**上海市硅酸盐学会**

**团体标准编制说明**

标准名称 光催化材料抗病毒性能评价方法

主编单位 中国科学院上海硅酸盐研究所

参编单位 中国科学院上海硅酸盐研究所，中国科学院巴斯德研究所，同济大学，中国科学院地球环境研究所，香港理工大学，华中师范大学，南京信息工程大学，江苏安纳泰环保科技有限公司，广东东鹏控股股份有限公司，上海良藐新材料科技有限公司，浙江洁仑环保科技有限公司，亚士漆（上海）有限公司

《光催化材料抗病毒性能评价方法》

编制说明

1. **任务来源及计划要求**

《光催化材料抗病毒性能评价方法》团体标准是由上海市硅酸盐学会提出，上海市硅酸盐学会《上海市硅酸盐学会沪硅标字XXX》批准，中国科学院上海硅酸盐研究所，中国科学院巴斯德研究所，同济大学，中国科学院地球环境研究所，香港理工大学，华中师范大学，南京信息工程大学，江苏安纳泰环保科技有限公司，广东东鹏控股股份有限公司，上海良藐新材料科技有限公司，浙江洁仑环保科技有限公司，亚士漆（上海）有限公司参与起草完成团体标准的制定工作，项目计划号为XXXX。

1. **编制说明**

**2.1 编制原则**

本标准制定的原则是保持标准的科学性和适用性，建立一套简便、准确、高效的光催化材料抗病毒性能评价方法。目的是提供一个团体通用的分析方法，使同行的检测数据具有可比性，为光催化材料的抗病毒检测方法建立和技术标准化做出贡献，促进光催化抗病毒材料市场的健康发展。本标准编写按GB/T1.1-2020标准的规定要求。标准的编制过程中全部采用法定计量单位。

**2.2 工作分工**

本标准由上海市硅酸盐学会提出并归口。

标准起草和参与单位：中国科学院上海硅酸盐研究所，中国科学院巴斯德研究所，同济大学，中国科学院地球环境研究所，香港理工大学，华中师范大学，南京信息工程大学，江苏安纳泰环保科技有限公司，广东东鹏控股股份有限公司，上海良藐新材料科技有限公司，浙江洁仑环保科技有限公司，亚士漆（上海）有限公司。

标准主要起草人：孙静，史淦升，钟劲，吴永庆，谢晓峰，王焱，史俊，胡彦杰，陆冠宏，李涛，陈锦峰，黄宇，李顺诚，艾智慧，李海玮，吕娜，温文军，裴道海。

接到起草并制定该团体标准的通知后，中国科学院上海硅酸盐研究所开始筹备起草组成立会议，分别向行业内知名的环保材料企业、高校和科研院所专家学者发出邀请函，最终有12家企业高校及科研院所接受邀请参与标准的起草工作。并召开了第一次工作讨论会，会议确定了标准的制定原则、制定方案、工作计划及各成员的主要分工。其中中国科学院上海硅酸盐研究所主要负责标准文本的起草与实验计划的安排，及实验实施、数据汇总等工作。

**2020年11月**上海市硅酸盐学会将本标准列入团体标准制定计划后，编制单位随即成立标准编写组，开展标准的起草工作，明确了各单位和相关参与人员的工作职能和任务。

**2021年1月**标准制定工作组首先全面了解了我国光催化抗病毒材料的生产研发现状，调研了国内外相关研究单位的文献方法。利用光催化材料的病原体杀灭技术由由Tadashi Matsunaga等人在1985年提出，发现改材料能够在光照下能够对病原体实现持续性的杀伤且不产生对人体有害的毒副作用。其具体原理为，利用半导体材料收受到光激发后在其价带和导带生成具有强氧化能力的空穴和电子，与空气中的氧气和水反应，生成强氧化性的活性氧物种（ROSs），如超氧自由基（·O2-）、羟基自由基（·OH）及过氧化氢（H2O2）等。通过上述自由基的氧化还原能力高效杀灭细菌，并对细菌的种类和结构无特别限制，是公认的广谱抗菌技术。目前，光催化抗菌材料及其制品的研发已相对成熟，并已有相关的国家标准“GB/T 23763-2009-光催化抗菌材料及制品抗菌性能的评价”，对光催化抗菌性能的测试做出了规范。

相较于光催化抗菌技术，光催化抗病毒相关的研究起步较晚。同时，细菌和病毒在结构组分上有一定的相似之处，如脂质蛋白及核酸物质。因此研发人员在研究光催化材料对病原体的灭活时，常将抗菌与抗病毒作为相似的功能对待。然而，光催化材料在抗菌与抗病毒上存在如下不同：

