

蚕蛹蛋白粘胶纤维中蛋白质含量的测定

徐杰¹, 李伟坤¹, 李振球¹, 陈颂伟¹, 丁敏¹, 杜文琴²

(1. 广东省江门市质量计量监督检测所, 广东 江门 529000; 2. 五邑大学 纺织服装学院, 广东 江门 529000)

摘要: 文章使用全自动凯氏定氮仪测定蚕蛹蛋白粘胶纤维中蛋白质含量, 选择样品干重、硫酸铜用量、硫酸钾用量、浓硫酸用量、消化温度和消化时间为试验因素, 蛋白质含量为试验指标, 利用 SPSS 软件建立正交试验, 通过正交试验设计优化及对试验结果的直观分析和方差分析, 得到一套测定蚕蛹蛋白粘胶纤维中蛋白质含量的最优方案, 并对最优方案进行验证。最后确定最优方案为: 样品干重 0.2 g, 硫酸铜用量 0.2 g, 硫酸钾用量 10 g, 浓硫酸用量 12 mL, 消化温度 420 °C, 消化时间 45 min。

关键词: 纺织材料; 再生蛋白质纤维; 蚕蛹蛋白粘胶纤维; 蛋白质含量; 凯氏定氮法; 正交试验

中图分类号: TS102.51 文献标志码: A 文章编号: 1001-7003(2018)05-0008-04 引用页码: 051102

Determination of protein content in silkworm pupa protein viscose fiber

XU Jie¹, LI Weikun¹, LI Zhenqiu¹, CHEN Songwei¹, DING Min¹, DU Wenqin²

(1. Guangdong Jiangmen Supervision Testing Institute of Quality & Metrology, Jiangmen 529000, China;

2. Department of Textile, Wuyi University, Jiangmen 529000, China)

Abstract: The protein content of silkworm pupa protein viscose fiber was determined by automatic Kjeldahl apparatus. Dry weight of sample, copper sulfate content, potassium sulfate dosage, concentrated sulfuric acid dosage, digestion temperature and digestion time were chosen as test factors, and protein content was selected as the test index. SPSS software was used to establish the orthogonal test. Through design optimization of orthogonal test, intuitive analysis and variance analysis of test results, a set of optimal scheme to determine protein content of silkworm pupa protein viscose fiber, and the optimal scheme was verified. The optimal scheme is as follows: dry weight of sample 0.2 g, copper sulfate dosage 0.2 g, potassium sulfate dosage 10 g, concentrated sulfuric acid dosage 12 mL, digestion temperature 420 °C and digestion time 45 min.

Key words: textile materials; regenerated protein fiber; silkworm pupa protein viscose fiber; protein content; Kjeldahl method; orthogonal test

蚕蛹蛋白粘胶纤维是综合利用生物工程技术、高分子技术、化纤纺织技术, 将提纯的蚕蛹蛋白液按照一定比例与粘胶纺丝液共混, 采用湿法纺丝形成的蛋白复合纤维^[1-2], 是一种新型的再生纤维。该纤维具有皮芯结构, 且蛋白质成分在纤维的皮层^[3-4], 因此用该纤维制成的衣服有良好的亲肤性、保健性和舒适性。

纤维中蛋白质的含量对蚕蛹蛋白粘胶纤维的性

能有一定影响^[5], 是蚕蛹蛋白粘胶纤维的一个重要性能指标, 同时也为避免贸易中出现以次充好的现象, 因此纤维中蛋白质含量的测定显得尤为迫切和重要。有研究者使用次氯酸钠测定蛋白粘胶纤维中蛋白质含量^[6], 该法是先将样品烘至恒重, 然后用次氯酸钠溶解纤维中的蛋白质, 将剩余部分再次烘至恒重, 利用差值来计算蛋白质含量, 过程繁琐, 耗时长。行业标准 FZ/T 50018—2013《蛋白粘胶纤维蛋白质含量试验方法》规定了凯氏定氮法测定蛋白粘胶纤维中蛋白质含量, 但是标准中规定的定氮法消化时间可达 3 ~ 4 h^[7-8], 每次消化样品数量少, 效率非常低。本文采用消化炉进行消化, 一次可以消化多个样品, 同时可以缩短消化时间, 从而提高工作效率。

