

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1677—2008

破壁灵芝孢子粉破壁率的测定

Determination of sporoderm-broken rate of *Ganoderma* spore product

2008-08-28 发布

2008-10-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：农业部食用菌产品质量监督检验测试中心(上海)、上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所、上海市农业科学院食用菌研究所。

本标准主要起草人：邢增涛、赵晓燕、倪伟锋、尚晓冬、李明容、赵志辉、谢宝贵。

破壁灵芝孢子粉破壁率的测定

1 范围

本标准规定了破壁灵芝孢子粉破壁率的测定方法。

本标准适用于未添加任何辅料破壁灵芝孢子粉破壁率的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

通过血球计数板对未破壁灵芝孢子粉进行计数,建立灵芝孢子粉质量与孢子个数之间的标准曲线,利用此标准曲线确定同批次一定质量待测破壁孢子粉中未破壁孢子粉的孢子个数,获得破壁孢子粉的破壁率。

4 试剂

4.1 水,GB/T 6682,二级。

4.2 无水硫酸锌(ZnSO_4)。

4.3 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)。

4.4 70.0 g/L 硫酸锌溶液:称取 7.0 g 在 110℃ 干燥至恒重的无水硫酸锌(ZnSO_4),溶于 100 mL 水中。

4.5 悬浮用溶液

取硫酸锌溶液(4.3)与无水乙醇以 10+1 的比例充分混合,现用现配。

5 仪器设备

5.1 分析天平 感量 0.001 g。

5.2 干燥箱。

5.3 血球计数板。

5.4 超声波仪。

5.5 涡旋混合器。

5.6 普通光学显微镜(目镜×10,物镜×20)。

5.7 具塞比色管,容量 25 mL。

6 分析步骤

6.1 未破壁孢子粉的清洗除杂

称取 0.10 g 与待测破壁孢子粉同批次的未破壁孢子粉,置于 0.2 mm 筛子上,用 100 mL 水冲洗,

250 mL 锥形瓶收集孢子粉悬浮液,定性滤纸过滤悬浮液,如果滤液比较浑浊,用水冲洗,直至滤液变澄清,弃去滤液。洗净后的孢子粉 60℃烘干至恒重,置于干燥器中保存。

6.2 待测破壁孢子粉的预处理

待测样品 60℃烘干至恒重,置于干燥器中保存,待测。

6.3 标准曲线的绘制

6.3.1 样品稀释

分别称取未破壁孢子粉约 0.01、0.03、0.04、0.05 g(精确到 1 mg)于 25 mL 比色管中,加入 10 mL 悬浮计数用溶液(4.4),在涡旋混合器上涡旋振荡,使结块的孢子粉散开。

6.3.2 孢子粉悬浮液的超声处理

将装有孢子粉悬浮液的比色管放入超声波仪中,超声处理 60 min。超声处理期间,每隔 15 min 手摇数次,使下沉的孢子悬浮起来,继续进行超声处理,最终使孢子分散均匀。再用悬浮计数用溶液(4.4)定容至 25 mL。

6.3.3 制片

将洁净的盖玻片盖于血球计数板上,吸取孢子粉悬浮液 8.0 μ L,进样。进样时应缓慢匀速,使盖玻片下无气泡。进样完成后静置约 30 s,等待孢子充分扩散和沉降。

6.3.4 观察计数

光学显微镜 100 倍下粗调,确定视野后在 200 倍(必要时增大倍数)下进行计数。计数时,应对焦距进行微调,充分统计处于计数板上不同空间位置的孢子。部分孢子粉会处于中格边线上,计数时应仅统计位于中格四个边线的其中两个边线的孢子粉数。

使用 16 个中格 $\times$ 25 个小格的计数板时,只计算四个角上的四个中格的孢子数目(即以 100 个小格为一个计数单位);当使用 25 个中格 $\times$ 16 个小格的计数板时,除计算四个角上的四个中格外,还需计算中央一个中格的孢子数目(即以 80 个小格为一个计数单位)。每个样品观察计数时应去掉离群较大的值,有效观察计数不少于 6 次,然后取其平均值。

6.3.5 绘制标准曲线

按上述计数步骤分别对上述预处理后的未破壁孢子粉悬浮液进行计数,然后以质量为横坐标,以每个计数单位的孢子平均数为纵坐标,制作标准曲线。

6.4 待测样品计数

称取待测样品约 0.04 g,精确到 1 mg,按 6.3.1~6.3.5 的操作步骤进行处理,计数。

7 结果计算

破壁率以质量分数 w 计,单位以 10^{-2} 或 % 表示,按公式(1)计算:

$$W = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100 \quad \text{..... (1)}$$

式中:

N_1 ——从标准曲线查到的与待测样品相同质量的未破壁孢子粉的数目,单位为个;

N_2 ——观察统计的一定质量破壁孢子粉样品中未破壁孢子粉的数目,单位为个。

计算结果保留到小数点后一位。

8 精密度

破壁率 $\leq 30\%$:在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于 20%,以大于 20%的情况不超过 5%为前提;

破壁率 $\geq 30\%$:在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于 10%,以大于 10%的情况不超过 5%为前提。