1) 光催化材料抗菌与抗病毒作用机制与起主导作用的活性氧物种的不同。

在光催化抗菌过程中，起主导作用的活性氧物种主要为超氧自由基（·O2-）、H2O2等，通过攻击细菌包膜的外壁，导致菌体失去细胞核和细胞壁的保护屏障，再通过氧化辅酶抑制其细胞呼吸作用并干扰相关蛋白质的合成，再逐步对内部的毒素、脂类、蛋白进行降解，直至细菌各组分完全矿化。而在光催化抗病毒过程中，起主导作用的ROS为羟基自由基 (·OH )，主要作用于病毒的基因组中核酸的碱基，改变核酸的高级结构导致病毒失活。

2) 光催化抗菌与抗病毒过程中光照强度与时间的需求不同。

经研究发现，细菌细胞内具有防御自由基毒害的抗氧化酶（SOD）如Fe-SOD或Mn-SOD等物质能够催化·O2-使其发生歧化反应，其反应过程如下：SOD+·O2-→SOD+·O2-；SOD+·O2-+2H+→SOD+H2O2。因此，在光催化过程中需要足够强的辐照强度及照射时间，产生足量的·O2-使细菌彻底矿化，才能对其实现真正的灭活。作为对比，病毒不具备这种自由基的防御机制，因此使用相对较弱的光照条件即可产生足够的羟基自由基 (·OH )使病毒灭活。

由此得知，现行光催化材料抗菌标准中涉及的检测方法无法满足光催化抗病毒材料性能的检测与评价。具备抗菌性能的光催化材料用于抗病毒应用时，由于产生自由基种类的不同及光源需求的不同无法确定其抗病毒能力。

通过对市售光催化产品的调研发现，市面上所售光催化制品在宣传其抗菌性能的同时，强调兼具抗病毒性能，并以抗菌性能好坏来等同于抗病毒性能高低。这是不科学和不规范的。但目前无论是国内还是国际上，均无针对光催化材料及制品的抗病毒性能测试和评价标准，迫切需要建立一套规范的光催化材料抗病毒性能评价体系，引领行业发展，保障人民身体健康安全。

**2021年2月**标准制定工作组在前期调研的基础上，对标准文本的框架进行细化讨论，确定标准文本的内容，论证方法可行性，在标准组制定工作组内部达成初步共识。

**2021年3月**根据前期光催化材料抗病毒试验结果与国内外文献的调研，召开第二次编制小组讨论会，工作组结合了在长期测试工作中对于光催化材料抗病毒性能分析经验，并与中国科学院上海巴斯德研究所进行深入讨论，同时充分考量了目前的实际分析需要，归纳了各种病毒检测方法的可行性，形成具体的性能评价方法。

**2021年4月-5月**工作组开展系统性实验，对光催化抗病毒试验方法进行检验和优化，对样品称取量、样品处理过程、细胞培养、病毒接种时间条件等进行优化，形成最终确定的实验方案，建立了完整的性能评价方法。在汇总了实验结果的基础上，形成标准文本初稿。

**2021年6月**工作组召开了三次编制小组讨论会，以标准文本初稿为基础，在听取了中国科学院地球环境研究所，香港理工大学，华中师范大学，南京信息工程大学，江苏安纳泰环保科技有限公司，广东东鹏控股股份有限公司，上海良藐新材料科技有限公司，浙江洁仑环保科技有限公司，亚士漆（上海）有限公司相关技术人员与负责人的意见后对初稿进行了进一步的修改，细化了相关术语、试验参数，优化了病毒检测中涉及的各项参数。

**2021年7月，**对初稿进行校对和审核后，形成征求意见稿初稿，递交上海市硅酸盐学会。

2021年8月，在行业内进行了充分的征求意见，.。。。

2020年9月，在\*\*举办了审查会

审查会后，根据5条修改意见进行了修改，形成了报批稿。

1. **主要技术内容的说明**
	1. **范围**

本项目组通过文献调研，并听取了包括中国科学院地球环境研究所，香港理工大学，华中师范大学，南京信息工程大学，江苏安纳泰环保科技有限公司，广东东鹏控股股份有限公司，上海良藐新材料科技有限公司，浙江洁仑环保科技有限公司，亚士漆（上海）有限公司等科研和生产单位的意见，针对在光催化材料抗病毒试验过程中发生的问题进行总结和归纳，确定了以前期实验中经过系统实验验证的二氧化钛基材料作为本团体标准的基准光催化材料，对其抗病毒性能进评价方法的建立。