收稿日期: 2017-09-15; 修回日期: 2018-03-26

基金项目: 江门市基础与理论科学研究类科技计划项目 (20150030004438)

作者简介: 徐杰(1985—), 男, 工程师, 主要从事纺织服装检测和检测新技术研究。

1 试验

1.1 材料与设备

材料: 蚕蛹蛋白粘胶纤维(宜宾惠美纤维新材料股份有限公司)。

试剂: 石油醚 I、五水合硫酸铜 II (硫酸铜)、硫酸钾、氢氧化钠、硼酸、95% 乙醇(广州化学试剂厂), 溴甲酚绿、甲基红(上海三爱思试剂有限公司), 以上均为分析纯。硫酸、盐酸(广州化学试剂厂) 为优级纯, 去离子水。

仪器设备: SZF-06A 型索氏抽提器(上海新嘉电子有限公司), SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州

长城科工贸有限公司), DHG-9145A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司), AL204-IC 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海) 有限公司), DT 208 Digestor 230V 消化炉、Kjeltec 8400 全自动定氮仪(福斯中国), 装有变色硅胶的干燥器, 玻璃砂芯坩埚, 实验室常用玻璃仪器。

1.2 试验方法

1.2.1 正交试验设计

选择蛋白质含量作为试验指标, 选择样品干重、硫酸铜用量、硫酸钾用量、浓硫酸用量、消化温度和消化时间作为试样因素, 每个试验因素三个水平, 利用 SPSS 进行正交设计, 如表 1 所示。

表 1 因素水平

Tab. 1 Level of factors

水平	A 样品干重/g	B 硫酸铜用量/g	C 硫酸钾用量/g	D 浓硫酸用量/mL	E 消化温度/°C	F 消化时间/min
1	0.2	0.2	6	12	400	45
2	0.5	0.3	8	16	420	60
3	0.8	0.4	10	20	440	75

注: 消化时间为消化管放入消化炉后, 温度再次达到设定温度后至消化结束的时间。

1.2.2 步骤

所有样品均进行预处理, 预处理按 GB/T 2910.1—2009《纺织品 定量化学分析 第 1 部分: 试验通则》中 8.2 规定的方法进行。将预处理后的试样置于称量瓶中, 在电热鼓风干燥箱中烘至恒重, 取出后放在装有变色硅胶的干燥器中完全冷却, 然后迅速称取一定质量的样品(精确至 0.1 mg) 放入消化管中; 接着往消化管中加入一定量的硫酸铜、硫酸钾和浓硫酸, 然后将消化管放入达到设定温度的消化炉中消化一定时间; 取出冷却后在全自动凯氏定氮仪上进行测试, 每个试验重复测试一次, 结果保留至小数点后两位。

1.2.3 定氮仪参数设置

稀释液(去离子水) 体积 50 mL, 接收液(用 95% 乙醇将溴甲酚绿和甲基红配制成浓度均为 1 g/L 的溴甲酚绿乙醇溶液和甲基红乙醇溶液, 然后将 7 mL 甲基红乙醇溶液和 10 mL 溴甲酚绿乙醇溶液加入到 1 L 浓度为 20 g/L 的硼酸溶液中, 即为接收液) 体积 30 mL, 蒸馏时间 5 min, 蛋白质折算系数为 6.25。由于蒸馏一定要在碱性条件下进行, 因此根据不同的浓硫酸用量设置不同的加碱量, 对应浓硫酸用量为 12、16 mL 和 20 mL 的加碱用量分别为 60、70 mL 和 80 mL。碱(氢氧化钠) 的质量浓度为 400 g/L, 盐酸标准滴定溶液的摩尔浓度为 0.111 8 mol/L。

