

SB

中华人民共和国国内贸易行业标准

SB/T XXXXX—XXXX

生丝 鲜茧缫制生丝及干茧缫制生丝的鉴别

Raw Silk Identification of the Fresh Cocoon Raw Silk and the Dried Cocoon Raw
Silk

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国商务部 发布

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。

本文件由中华人民共和国商务部市场运行和消费促进司归口。

本文件由浙江大学负责技术内容的解释。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——本文件为首次发布。

生丝 鲜茧缫制生丝及干茧缫制生丝的鉴别

1 范围

本文件描述了使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。
本文件适用于经鲜茧缫丝或干茧缫丝得到的桑蚕生丝的鉴别。

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 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

干茧 dried cocoon

经干燥处理后达到规定适干程度的蚕茧。

3.2

鲜茧 fresh cocoon

未经烘干处理的蚕茧。

3.3

干茧生丝 dried cocoon raw silk

用干茧缫制的生丝。

3.4

鲜茧生丝 fresh cocoon raw silk

用鲜茧直接缫制的生丝。

4 原理

干茧生丝含有蚕蛹来源的特征性挥发性物质,干茧生丝经清洁、封闭,与荧光标记的亲肽共孵育、洗涤后,通过噬菌体筛选技术得到对于干茧生丝有特异性亲和能力的功能肽段,带有强烈的绿色荧光。

5 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯。

5.1 水:符合 GB/T 6682 三级水及以上要求。

5.2 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(Na_2HPO_4)1.44 g,磷酸二氢钾(KH_2PO_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,保存备用。

5.3 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 备用。

5.4 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 $0.5\ \mu\text{M}$ 。

6 仪器和设备

6.1 分析天平：分度值 10 mg。

6.2 摇床：频率可达到 100 r/min。

6.3 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。

7 试验步骤

7.1 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（5.2）漂洗，去除灰尘等杂质。

7.2 封闭

在培养皿中加入合适体积的牛血清白蛋白溶液（5.3）对生丝样品进行封闭，并置于摇床（6.2）上，频率为 100 r/min 下孵育 30 min。

7.3 洗涤

移除培养皿中的液体，并加入磷酸盐缓冲液（5.2）漂洗，置于摇床（6.2）上孵育 10 min，重复 3 次。

7.4 荧光肽孵育

在培养皿中加入合适体积的荧光亲和肽溶液（5.4），在避光的环境下置于摇床（6.2）上孵育 30 min。

7.5 洗涤

移除培养皿中的液体，并加入磷酸盐缓冲液（5.2）漂洗，置于摇床（6.2）上孵育 10 min，重复 3 次。

7.6 观察

移除培养皿中的液体，在荧光显微镜（6.3）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。

8 结果判别

观察试验结果为强烈的绿色荧光，则判定该样品为干茧生丝。

9 试验报告

试验报告至少应给出下述内容：

- 样品的名称、编号；
- 所采用的的本文件代号；
- 试验结果：样品的荧光情况及结果判别；
- 任何偏离本文件的试验情况；
- 试验日期及试验人员。

附 录 A
(资料性)

荧光标记亲和肽结合情况对照示例

图A.1展示荧光标记亲和肽孵育后的鲜茧/干茧生丝的荧光结合情况示例。

图A.1 (a) 和图A.1 (b) 为鲜茧样品，其中图A.1 (a) 为荧光显微镜蓝光激发成像，图A.1 (b) 为普通光学成像图片，图A.1 (c) 和图A.1 (d) 为干茧样品，其中图A.1 (c) 为荧光显微镜蓝光激发成像，图A.1 (d) 为普通光学成像图片。可见干茧样品中由于结合有更多的荧光标记亲和肽，可见较为明显的绿色荧光。

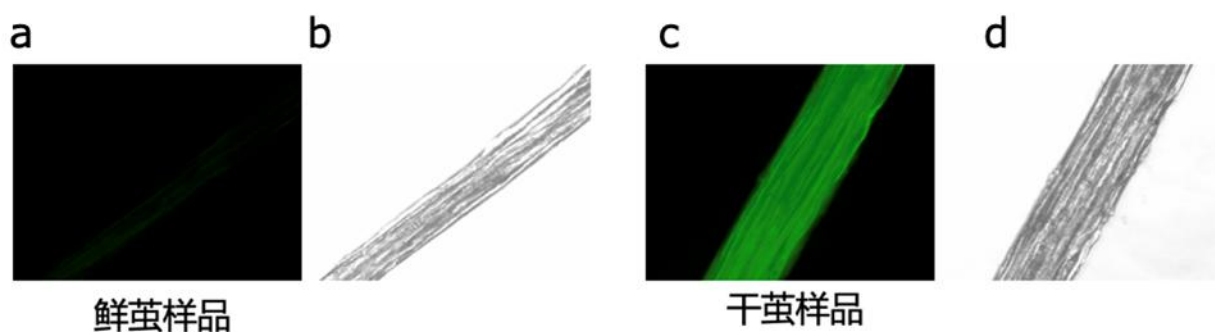


图 A. 1 荧光标记亲和肽孵育后的鲜茧/干茧生丝结合情况