

# 《生丝 鲜茧缫制生丝及干茧缫制生丝的鉴别 (征求意见稿)》编制说明

## 一、工作简况

### (一) 行业发展现状

桑蚕生丝，作为丝绸织物的核心原料，在传统工艺中，普遍采用干茧缫制生丝(简称“干茧生丝”)。这种生丝性能稳定，一直以来都是丝绸企业织造与加工时所依赖的标准原料。近年来，鲜茧缫丝作为一项生产新技术兴起，它通过低温冷冻代替传统烘茧，因其在能源消耗和额外副产品效益方面的双重优势而得到快速推广。鲜茧生丝已在行业内普遍使用。然而鲜茧丝相较于干茧丝其储存年限显著缩短，超过五年的储存期会导致生丝强力大幅下降，并面临发霉风险。同时，鲜茧丝本身的低强度、低抱合力等特点，使其在织造过程中易产生质量问题，如经柳、纬挡等，严重影响丝绸产品的整体品质。因此，关于鲜茧缫丝与干茧缫丝的鉴别研究显得尤为重要。

然而，由于缺乏有效的鉴别手段，这两种生丝在外观看形态上极为相似，使得下游丝绸企业在原料采购时难以准确区分，导致使用不当的织造工艺，直接影响蚕丝织物生产效率和产品质量。特别是在国家储备生丝等特殊领域，鲜茧丝由于工艺上未进行烘干制作，蚕丝内部结构未进行充分变性，

较干茧生丝性状容易不稳定，国家储备生丝长时间保存存在未知风险。

## **(二) 制修订必要性**

开展鲜茧缫丝与干茧缫丝的鉴别研究，意义在于可以倒逼缫丝企业改进和稳定生产工艺，实现产品分级，引导鲜茧缫丝技术向规范化、高品质的方向发展，使优质鲜茧生丝获得应有的价值，建立一个透明、公正的原料交易市场。同时，为国家储备生丝进行有效的产品质量把关，一定程度上降低储备生丝长期存放可能产生的质量变化与安全风险。建立本标准不仅具有迫切的现实需求，更是推动丝绸产业高质量发展的关键所在。

## **(三) 任务来源**

2024年4月18日，商务部办公厅下达《商务部办公厅关于下达第三批商务领域行业标准计划项目的通知》(商办建函〔2024〕452号)，本标准列入制定计划。该标准由浙江大学牵头制定，由商务部消费促进司归口管理。

## **(四) 主要工作过程**

组建工作组、起草标准、召开讨论会和调研等情况。

1. 2024年8月—2024年12月，成立标准工作组，工作组主要由杭州海关技术中心、浙江大学、杭州海关丝类检测中心、浙江树人大学等单位组成。确定标准制定的负责人及进度，开展相关调研，制定技术路线。

2. 2025年1月—2025年9月，工作组进行大量试验研发荧光肽结合法鉴别桑蚕干茧生丝与桑蚕鲜茧生丝。由杭州海关技术中心牵头，与鲜茧丝主产区的广西缫丝企业、南宁海关联系，同时对接江苏、四川等缫丝企业，广泛收集不同产地、品种的干茧和鲜茧样本，对样本进行标准化处理。浙江大学采用蛋白质组学/代谢组学技术分析干/鲜茧的分子差异，筛选潜在标志物。构建噬菌体随机肽库，针对干/鲜茧标志物进行生物淘选，获得候选多肽序列，并进行荧光探针的合成制备。构建基于荧光亲和肽结合的快速检测方法，并验证方法的准确性、灵敏度和重复性。

3. 2025年9月—10月，形成标准草案，准备征求意见。

## 二、标准制修订原则和内容

### （一）制修订原则

本标准按照 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》和 GB/T 200001.4—2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》中的各项规定进行编写。本标准制定时，在对桑蚕干茧/鲜茧特性了解的基础上，查阅相关文献资料，建立适用的鉴别试验方法，确保标准的合理性、科学性、先进性。

### （二）主要制修订内容及依据

#### 1. 标准名称。

本标准立项名称为“生丝 鲜茧缫制生丝及干茧缫制生

丝的鉴别”，技术路线为利用噬菌体技术得到对桑蚕干茧具有特异性亲和能力的功能肽段，并合成带有荧光标记的亲和肽，使用该荧光肽与生丝进行孵育结合，可以通过荧光情况判断干茧鲜茧。

## 2. 适用范围。

本标准规定了用荧光标记鉴别桑蚕鲜茧生丝与桑蚕干茧生丝的试验方法，适用于经鲜茧缫丝或干茧缫丝得到的桑蚕生丝的鉴别。

## 3. 方法原理。

由于加工工艺的差异，干茧生丝和鲜茧生丝的微量成分上存在差异，干茧生丝存在蚕蛹来源的挥发性物质，通过噬菌体筛选技术得到了对于干茧生丝有特异性亲和能力的功能肽段，合成带有荧光标记的亲和肽，生丝样品经过清洁、封闭等操作后，与荧光标记的亲和肽共孵育、洗涤后，干茧生丝由于可以特异性吸附荧光亲和肽，会带有强烈的绿色荧光。

