



团 体 标 准

T/FJHX 00X—2023

杏鲍菇液体菌种生产技术规范

Technique standard for liquid spawn production of *Pleurotus eryngii*

(征求意见稿)

2023 - - 发布

2023 - - 实施

福建省食用菌行业协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 生产条件	2
5 生产工艺	2
6 生产档案	5
附录 A（资料性） 培养基配方	6
附录 B（资料性） 液体菌种质量要求	7
附录 C（资料性） 生产档案	8

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。

本文件由福建省食用菌行业协会提出并归口。

本文件起草单位：福建省食用菌技术推广总站、...

本文件主要起草人：

杏鲍菇液体菌种生产技术规范

1 范围

本文件规定了杏鲍菇液体菌种生产的生产条件、生产工艺与生产档案。
本文件适用于杏鲍菇液体菌种生产。

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 12728 食用菌术语
GB 50073 洁净厂房设计规范
NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程
NY 862 杏鲍菇和白灵菇菌种

3 术语和定义

GB/T 12728 界定的及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

发酵罐 Fermenter

食用菌液体菌种培养的专用设备，宜选用不锈钢材质，应符合 GB 150 要求，常用有固定式发酵罐和移动式发酵罐两种类型。

3.2

罐压 Jar pressure

液体菌种培养过程中发酵罐保持的空气压力，单位是 Mpa。

3.3

空消 Sterilizing fermentor

对无物料的空发酵罐及附属设备进行高压灭菌。

3.4

实消 Intermittent sterilization

对投料后的发酵罐进行高压灭菌。

3.5

摇瓶菌种 Spawn in shake flask

装在玻璃三角瓶或抽滤瓶内置于摇床上培养的液体菌种。

3.6

发酵罐菌种 Spawn in fermenter

在发酵罐内培养的液体菌种。

4 生产条件

4.1 场地选择

场地选择宜选择场地开阔、地面硬化、水源充足、排水通畅、通风良好的场所，环境卫生应符合 NY/T 528 要求。

4.2 生产设施

4.2.1 厂房设置与布局应符合 NY/T 528 要求，配备摇瓶菌种、发酵罐菌种制作培养室，净化等级应达到万级局部百级。

4.2.2 生产车间设计应符合 GB 50073 要求，地面应具备防水、防腐蚀、防渗漏、防滑、易清洗和良好的排水系统等功能；墙角为圆角，墙壁和天花板应具备防潮、防霉、防水、易清洗等功能。

4.2.3 发酵罐菌种车间应配备完善的水、电、蒸汽和空气等四大系统。

4.3 设备用具

4.3.1 主要设备包括发酵罐、摇床、磁力搅拌机、空气压缩机、空气过滤器、冷干机、干燥吸附机、高压蒸汽灭菌锅、蒸汽锅炉、超净工作台、离心机、恒温培养箱、冰箱、水处理设备及备用电源等。