* 1. **病毒滴度检测方法的选取**

病毒滴度的检测方法在中国疾病预防控制中心发布的标准操作规程中有相应的规定，能够稳定表达待测病毒滴度的方法有空斑测定实验、免疫荧光实验及PCR实验等。其中，免疫荧光实验与PCR实验分别能够对病毒的抗原和基因组核酸物质进行精确的定量，是两种成熟的技术。然而，在光催化抗病毒应用中，病毒的灭活原理主要为基因组RNA或DNA的高级结构的改变。利用此方法灭活的病毒，其外部包膜蛋白和衣壳等具有免疫原性的蛋白及内部基因核酸物质尚未被明显破坏，如利用免疫荧光实验与PCR实验均能够检测到明显的病毒滴度。由此得知，上述两种方法并不适合于本标准中涉及的光催化材料抗病毒性能的检测。因此，本标准中涉及病毒滴度检测的试验均采用经典的空斑测定实验方法，其原理为利用病毒使宿主细胞裂解或生长迟缓而在细胞生长的背景上出现的透光斑点来进行病毒的计数，是一种适合于光催化抗病毒材料的性能评价方法。

本标准在中国疾病预防中心发布的空斑测定实验标准操作规程的基础上，增加了光催化处理过程，并以无光有催化剂、有光有催化剂、无光无催化剂等实验组作为对照组，对光催化材料的抗病毒性能进行表达。

**3.3 实验参数的确定**

在光催化抗病毒试验中，关键的实验参数是光源波长、辐照强度及照射时间。首先，在光源的选择上使用了稳定的单波长LED紫外光源，波长选择了具有代表性的UVA波段（370 nm ±10 nm），此波段常见于自然光及室内光源中。其次，选择式样受照面辐照强度为0.5 mW/cm2 ± 0.05 mW/cm2，照射时间固定为50 min, 通过上述参数的组合能够准确表达光催化产品的抗病毒性能，避免了过大的辐照强度对病毒样品的过度杀伤而的导致实验失败。

* 1. **目标病毒的选择**

为了体现光催化抗病材料的广谱适用性，本标准从常见程度、传播方式、病毒结构、实验条件等几方面考虑下筛选出了4种目标病毒（流感病毒H1N1、肠病毒EV71、单纯疱疹病毒HSV-1、水疱性口炎病毒VSV），具有一定的代表性，能够体现光催化抗病毒材料的广谱抗病毒性能。

**3.5 计算结果的可靠性**

首先，在空斑测定实验中每个病毒滴度数值均通过两个平行试验4个复孔得出，通过多次试验的经验总结，规定了空斑计数中有效空斑的筛选标准：

排除：1.边缘不规则及过大的空斑；2. 边缘规则但过小的空斑（如示例1所示）每个符合规定的空斑计为1个空斑形成单位（plaque forming units，PFU）。如因孔板中孔空斑量过多或过少造成的计数困难的，需按照表1中规定的原始病毒滴度范围对待测病毒的原始滴度进行调整，直至能够进行空斑的正常计数。

**示例 1：**



 其次，通使用条件测试是否成立进行判定，只有下述3个条件全部成立，试验被判定为有效，反之，测试实验无效，须重新进行实验。

1）测试中所有平行样的病毒数空斑计数需满足如下条件：

 $（L\_{max}-L\_{min}）/L\_{ave}\leq 0.2$ ()

式中：

 Lmax—病毒数空斑计数的最大绝对值；

Lmin—病毒数空斑计数的最小绝对值；

Lave—两个试样的病毒数空斑计数的平均值。

2）暗条件下两个空白样平行试样的剩余活病毒滴度的平均值需满足表1所述值；

3） 明条件下两个空白样平行试样的剩余活病毒滴度的平均值需大于等于暗条件下剩余活病毒滴度的75%。

最后，为了区分光催化灭活与理化灭活的区别，本标准参考“GB/T 23763-2009-光催化抗菌材料及制品抗菌性能的评价”设置了明条件与暗条件的平行对照组，以如下公式（1、2）进行计算：

光催化材料的总抗病毒率R总，数值以百分号表示，按式（1）计算：

$R\_{总}=\left(C\_{0}-C\_{1}\right)/C\_{0}×100$ …………(1)

式中：

C0—暗条件下空白孔剩余活病毒滴度的平均值，单位为 PUF/mL；

C1—明条件下待测剩余活病毒滴度的平均值，单位为PUF/mL。

光催化材料的光催化抗病毒率以R光表示，数值以百分号表示，按式（2）计算：

$R\_{光}=\left(B\_{1}-C\_{1}\right)/C\_{0}×100$ …………(2)

