

# 团 体 标 准

T/CVMA 358—2026

## 香菇菌丝体粉剂 液体发酵

*Lentinus edodes* mycelium powder—liquid fermentation

2026-3-4 发布

2026-3-4 实施

中国兽医协会 发布

中国兽医协会  
CVMA  
全国动物卫生大会

## 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。

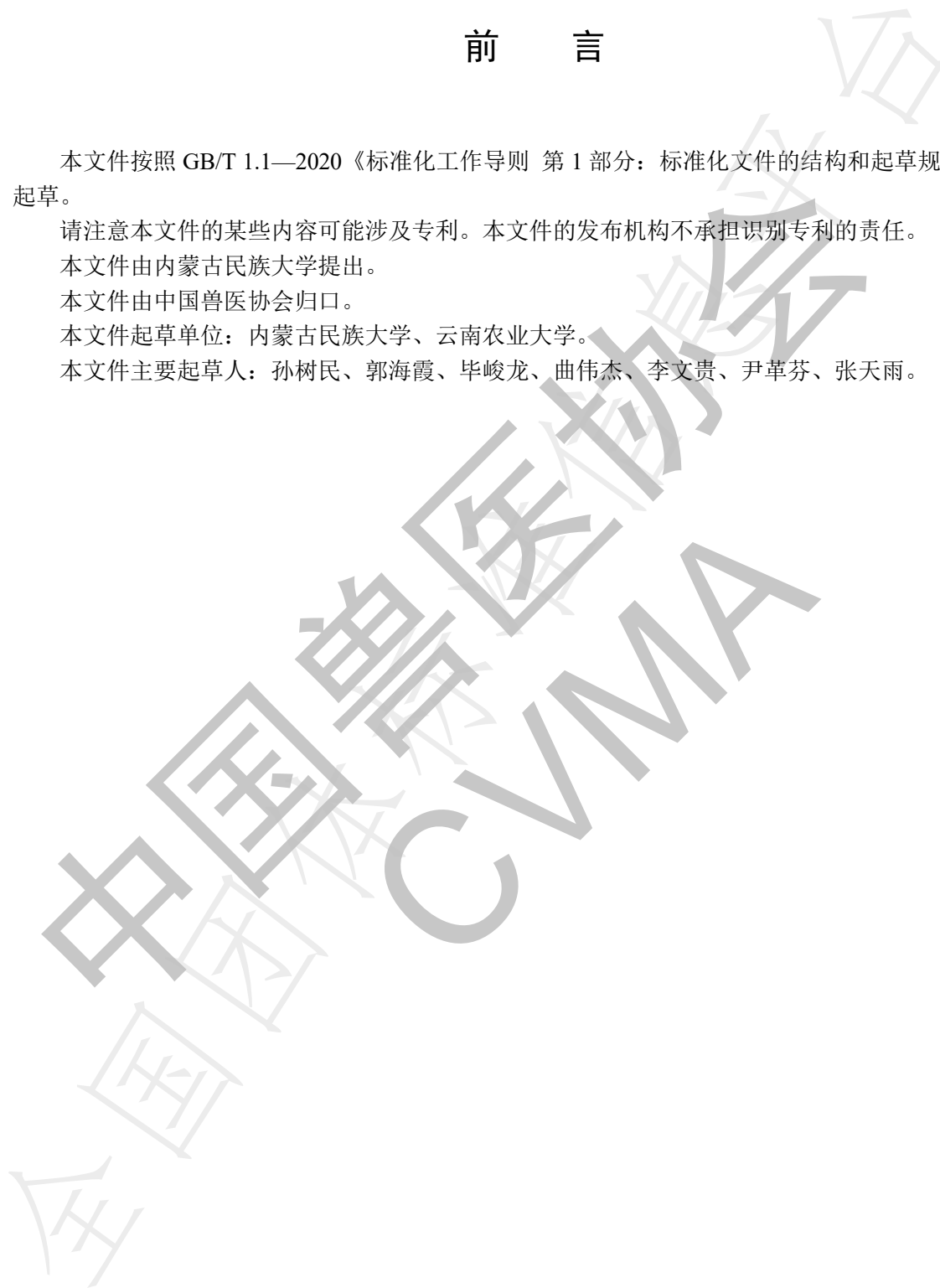
请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由内蒙古民族大学提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：内蒙古民族大学、云南农业大学。

本文件主要起草人：孙树民、郭海霞、毕峻龙、曲伟杰、李文贵、尹革芬、张天雨。



中国兽医协会  
CVMA  
全国动物卫生大会

# 香菇菌丝体粉剂 液体发酵

## 1 范围

本文件规定了香菇菌丝体粉剂的术语和定义、生产环境、菌种选择、生产流程、仪器与设备、发酵技术、多糖提取及粉剂制作和香菇菌丝体多糖粉剂质量测定等技术要求。

本文件适用于香菇菌丝体粉剂（液体发酵）的生产。

## 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 19424 天然植物饲料原料通用要求

GB/T 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法

GB 50073 洁净厂房设计规范

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**液体发酵** liquid fermentation