## 4. 试剂和材料。

4.1 水：符合 GB/T 6682 三级水及以上要求。

4.2 磷酸盐缓冲液( PBS, 0.01M, pH7.4 )：氯化钠 (NaCl) 8.0 g, 氯化钾 (KCl) 0.2 g, 磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ ) 1.44 g, 磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.24 g, 将上述试剂溶于约 800mL 三级水中，充分溶解后，调节 pH 至 7.4，最后定容至 1L。

4.3 牛血清白蛋白溶液 (20 mg/mL): 称取 2.0g BSA 粉末, 使用上述磷酸盐缓冲液溶解, 定容至 100mL。

4.4 荧光标记亲和肽: 利用噬菌体筛选技术获得的, 具有干茧生丝特异性亲和能力的 FITC 标记肽, 使用上述磷酸盐缓冲液溶解, 工作终浓度为 0.5 μM。

## 5. 仪器和设备。

5.1 分析天平: 分度值 10 mg。

5.2 摆床: 频率可达到 100 r/min。

5.3 荧光显微镜, 配置稳定的荧光光源及蓝光激发滤光片组 (能有效激发绿色荧光), 具有 10 倍物镜。

## 6. 试验步骤。

6.1 样品预处理。选取代表性生丝样品, 剪成  $15 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$  或其它合适大小的片段, 混合均匀。从混合样中称取  $10 \text{ mg} \pm 1 \text{ mg}$  或适量的样品, 放置于培养皿或其他合适的容器中, 加入磷酸盐缓冲液漂洗, 去除灰尘等杂质。

6.2 封闭。在培养皿中加入合适体积的牛血清白蛋白溶液对生丝样品进行封闭, 并置于摇床上, 频率为 100 r/min 下孵育 30min。

6.3 洗涤。移除培养皿中的液体, 并加入磷酸盐缓冲液漂洗, 置于摇床上孵育 10min, 重复 3 次。

6.4 荧光肽孵育。在培养皿中加入合适体积的荧光亲和肽溶液, 在避光的环境下置于摇床上孵育 30min。

6.5 洗涤。移除培养皿中的液体，并加入磷酸盐缓冲液漂洗，置于摇床上孵育 10min，重复 3 次。

6.6 观察。移除培养皿中的液体，在荧光显微镜下使用蓝光或 FITC 滤光片组激发，10 倍物镜下观察生丝纤维荧光情况。

### （三）主要试验（或验证）情况分析

#### 1. 样品预处理。

为确保样品形态规整，并与后续使用的反应容器（如 12 孔板）相匹配，以便于试剂的均匀覆盖和最终的显微观察，本试验对样品预处理方法进行了研究。

选取代表性生丝样品，剪成  $15 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$  的片段，混合均匀。从混合样中称取  $10 \text{ mg} \pm 1 \text{ mg}$ ，平铺放置于 12 孔板的孔中备用。此尺寸可确保样品在孔底充分展开，避免重叠，有利于后续步骤中试剂的充分接触。

综上，最终确定的样品预处理方法为：选取代表性生丝样品，剪成  $(15\text{mm}\pm2\text{mm})$  或其它合适大小的片段，混合均匀。从混合样中称取  $10\text{mg}\pm1\text{mg}$ ，放置于 12 孔板的孔中备用。

#### 2. 洗涤条件的选择。

洗涤是本试验流程中的关键步骤，在样品预处理后、封闭后及荧光肽孵育后均需进行，用于去除灰尘、未结合的试剂和杂质，以降低背景信号。

常规的免疫学或亲和标记实验中，通常使用含吐温-20

等表面活性剂的缓冲液（如 PBST）进行漂洗，以增强洗涤效果。但考虑到吐温作为一种表面活性剂，可能存在将生丝样品表面的目标特征性物质洗脱去除的风险，从而影响后续荧光肽的结合效果。为最大限度地保留样品上的目标物质，本试验选择仅使用不含表面活性剂的磷酸盐缓冲液（PBS）进行漂洗。

为保证洗涤效果，试验确定了标准洗涤操作：每孔加入1mL PBS，在摇床上以100rpm振荡10分钟后吸去液体，重复洗涤三次。本标准所有洗涤步骤均按此方法执行。

### 3. 荧光肽浓度的选择。

为确定能够产生清晰、稳定荧光信号且背景干扰最小的荧光肽工作浓度，本试验设置了0.5 μM、1 μM和10 μM三个浓度梯度进行孵育实验，并对荧光信号强度和背景进行比较。

试验结果表明，随着荧光肽浓度的升高，样品的荧光信号强度也随之增强。然而，在1 μM及10 μM的高浓度条件下，背景区域的非特异性吸附明显增加，导致信噪比下降，不利于对不同样品间的结合能力差异进行准确判别。而在0.5 μM浓度下，样品不仅能展现出充分的荧光信号，且背景干净，能够清晰地分辨出不同样品组（如阳性与阴性对照组）之间的结合能力差异。