4.3.2 主要用具包括玻璃三角瓶、抽滤瓶、试管、培养皿、量杯、玻璃漏斗、天平、磅秤、显微镜、酸度计、二氧化碳测定仪等生物实验室常规用品。

4.4 培养原料

应符合 NY/T 528 要求，生物制剂和天然材料的水不溶性固体物料应过 160 目筛。

5 生产工艺

5.1 工艺流程

按照图 1 的工艺流程进行杏鲍菇液体菌种生产。

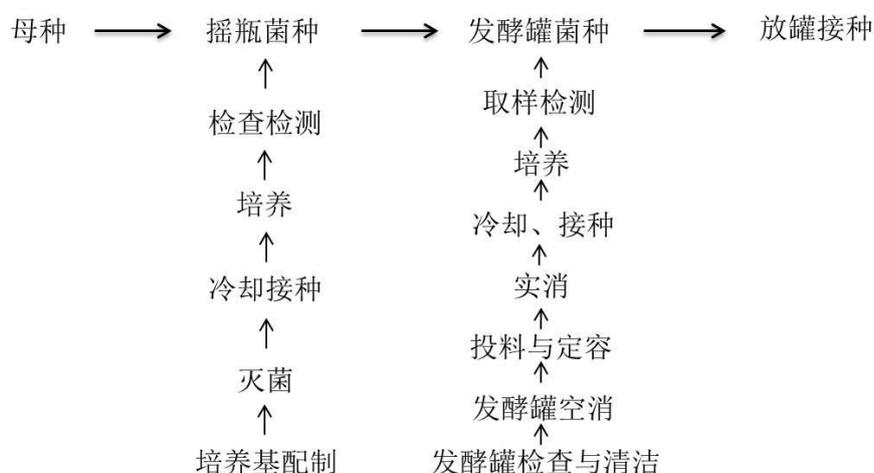


图1 工艺流程

5.2 母种

- 5.2.1 选用优质、高产、抗逆性强、商品性好、适应工厂化生产环境的优良品种。
- 5.2.2 母种生产应符合 NY/T 528 要求，培养温度 24 ℃~26 ℃。
- 5.2.3 母种质量应符合 NY 862 的要求。
- 5.2.4 每批次母种留样 3 支~5 支，置 4 ℃~6 ℃ 条件下至少贮存到该批次出菇结束。

5.3 摇瓶菌种

5.3.1 配制

按照附录 A.1 配方配制培养基，1 L 三角玻璃瓶或抽滤瓶装培养基容量 600 mL，添加 1 个磁力搅拌子，采用棉花塞或硅胶塞封口。

5.3.2 灭菌

将分装好的三角瓶或抽滤瓶放入高压灭菌锅内进行灭菌，按照常规高压蒸汽锅灭菌操作规程，压力 0.11 Mpa~0.12 Mpa、温度 121 ℃~124 ℃，维持 30 min。

5.3.3 冷却接种

灭菌后三角瓶或抽滤瓶应冷却至 26 ℃ 以下方可接种，接种时应严格执行无菌操作规程，每瓶接种量为 0.3 cm²~0.5 cm² PDA 母种块 6 块~8 块。

5.3.4 培养

接种后三角瓶或抽滤瓶宜静置 24 h 后移至摇床上进行避光培养，振荡频率 120 r/min~150 r/min，培养温度 22 ℃~25 ℃。

5.3.5 检查检测

- 5.3.5.1 培养期间应定期检查菌种萌发状况，培养初期，可明显见到粗壮菌丝体，培养后期，菌丝变细并且均匀；发现污染或异常的菌种应及时处理。
- 5.3.5.2 接种后第 4 d 取样检测，按照无菌操作取样，先进行显微观察菌丝生长状况，再将样液接于 LB 培养基（附录 A.2）的培养皿上，于 33 ℃~37 ℃ 培养 1 d~2 d，发现菌丝生长异常及染杂现象，应去除处理。

5.3.6 质量要求

接种后培养 6 d~7 d，静置摇床 3 min~5 min 后观察，菌液澄清透明、无浑浊，菌丝球大小均匀，悬浮于液体培养基、分布均匀、无分层，无杂菌污染。

5.3.7 备种及留样

- 5.3.7.1 摇瓶菌种使用前，宜用磁力搅拌器打碎，备用。
- 5.3.7.2 每瓶摇瓶菌种宜留样 30 mL~40 mL，一部分用于转接于 LB 培养基（附录 A.2）的培养皿及栽培瓶（袋）上进行培养观察，发现菌丝萌发、生长异常，应跟踪处理相应的发酵罐菌种，另一部分用于留样备查。

5.4 发酵罐菌种

5.4.1 发酵罐检查与清洁

5.4.1.1 检查罐上全部阀门、接种口、取样口、排气口、过滤器及硅胶管等附件，要求完好、无破损。

5.4.1.2 用水冲洗罐体内、外和全部阀门，确保无死角、内壁无培养料残余。

5.4.2 发酵罐空消

5.4.2.1 固定式发酵罐初次及空置后使用、出现污染、更换品种时，应通入外源蒸汽进行空消，蒸汽压力 0.11 Mpa~0.12 Mpa、温度 121 °C~124 °C，灭菌 40 min，灭菌结束后，应及时通气或打开相应的阀门，保持罐内正压状态。

5.4.2.2 移动式发酵罐投料前应移至全自动智能灭菌锅内进行空消，锅内压力 0.11 Mpa~0.12 Mpa、温度 121 °C~124 °C，灭菌 40 min。

5.4.3 投料与定容

按照附录 A.2 配方将原料加入发酵罐，加水搅拌均匀并定容，液体培养基投料量为罐体总容量的 70%~80%，然后拧紧上料口盖。

5.4.4 发酵罐实消

5.4.4.1 投料后的固定式发酵罐采用外源蒸汽进行实消，蒸汽压力达到 0.11 Mpa~0.12 Mpa，罐中心温度 121 °C~124 °C，保持 45 min~70 min（灭菌时间应视不同规格的罐体进行调整）。