是在发酵罐或摇瓶中添加碳源、氮源、无机盐、维生素等营养物质组成的液体培养基，模拟自然生长状态下菌种所需的营养、温度、pH 等条件，实现培养增殖，在获得菌丝体、次生代谢物等。

### 3.2

**香菇液体发酵** liquid fermentation of *Lentinus edodes*

通过发酵罐或摇瓶培养香菇菌丝体，在适宜的培养条件下内获得香菇菌丝体及次生代谢物的过程，该生产方法具有产量大、缩短生产周期和效益高等特点。

### 3.3

**香菇菌丝体** *Lentinus edodes* mycelium

指香菇菌种在发酵罐或摇瓶等容器经培养基发酵过程获得的菌丝体及次生代谢物，含有香菇多糖等生物活性成分。

### 3.4

香菇菌丝体多糖 polysaccharides from *Lentinus edodes* mycelium

是指液体发酵所得的菌丝体，经水提醇沉获得的多糖。

### 3.5

液体发酵阶段 liquid fermentation phase

共分为3级培养，分为一级菌种即平板培养或试管培养、二级菌种即摇瓶培养扩增和二级菌种接种到发酵罐培养。

## 4 生产环境

香菇菌丝体粉剂（液体发酵）生产环境应符合 GB 50073 的要求。

## 5 菌种选择

选用在摇瓶培养条件下，菌丝体相互缠绕、聚集、均匀、高产和遗传稳定性好的形成的颗粒结构的菌球作为发酵菌种：香菇 L808。

## 6 生产流程

食用菌菌种的生产应符合 NY/T 528 的要求。香菇菌液体发酵物依以下流程进行生产和收集，具体生产流程见附录 B：

原始菌种→复壮→接种平板培养→平板菌块→接种摇瓶扩增→发酵罐高温灭菌→接种→发酵罐培养→液体发酵物收集。

## 7 原料与设备

### 7.1 原料

7.1.1 所用原料应符合 GB/T 19424 的相关要求。

7.1.2 发酵培养基（配制见附录 A 中 A.1）。

7.1.3 Sevrage 溶液（配制见附录 A.2）。

7.1.4 80%乙醇（配制见附录 A.3）。

7.1.5 冷凝水。

7.1.6 蒸馏水。

7.1.7 生物发酵消泡剂。

### 7.2 仪器设备及要求

7.2.1 120 L 发酵罐、4℃及-20℃冰箱、电子天平、500 mL 量筒、500 mL 三角烧瓶、无菌接种环、工业 pH 计、恒温震荡培养箱和火圈。

- 7.2.2 排列应有序，使生产作业顺畅进行并避免引起交叉污染，而各个设备的能力应能相互配合。
- 7.2.3 用于测定、控制或记录的测量器和记录仪，应能充分发挥其功能且应准确，并定期校正。
- 7.2.4 与原料、半成品、成品接触的设备与用具，应使用无毒、无味、抗酸腐蚀、不易脱落的材料制作，并应易于清洁和保养。
- 7.2.5 应建立设备保养和维修制度，加强设备的日常维护和保养，定期检修，及时记录。

## 8 发酵技术管理

### 8.1 平板培养（一级菌种）

挑取约 0.5 cm<sup>2</sup> 母种接种于凝固的平板培养基，平板倒置在 28 °C±2 °C、相对湿度 60 % 的条件下培养 10 d，菌丝体布满整个平板后取出，倒置于 4 °C 冰箱贮存 30 d，待用。

### 8.2 摇瓶培养（二级菌种）

500 mL 无菌摇瓶装 300 mL 培养基，挑取并接种约 1 cm<sup>2</sup> 的平板菌种 2 块，28 °C、160 r/min 培养 7 d，挑取 6 瓶生长状态良好、培养基略清澈且呈淡黄色的菌种作为发酵罐种子培养液。

### 8.3 发酵罐培养

发酵罐培养，按以下流程进行：

- 120 L 发酵罐加水 80 L，加热至沸腾、灭菌；
- 冷却后加培养基，充分搅拌混匀，补水至 100 L 刻度线处，封口；
- 115 °C 灭菌 60 min；
- 循环保温管口处通入冷凝水，降温至 28 °C，关闭循环保温管口，待用。取 6 瓶摇瓶菌种，采用火圈接菌法于接菌口快速接入发酵罐，关闭接菌口；
- 28 °C、通气量 0.04 vvm 连续培养约 8 d。