2 结果与分析

2.1 试验结果

正交设计试验结果如表 2 所示。

表 2 正交设计试验结果

Tab. 2 Orthogonal design test results

试验编号	A	B	C	D	E	F	蛋白质含量/%	
							1	2
1	1	3	2	1	3	3	2.26	2.44
2	2	1	2	3	3	1	1.89	2.07
3	3	3	3	3	3	1	2.01	1.96
4	2	2	2	2	2	1	2.30	2.26
5	1	1	3	3	2	2	2.23	2.32
6	3	1	2	1	2	3	2.19	2.22
7	1	1	1	1	1	1	2.24	2.06
8	2	3	3	1	2	2	2.16	2.34
9	2	1	3	2	1	3	2.16	2.11
10	3	2	3	1	1	1	2.04	2.14
11	1	2	2	3	1	2	1.85	1.85
12	3	1	1	2	3	2	1.95	1.95
13	3	2	1	3	2	3	1.91	1.99
14	2	3	1	3	1	3	1.86	1.86
15	3	3	2	2	1	2	2.12	2.09
16	1	2	3	2	3	3	2.13	2.17
17	2	2	1	1	3	2	2.14	2.19
18	1	3	1	2	2	1	2.14	2.33

2.2 试验数据处理

2.2.1 直观分析

首先对试验结果进行直观分析, 分析结果如表 3

所示。其中 $k_j(j=1,2,3)$ 表示任一列因素 j 水平所对应的试验指标的平均值,该试验中试验指标越大越好,因此平均值越大说明该水平越优。 R 为相应列因素的极差 R 值越大,表示该因素对试验指标的影响越大。蛋白质含量随各因素水平变化曲线如图 1 所示。

表 3 直观分析结果

Tab.3 Visual analysis results

试验因素	蛋白质含量/%			R
	k_1	k_2	k_3	
A	2.17	2.11	2.05	0.12
B	2.12	2.08	2.13	0.05
C	2.05	2.13	2.15	0.10
D	2.20	2.14	1.98	0.22
E	2.03	2.20	2.10	0.17
F	2.12	2.10	2.11	0.02

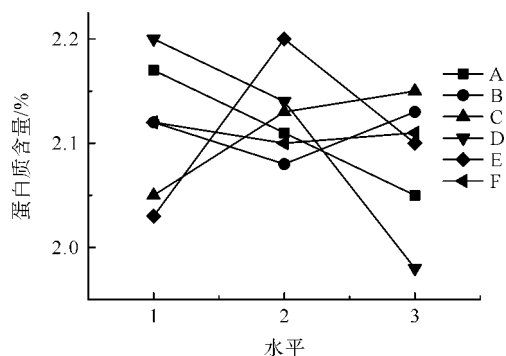


图 1 蛋白质含量随各因素水平变化曲线

Fig.1 The varies of protein content with different levels of each factor

从表 3 的极差 R 可以看出,对蛋白质含量的影响主次顺序为 $D > E > A > C > B > F$ 。从图 1 的变化曲线中可以看出,随着样品干重(A)的增加,蛋白质含量直线下降,其最优水平为 A1。随着硫酸铜用量(B)的增加,蛋白质含量先降低,而后又升高,以 B3 为最优。随着硫酸钾用量(C)的增加,蛋白质含量也逐渐增加,最优水平为 C3。随着浓硫酸用量(D)的增加,蛋白质含量明显下降,最优水平为 D1。随着消化温度(E)的升高,蛋白质含量先升高,然后下降,以 E2 为最优,这可能由于消化温度过低,样品消化不完全,消化温度过高,超过溶液沸点,导致硫酸不能充分固定住氮,致使氮流失,从而导致所测的蛋白质含量偏低。随着消化时间(F)的增加,蛋白质含量先下降,然后又有稍微上升,变化趋势较小,相对来说 F1 较优,这也说明了样品消化 45min 就已消化完全。同时也可以看出随着水平的变化,因素 A、C、D、E 的

