

ICS 67.220

X 66

备案号

Q B

# 中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXX—20XX

代替SB/T 10315—1999

## 孢子数的测定

Determination of spore number

(征求意见稿)

20XX-0X-0X 发布

20XX-0X-0X 实施

XXXXXXXXXX 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。

本文件代替SB/T 10315-1999《孢子数测定法》。与SB/T 10315-1999相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改了标准名称；
- 修改了标准的适用范围；
- 增加了原理；
- 修改了试剂和材料；
- 修改了仪器和设备；
- 修改了分析步骤。

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。

本文件由中国调味品协会提出并归口。

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：

- SB/T 10315-1999，ZB X 66028-87。

# 孢子数的测定

## 1 范围

本文件规定了酱油及黄豆酱的种曲、曲精孢子数的测定方法  
本文件适用于酱油及黄豆酱的种曲、曲精孢子数的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

## 3 原理

将孢子放在血球计数板与盖玻片之间的计数室中，在显微镜下进行计数，根据观察到的孢子个数计算单位试样中的孢子总数。

## 4 试剂和材料

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

### 4.1 95%酒精。

4.2 硫酸溶液（1+10）：取 10 mL 浓硫酸慢慢注入到 100 mL 的水溶液中，搅拌均匀，冷却备用。

## 5 仪器和设备

5.1 分析天平：感量 0.001 g。

5.2 血球计数板、盖片。

5.3 显微镜。

## 6 分析步骤

### 6.1 样品稀释

精确称取种曲、曲精或菌种 0.5g~1g（精确至 0.002g），倒入盛有玻璃珠的 250mL 锥形瓶内，加 95% 酒精 5mL，加无菌水 20mL，加硫酸溶液（1+10）10mL，充分振摇，分散分生孢子，然后用多层纱布过滤、冲洗，务必使滤渣不含孢子，稀释至一定体积（定容体积以孢子不成团或成堆为宜），用上述稀释液润洗烧杯三次，由于孢子极易沉降，按稀释液流出容量瓶的前中后顺序倒取试样稀释液约 60 mL 于烧杯中备用。

### 6.2 制片

用胶头滴管从烧杯中快速吸取均匀稀释液，保持滴管竖直状态滴出第一滴不用，取第二、三滴于血球计数板的计数格上，然后将盖片轻轻由一边向另一边轻轻压下，使盖片与计数板完全密合，液中无气泡，如超过一分钟没有盖盖片或盖片发生移动，须重新制片。整个过程血球计数板保持水平状态，用滤纸吸干多余的溢出悬浮孢子液，静置数分钟，待孢子沉降。

### 6.3 观察计数

用低倍镜头或高倍镜头观察。由于稀释液中的孢子，在血球计数板上处于不同的空间位置，要在不同的焦距下才能看到，因而计数时必须逐格调动微细螺旋，才能不遗漏。孢子常位于大格的划线上，应一律取二边计数，而弃另二边，以减少误差。如果发现有许多孢子结成团或成堆，说明样品稀释未能符合操作要求，因此必须重新称重、振摇、稀释。

使用16×25的计数板时，只计数板上四个角上的4个大格（即100个小格）。如果使用25×16的计数板，除计四个角的4个大格外，还需要计中央一大格的数目（即80个小格）。

每个样品重复观察计数不少于2次，然后取其平均值。即为该样品的孢子数。

#### 6.4 水分的测定

按照 GB 5009.3 的要求测定样品的水分，结果记为 W。

### 7 结果计算

#### 7.1 孢子数（以湿基计）的计算公式

$$X_1 = \frac{n}{N} \times 400 \times 10000 \times \frac{V}{G} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X_1$ ——试样中的孢子数（以湿基计），单位为个每克（个/g）；

$n$ ——计数板内小格内孢子总数，单位为个；

$N$ ——使用16×25的计数板时N为100；使用25×16的计数板时N为80；

$V$ ——孢子稀释液体积，单位为毫升（mL）；

$G$ ——样品重量，单位为克（g）；

结果保留整数。

#### 7.2 孢子数（以干基计）的计算公式

$$X_2 = \frac{n}{N} \times 400 \times 10000 \times \frac{V}{G \times (1-W)} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$X_2$ ——试样中的孢子数（以干基计），单位为个每克（个/g）；

$n$ ——计数板内小格内孢子总数，单位为个；

$N$ ——使用16×25的计数板时N为100；使用25×16的计数板时N为80；

$V$ ——孢子稀释液体积，单位为毫升（mL）；

$G$ ——样品重量，单位为克（g）；

$W$ ——试样的水分，%；

结果保留整数。

### 8 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不超过算数平均值的 20%。