注：发酵罐的培养温度应控制在 28 °C ± 2 °C，压力应维持在安全范围内。

### 8.4 出液

打开发酵罐底端出液口，收集全部发酵液。

### 8.5 菌丝体

将上述发酵液过 200 目筛，蒸馏水洗涤 5 次，获得菌丝体。

## 9 香菇菌丝体粉剂制作

### 9.1 辅料混合

将发酵液与膨润土、玉米淀粉、玉米芯粉辅料按照重量 0.94:0.02:0.02:0.02 比例混合，搅拌均匀，手握至松软团状。

### 9.2 烘干

将上述原料摊平于不锈钢托盘，高度约 2 cm，置于 45 °C 烘干机烘干至水分 ≤ 5 % 为合格。

## 10 香菇菌丝体多糖粉剂质量标准

### 10.1 粉剂外观

取烘干粉剂适量置于光滑纸上，将其表面轻轻铺平，在光线明亮处观察其外观形态，应色泽均匀，无花纹与色斑。粉碎粒度测定应符合GB/T 5917.1的要求。

### 10.2 粉剂干燥失重

按照中华人民共和国兽药典（2020版）中干燥失重测定法（附录 0831）进行。结合本香菇菌丝体粉剂的特性，规定其干燥失重限度为不得过 8.0%。根据辅料的性质，选择用干燥剂干燥法，取 3 个批次的粉剂分别称取粉剂 M1，平铺于干燥至恒重的重量为 M2 的具塞扁形称量瓶中，铺成≤5 mm 厚薄层，瓶盖打开置干燥器内，干燥器底部放置经 105℃干燥处理的变色硅胶，放置 48 h，称量称量瓶及粉剂总重为 M3，干燥失重百分率按照公式（1）进行计算。

$$N = [M1 - (M3 - M2)] / M1 \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

N——干燥失重百分率（%）；

M1——取粉剂样品的质量，单位为克（g）；

M2——具塞扁形称量瓶的重量，单位为克（g）；

M3——干燥后称量瓶和粉剂的总重量，单位为克（g）。

## 11 香菇菌丝体多糖制备

香菇菌丝体多糖制备（见附录 C），进行多糖含量指标测定，其中多糖检出限不低于 0.25g/100g，含量不低于 1g/100g。

## 12 粉剂含量均匀度测定

称取 3 个不同批次、同一批次取 3 个不同部位样品，分别用纯水溶解并稀释成浓度为 300 μg/mL 的溶液，0.45 μm 滤膜过滤，取滤液备用，按《中华人民共和国兽药典》（2020 年版）多糖含量测定法（0401），以葡萄糖为对照品，测量其粗多糖含量（见附录 D）。

## 13 香菇菌丝体粉剂的稳定性试验

香菇菌丝体粉剂的稳定性试验包括：高温试验（操作见附录 E 中 E.1）、高湿度试验（操作见附录 E.2）、强光照射试验（操作见附录 E.3）以及长期试验（操作见附录 E.4）。

## 14 香菇菌丝体粉剂（液体发酵）安全性要求

重金属限量（mg/kg）：砷（As）≤2.0，铅（Pb）≤5.0，镉（Cd）≤0.5。微生物限度：菌落总数 ≤10<sup>4</sup> CFU/g，大肠杆菌不得检出。

附录 A  
(资料性)  
相关试剂的配制

A.1 发酵培养基

可溶性淀粉 2 %、大豆粉 1.8 %、磷酸二氢钾 0.3 %、硫酸镁 0.1 %、维生素 B1 0.005 %。

A.2 Sevage溶液

氯仿和正丁醇按 4:1 比例进行配置。100 mL 氯仿中加入 25 mL 正丁醇，充分混匀。

A.3 80 %乙醇

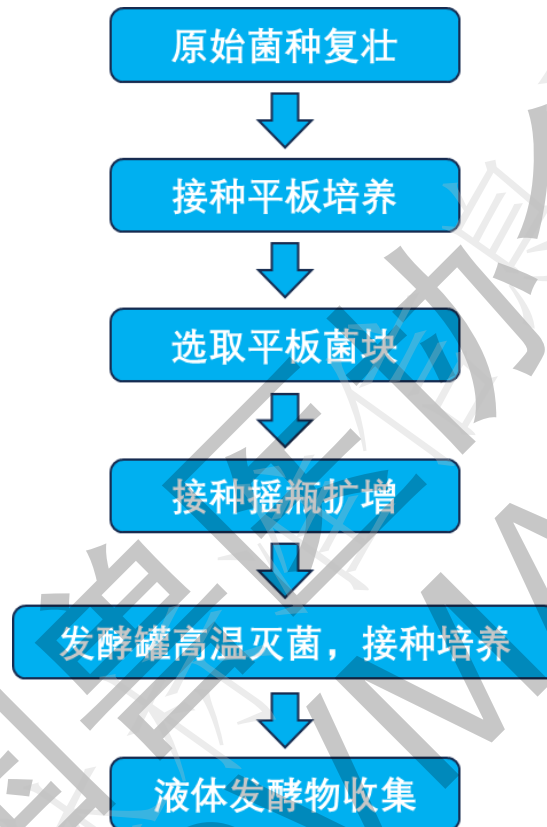
80 mL 无水酒精中分别加入 20 mL 蒸馏水，充分混匀。

附录 B

(资料性)