变化幅度明显大于因素 B 和 F,说明了因素 A、C、D、E 对蛋白质含量测定的影响比较大。因此,通过直观分析得出的最优方案为:样品干重 0.2 g,硫酸铜用量 0.4 g,硫酸钾用量 10 g,浓硫酸用量 12 mL,消化温度 420 °C,消化时间 45 min。

2.2.2 方差分析

利用 SPSS 对正交设计试验结果进行方差分析(显著性水平 $\alpha=0.05$)分析结果见表 4。其中试验因素硫酸钾用量的邓肯检验结果如表 5 所示。

表 4 方差分析结果

Tab.4 Variance analysis results

源	III 类平方和	自由度	均方	F	显著性
修正模型	0.645*	12	0.054	5.765	0.000
截距	160.149	1	160.149	17175.493	0.000
A	0.088	2	0.044	4.704	0.019
B	0.016	2	0.008	0.847	0.442
C	0.062	2	0.031	3.309	0.055
D	0.306	2	0.153	16.410	0.000
E	0.171	2	0.086	9.178	0.001
F	0.003	2	0.001	0.140	0.870
误差	0.214	23	0.009		
总计	161.009	36			
修正后总计	0.859	35			

注: $R^2=0.750$ (调整后 $R^2=0.620$)。

表 5 硫酸钾用量的邓肯检验结果

Tab.5 Duncan test results of potassium sulfate dosage

硫酸钾用量/g	个案数	子集	
		1	2
6	12	2.051 7	—
8	12	2.128 3	2.128 3
10	12	—	2.147 5
显著性	—	0.064 0	0.631 0

从表 4 可以看出,对于给定显著性水平 $\alpha=0.05$,因素 A(样品干重)、D(浓硫酸用量)、E(消化温度)对试验指标蛋白质含量有显著影响,其余因素均无显著影响。不过从表 5 的邓肯检验中可以看出,硫酸钾用量 6 g 和 10 g 存在显著性差异,且以 10 g 为优,因此因素 C(硫酸钾用量)对试验指标也有显著影响。这也与图 1 中相应曲线变化幅度的大小相符。

综合考虑直观分析结果、方差分析结果、耗材成本和能耗等因素后,确定最优方案为:样品干重 0.2 g,硫酸铜用量 0.2 g,硫酸钾用量 10 g,浓硫酸用量 12 mL,消化温度 420 °C,消化时间 45 min。

2.3 验证试验

分别采用直观分析后得到的最优方案(下称方案 1)和方差分析后得到的最优方案(下称方案 2)对样品进行测试,每个方案测试 4 个数据,测试结果见表 6。

利用 SPSS 对两组数据的平均值进行独立样本 t 检验(显著性水平 $\alpha = 0.05$) 检验结果如表 7 所示。

表 6 验证试验测试结果

Tab.6 Verification of test results

方案号	蛋白质含量 / %				平均值
	1	2	3	4	
方案 1	2.40	2.12	2.23	2.03	2.20
方案 2	2.22	2.30	1.97	2.13	2.16

表 7 独立样本 t 检验结果

Tab.7 Independent sample t -test results

两者蛋白质 含量比较	莱文方差等同 性检验				平均值等同性 t 检验				
	F	显著性	t	自由度	显著性 (双尾)	平均值 差值	标准误差 差值	差值 95% 置信区间	
								下限	上限
假定等方差	0.078	0.789	0.375	6	0.720	0.040 00	0.106 54	-0.220 69	0.300 69
不假定等方差			0.375	5.918	0.720	0.040 00	0.106 54	-0.221 56	0.301 56

