中并超声2 h，超声后的溶液以3500 r•min-1的速度离心20 min，获取的上清液即为超薄的碳氮化合物 (ug-C3N4)。

将3 mL的上述ug-C3N4溶液和0.11 mL的SDS (0.05 mol·L-1)加入到70.73 mL二次水中并充分搅拌，然后加入50 mL三氯化钛 (0.12 mol·L-1)继续搅拌1 h，溶液变为浅紫色，相继加入10 mL Na2SO4 (0.6 mol·L-1)和5 mL H2O2 (1wt %)，90 ℃下加热搅拌16 h，冷却后将生成的浅灰色沉淀依次用二次蒸馏水、乙醇和二次蒸馏水洗涤三次，70 ℃干燥8 h，将干燥产物以每分钟5 ℃的速率升到400 ℃并保持空气氛围中钙化2 h，钙化后产物颜色变淡。将产物重新依次用二次蒸馏水、乙醇和二次蒸馏水洗涤三次，70 ℃干燥8 h，即得到ug-C3N4/TiO2光电半导体材料复合物。

8．1．1．4 光电极的制备

首先分别使用NaOH (1 mol·L-1)和H2O2 (30 %)溶液将ITO电极超声清洗，然后使用丙酮和二次水冲洗干净，用氮气吹干备用。将100 μL ug-C3N4/TiO2 (1 mg·mL-1)悬浊液滴涂到ITO电极并于室温下晾干，烘干后放到烘箱中在70℃下烘干12h，获得ug-C3N4/TiO2 (1 mg

·mL-1)修饰电极。采用SEM对ug-C3N4/TiO2修饰的ITO电极进行断面扫描，显示修饰层厚度大约为400 nm。

8．1．2 光电检测

8．1．2．1 固定光电检测池检测

将修饰后的ITO电极固定在光电检测池上（附录A图a），然后向检测池中加入4 mL的PBS溶液，利用电化学工作站收集电流-时间曲线（i-t曲线），获得空白光电流Iblank。再用移液枪取10微升的10 mmol/L的抗氧化标准品溶液加入到PBS溶液中，利用电化学工作站收集电流-时间曲线（i-t曲线），然后依次加入20、30、40、50、60、70、80、90、100微升10 mmol/L的抗氧化标准品溶液，获得不同浓度的抗氧化标准品溶液的光电流-时间曲线。

8．1．2．2 流动光电检测池检测

首先如附录A中图b所示将流动光电化学平台固定好，向PBS缓冲溶液中连续通入5 min氮气进行去氧预处理，然后将PBS和加样的PBS溶液在流动泵的辅助下以2 r·min-1的速度流经样品池，分别得到未加样品时的光电流Iblank和加样后的光电流Isample（Iblank为未加样品时的光电流，Isample为加样后的光电流），为了避免颜色干扰，LED光源从ITO修饰电极背后照射，电极表面获取能量为73.89 mW·cm-2。

8．2 试验数据处理

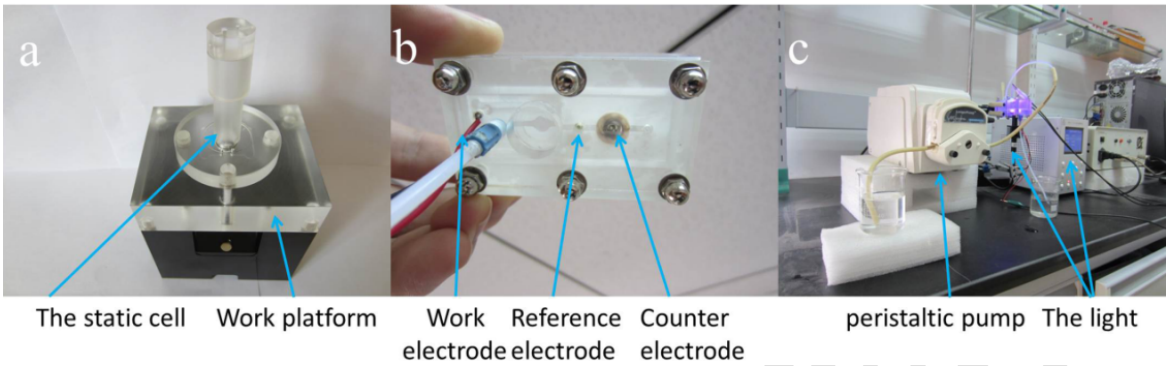
每个样品测定三次后取平均值。测试样品时，光电流遵从如下规则进行收集I = Isample - Iblank。光电流值I代表被测体系抗氧化性能，值越高，表明抗氧化性能越好。

对抗氧化剂标准品进行检测时，获得不同浓度抗氧化剂的光电流，进一步拟合得到线性方程。

对待测实际样品进行检测时，检测得到光电流值，代入上述线性方程，即可得到对应的抗氧化标准品的浓度值，即为标准品当量值，为待测实际样品抗氧化容量。

示例：实际样品为咖啡时，以咖啡酸CA当量作为统一基准表示抗氧化性能，是根据CA的浓度-光电流响应曲线进行推算。测定CA的线性方程为：y=4.098x-40.04（y代表光电流，x代表浓度），浓度范围15.00-193.31 μmol·L-1，相对标准偏差（RSD%）小于等于4.6%。参考该方程，测定实际样品得到的光电流值，根据CA的浓度-光电流响应曲线推算这个光电流值对应的CA浓度，然后得到这个数值。

附　录　A（资料性附录）



说明：
a：静止光电池；
b：流动光电池；
c：流动光电检测全装置。

图A　流动光电检测装置

征求意见稿