香菇菌丝体粉剂（液体发酵）生产流程

香菇菌丝体粉剂（液体发酵）生产流程见图B.1。



图B.1 香菇液体发酵物生产流程图

附 录 C  
(资料性)  
香菇菌丝体多糖制备

将香菇菌丝体加适量水,75℃提取 60 min,冷却至室温;加 1/3 体积 Sevage 溶液(氯仿:正丁醇=4:1),震荡 20 min,3000 r/min 离心 10 min,合并水相,重复上述步骤 3 次,直至水相与有机相之间无蛋白层;除去残留的有机溶剂,加入 3 倍体积 80%乙醇,4℃静置 24 h,去上清,即得香菇菌丝体多糖。

## 附录 D

(资料性)

### 香菇菌丝体多糖含量测定方法

#### D.1 苯酚-硫酸法的试剂配制

D.1.1 9%苯酚溶液：50 g苯酚，加入蒸馏水至体积为1000 mL（即50 g苯酚+950 mL蒸馏水），搅拌均匀，转移至棕色试剂瓶，4℃保存备用。

D.1.2 葡萄糖对照品溶液：称取100 mg无水葡萄糖，置于105℃烘箱干燥3 h，冷却至室温。将干燥的葡萄糖溶于蒸馏水，定容至1000 mL，摇匀。

#### D.2 苯酚-硫酸法的测定步骤

##### D.2.1 葡萄糖标准曲线绘制

称取0.01 g葡萄糖用100 mL容量瓶定容，取6支试管每只试管分别加入0、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL和1.0 mL葡萄糖标准液，加水至2.0 mL，每组3个重复。每个试管中加入1 mL苯酚和5 mL浓硫酸后静置20 min。490 nm测定吸光度，以标准溶液的含糖量为横坐标，以吸光度为纵坐标绘制葡萄糖标准曲线。

##### D.2.2 香菇菌丝体多糖含量测定

精确称取10 mg香菇菌丝体多糖，加水溶解，定容至100 mL，取2 mL于试管中加入1 mL 9%苯酚和5 mL浓硫酸后静置20 min，以水为空白孔，于波长490 nm处测定吸光度值，并根据葡萄糖标准曲线计算多糖含量。

## 附 录 E

(资料性)

## 香菇菌丝体粉剂的稳定性试验

## E.1 高温试验

取适量香菇菌丝体粉剂置于培养皿，铺成 $\leq 5$  mm 厚薄层，60℃放置 10 d，于 0 d、5 d、10 d 取样。按稳定性重点考察项目（性状、吸湿增重、香菇粗多糖含量）进行检测。若香菇粗多糖含量达不到规定限度，则在 40℃同法重复试验。若 60℃香菇粗多糖含量变化不明显，不再重复 40℃试验。每次检测做 3 个批次。

## E.2 高湿度试验

取适量香菇菌丝体粉剂置于培养皿，铺成 $\leq 5$  mm 厚薄层，25℃、湿度 90%放置 10 d，于 0 d、5 d、10 d 取样。按稳定性重点考察项目检测，同时称量试验前后粉剂重量，考察香菇菌丝体粉剂吸湿性。当吸湿增重 $> 5\%$ ，则在湿度 75%同法重复试验；当吸湿增重 $\leq 5\%$ ，且其他项目符合标准，不再进行重复试验。每次检测做 3 个批次。

## E.3 强光照射试验

取适量香菇液体菌丝体粉剂置于培养皿，铺成 $\leq 5$  mm 厚薄层，置于光照培养箱，将光照强度设置为 4 500 lx 放置 10 d，于 0 d、5 d、10 d 取样，按稳定性重点考察项目进行检测。每次检测做 3 个批次。

## E.4 长期试验

将香菇菌丝体粉剂于 25℃、湿度 60%放置 180 d，于第 0 d、90 d、180 d 取样。考察项目包括性状、吸湿增重和粗多糖含量，考察结果与 0 d 比较，以确定菌丝体粉剂保存期。若 3 批结果差别不明显，取其平均数定为保存期；若结果差别较大，则取最短保存期。

---