从表 7 可以看出,对于给定的显著性水平 $\alpha = 0.05$,两组数据的平均值不存在显著差异。因此最后确定最优方案为:样品干重 0.2 g,硫酸铜用量 0.2 g,硫酸钾用量 10 g,浓硫酸用量 12 mL,消化温度 420 °C,消化时间 45 min。

该方案消化时间为 45 min,采用全自动凯氏定氮仪进行蒸馏和测试,耗时仅为 5 min,且采用多孔消化炉进行消化,每次试验所做样品数会更多。比起上述的次氯酸钠法和现行标准中规定的定氮法,节省了大量时间,提高了工作效率,对实际工作具有很好的指导意义。

3 结 论

通过正交试验设计及试验结果的分析验证试验,得到一套用全自动凯氏定氮仪测定蚕蛹蛋白粘胶纤维中蛋白质含量的最优试验方案。最优试验方案为:样品干重 0.2 g,硫酸铜用量 0.2 g,硫酸钾用量 10 g,浓硫酸用量 12 mL,消化温度 420 °C,消化时间 45 min。该试验方案极大地缩短了消化时间,从而提高工作效率。

参考文献:

[1]黄硕,陈安城,王彩云,等. 蚕蛹蛋白粘胶纤维与棉、羊毛等纤维混纺产品定性定量分析探讨[J]. 中国纤检, 2014(17): 68-72.
HUANG Shuo, CHEN Ancheng, WANG Caiyun, et al. Qualitative and quantitative analysis for silkworm viscose fiber with cotton, wool and other fiber [J]. China Fiber Inspection, 2014(17): 68-72.
[2]王红,曹小红,翁杨. 蚕蛹蛋白粘胶长丝的理化性能与应

用研究[J]. 中国纤检, 2011(5): 76-79.
WANG Hong, CAO Xiaohong, WENG Yang. The physical and chemical properties and application of pupa protein viscose filament [J]. China Fiber Inspection, 2011(5): 76-79.
[3]孙杰,毕洁,张初署,等. 再生蛋白质纤维的特性及研究进展[J]. 化工新型材料, 2011, 39(6): 26-29.
SUN Jie, BI Jie, ZHANG Chushu, et al. The properties and new development of regenerated protein fiber [J]. New Chemical Materials, 2011, 39(6): 26-29.
[4]姚穆. 纺织材料学[M]. 3版. 北京: 中国纺织出版社, 2015: 120-121.
YAO Mu. Textile Materials [M]. 3rd Edi. Beijing: China Textile & Apparel Press, 2015: 120-121.
[5]奚柏君,罗以喜,郭筱洁. 蛋白质含量对再生动物蛋白纤维结构与性能的影响[C]// 西安: 2006 中国国际毛纺织会议暨 IWTO 羊毛论坛论文集(上册), 2006: 121-124.
XI Bojun, LUO Yixi, GUO Xiaojie. Influence of the protein content on structure and properties of the regenerated animal protein fiber [C]// Xi'an: Proceedings of 2006 China International Wool Textile Conference & IWTO Wool Forum (Volume One), 2006: 121-124.
[6]陈小诚,吴雅萍,申世红. 蛋白粘胶纤维定量分析的探讨[J]. 上海纺织科技, 2014, 42(7): 13-15, 18.
CHEN Xiaocheng, WU Yaping, SHEN Shihong. Discussion on quantitative analysis of protein viscose fiber [J]. Shanghai Textile Science & Technology, 2014, 42(7): 13-15, 18.
[7]张厚锋,张淑萍. 缩短凯氏定氮法消化时间的探讨[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(9): 157-158.
ZHANG Houfeng, ZHANG Shuping. Discussion about reducing digestive time of Kjeldahl determination [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2008, 35(9): 157-158.
[8]王芳,包怡红,于震. 食品中蛋白质快速检测技术的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(11): 372-375.
WANG Fang, BAO Yihong, YU Zhen. Study on rapid determination of protein in food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(11): 372-375.