式中：

B1—暗条件下待测孔剩余活病毒滴度的平均值，单位为PUF/mL。

本标准在编制过程中对实验方法、仪器参数等进行试验探讨，取得了相关结论，并能实际应用于光催化抗病毒材料的研究和使用中。采用了能够准确表达光催化抗病毒性能的空斑检测方法，易于在行业内推广。

1. **试验验证的情况和结果**

为了验证《光催化材料抗病毒性能测试方法及评价》团体标准中相关数据的科学性和适宜性，标准制定工作组成员查阅了大量文献资料，抽取了上海硅酸盐研究所不同时期制备、不同原料及方法制备的4批次光催化材料进行了检验测试。以下试验在中科院上海硅酸盐研究所高性能陶瓷和超微结构国家重点实验室和中科院上海巴斯德研究所完成。测试相关数据见以下各表：

* 1. **光催化材料信息如下表**：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 样品编号 | 所属批次 | 制备完成时间 | 制备单位 |
| A | 第一批 | 2019.06.12 | 硅酸盐所 |
| B | 第二批 | 2019.09.23 | 硅酸盐所 |
| C | 第三批 | 2020.04.05 | 硅酸盐所 |
| D | 第四批 | 2020.05.18 | 硅酸盐所 |

* 1. **光催化材料抗病毒性能评价**

试验环境条件：环境温度 23±2 ℃；空气湿度50±10 %。

# 4.3 测试准备

4.3.1光源调节

将375 nm波长的紫外LED光源放置于实验通风橱中，通过调节照射距离，利用辐照计的UVA调节辐照强度。辐照强度分别为80 μW/cm2、0.5 mW/cm2、2 mW/cm2。

4.3.2 待测光催化剂准备

取光催化材料试样2 g分散于50 mL去离子水中配置分散液，经超声30 min后直接使用。

4.3.3 待测病毒

空斑实验中所用病毒进行滴度测试。所选病毒于待感染细胞的关系应满足下表。

|  |  |
| --- | --- |
| 待测病毒/毒株 | 目标细胞 |
| H1N1 流感病毒/（PR8） | MDCK |
| EV71 肠病毒/（GTC4） | Vero |
| VSV 水泡性口炎病毒 | Vero |
| HSV-1 Ⅰ型单纯疱疹病毒 | Vero |

# 4.4 光催化材料抗病毒性能测试

4.4.1 测试方法

根据《光催化材料抗病毒性能测试方法及评价》中所述空斑法，对四个批次的光催化材料进行抗病毒性能测试。

4.4.2 计算公式

光催化材料的总抗病毒率R总，数值以百分号表示，按式（1）计算：

$R\_{总}=\left(C\_{0}-C\_{1}\right)/C\_{0}×100$ …………(1)

 式中：

C0—暗条件下空白孔病毒噬斑形成单位的平均值，单位为 PUF/mL；

C1—明条件下待测孔病毒噬斑形成单位的平均值的平均值，单位为PUF/mL。

光催化材料的光催化抗病毒率以R光，数值以百分号表示，按式（2）计算：

$R\_{光}=\left(B\_{1}-C\_{1}\right)/C\_{0}×100$ …………(2)

式中：

B1—暗条件下待测孔病毒噬斑形成单位的平均值，单位为PUF/mL。

4.4.3 结果统计

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品编号 | A | B | C | D |
| 待测病毒 | H1N1 | HSV-1 | VSV | H1N1 | EV71 | VSV | HSV-1 | EV71 |
| 病毒滴度（PUF/mL） | 500 | 300 | 400 | 800 | 200 | 400 | 600 | 600 |
| 辐照强度（mW/cm2） | 0.08 | 2 | 0.08 | 0.5 | 0.5 | 2 | 0.5 | 0.08 |
| 总抗病毒效率 R总 | 35.70% | 99.99% | 38.20% | 85.50% | 78.25% | 99.99% | 80.53% | 38.44% |
| 光催化抗病毒效率R光 | 30.14% | 99.20% | 31.20% | 80.88% | 73.41% | 99.99% | 76.01% | 37.92% |

以上数据表明，光催化材料抗病毒性能测试方法适用于不同目标病毒、不同病毒滴度及不同光照强度的抗病毒性能评价。因此，《光催化材料抗病毒性能测试方法及评价》团体标准中所确定的各项参数要求是合理的，标准所确定的测试及评价方法是适宜的、科学的，作为团体标准的依据也是可行的。

1. **标准涉及的知识产权情况说明**

无。

1. **与有关法律、法规和强制性标准的关系**

本标准规定的各项内容均符合国家法律、法规和强制性标准的要求。

**七、本标准低于国家（行业、地方）推荐性标准的原因**

国内尚无相关国家、行业、或地方标准。