综合考虑信号强度与信噪比，为获得最佳的区分效果，

本标准选择  $0.5 \mu\text{M}$  作为荧光肽的最佳工作浓度。

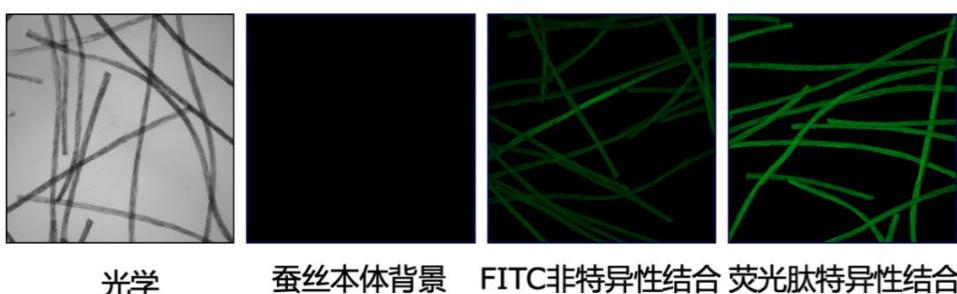
#### 4. 孵育条件的选择。

孵育的时间和温度是影响荧光肽与样品特异性结合效率和实验操作便捷性的关键因素。为确定最优孵育条件，本试验比较了“ $4^{\circ}\text{C}$  孵育过夜”和“室温孵育 30 分钟”两种方案对最终荧光信号的影响。

试验结果显示，两种条件下获得的荧光信号强度和背景水平没有显著性差异，均能满足检测要求。考虑到“室温孵育 30 分钟”的方案大幅缩短了实验周期，提高了检测效率，且操作更为简便，无需冷藏设备，更利于方法的推广应用。因此，从效率和便捷性角度出发，本标准选择“室温孵育 30 分钟”为最佳孵育条件。

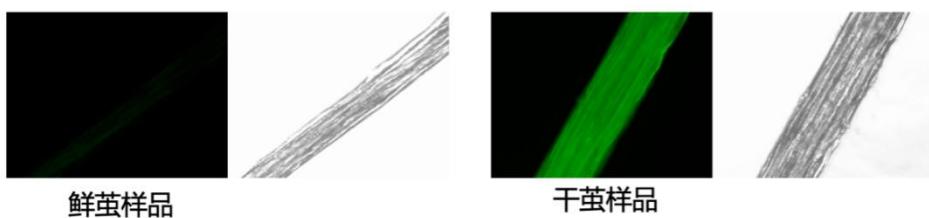
#### 5. 观察方法的选择。

按照上述的样品预处理、封闭、孵育等操作获得待测试样。分别采用激光共聚焦、荧光显微镜等方法进行荧光观察，激发波长为  $490\text{nm}$ ，发射波长为  $520\text{nm}$ ，使用蓝光或 FITC 滤光片组激发。两者均可以观察到荧光结合的情况，其中在激光共聚焦中的测试结果如图所示：



桑蚕生丝本身在蓝光激发后没有明显的本体荧光背景，荧光肽使用了 FITC 标记，经过测试，FITC 本身对蛋白质有比较低的非特异性吸附，而荧光标记的亲和肽可以观测到具有比较强的特异性结合，有较强的绿色荧光。

为了方法简便，更易于推广，进行了荧光显微镜的测试，也可以得到同样的结果，干茧样品具有较强的荧光肽结合。



左图为荧光显微镜图片，右图为光学显微镜图片，可见在鲜茧样品中观测不到荧光出现，而在干茧样品中有比较明亮的绿色荧光，说明荧光亲和肽与其有较多的结合

### 三、与国际、国外有关法规和标准水平的比对分析

本标准修订过程中未查到同类国际、国外标准。

### 四、与有关现行法律、法规和其他强制性标准的关系，配套推荐性标准的情况

本标准与我国现行相关法律、法规、规章等保持协调一致，没有冲突。

### 五、重大分歧意见的处理过程及依据 无。

### 六、实施标准所需要的技术改造、成本投入、老旧产品退出市场时间、实施标准可能造成的社会影响等因素分析，

以及根据这些因素提出的标准实施日期建议

考虑到检测机构需要提升加强设施设备、专业人员配置等环节管理水平的时间，经调研，建议预留 6 个月的标准过渡期，自本标准实施之日起 6 个月后开始执行。

## 七、实施标准的有关政策措施

标准发布后，将由标准起草单位组织标准起草组在行业内开展标准的宣贯、培训等活动，做好标准条文解读，适时编制解读教材，让社会各界、业内企业更好地了解标准、使用标准。

## 八、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

标准的实施将保障国家储备物资安全，为国家中央储备生丝入库检验提供技术支持，避免鲜茧生丝入库所带来的风险。同时，茧丝绸企业可以更加精准地选择原料，优化资源配置，更精细化地加工和管理，提高生产效率和产品质量。推动整个行业向高端化、品牌化方向发展，将为全球茧丝绸行业树立技术标杆，提高中国茧丝绸行业的国际地位。

## 九、涉及专利的有关说明

无。

## 十、其他应予说明的事项

无。