5.4.4.2 投料后的移动式发酵罐应移至全自动智能灭菌锅内进行实消，锅内压力 0.11 Mpa~0.12 Mpa，罐中心温度 121 °C~124 °C，保持 60 min。

5.4.5 冷却

5.4.5.1 固定式发酵罐灭菌结束，开启冷水阀门将冷水通入发酵罐夹层进行循环降温，待罐内温度降至 105 °C 左右、罐压降至 0.068 Mpa，开始通入无菌空气，打开上排气阀，持续通入冷水，待罐温 25 °C，停止通入冷水，调整排气口与无菌空气进气阀门，使罐内压力维持 0.05 Mpa。

5.4.5.2 移动式发酵罐灭菌结束，应将发酵罐移至冷却室进行水淋冷却，待罐温降至 22 °C~26 °C，停止淋水。

5.4.6 接种

5.4.6.1 使用三角瓶菌种接种，应先用带有手柄的内径略大于接种口的铁丝圈缠绕脱脂棉，蘸上 95% 的酒精，套在发酵罐的接种口上点燃；调节排气阀，使罐内压力降至 0.01 Mpa；用 75% 酒精对三角瓶菌种的瓶口进行消毒，并在火焰上灼烧瓶口 3 s~5 s，打开三角瓶塞，瓶口靠近火焰上方；打开发酵罐的接种口盖，将三角瓶菌种迅速倒入发酵罐；用火焰灼烧发酵罐的接种口盖，迅速拧紧接种口盖，移走铁丝圈，调节发酵罐的罐压至 0.05 Mpa。

5.4.6.2 使用抽滤瓶菌种接种，应先在发酵罐接种口缠绕纱布，并在接种口和纱布中注入 95% 酒精，点燃酒精，燃烧约 2 min，燃烧过程应及时补充酒精；一人扶好抽滤瓶，一人在火焰上方拆除抽滤瓶连接管的封口，接上发酵罐接种口，灭掉火焰；排净发酵罐内压力，打开接种阀门，让抽滤瓶中菌种注入发酵罐；接种后关闭接种阀门，调节罐压至 0.05 Mpa。

5.4.7 培养

5.4.7.1 固定式发酵罐接种后罐内换气量 1: 0.5 V/V~1.2 V/V (料液体积/空气体积), 罐压保持 0.05 Mpa, 罐内温度保持 21 °C~23 °C。

5.4.7.2 移动式发酵罐接种后发酵罐的进气量视菌丝量而定, 进气压力从 0.05 Mpa~0.15 Mpa 进行调整; 培养室温度保持 21 °C~23 °C。

5.4.8 取样检测

发酵罐灭菌后的空白培养基、培养第 4 d 取样 30 mL~40 mL, 检测项目、指标和方法见附录 B, 发现问题应及时处理。

5.4.9 质量要求

接种后培养 6 d~7 d, 观察培养状况, 当菌种质量符合附录 B 要求, 即可放罐接种。

6 生产档案

母种、摇瓶菌种、发酵罐菌种生产应建立生产档案, 记录内容见附录 C, 档案保存至少 2 年。

附录 A
(资料性)
培养基配方

A.1 摇瓶菌种培养基推荐配方

白糖 11.1 g, 豆粕粉 2.07 g, KH_2PO_4 0.67 g, MgSO_4 0.67 g, 水 1 L。

A.2 LB 培养基配方

牛肉膏 5 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 琼脂 20 g, 水 1 L。

A.3 发酵罐菌种培养基推荐配方

白糖 11.1 g, 豆粕粉 2.07 g, KH_2PO_4 0.67 g, MgSO_4 0.67 g, 液体消泡剂 0.1 mL, 水 1 L。

附 录 B
(资料性)
液体菌种质量要求

液体菌种质量要求见表 B.1。

表 B.1 液体菌种质量要求

项目	指标	方法
菌液色泽	菌液澄清透明，球状菌丝体呈白色。	肉眼观察
菌液形态	菌液稍粘稠，菌丝球悬浮于液体培养基、分布均匀、无分层，菌球边缘清晰透明。	
菌液气味	有杏鲍菇液体培养液特有的香气，无酸、臭等异味。	鼻嗅
pH 值	5.5~6.2	酸度计
显微观察	菌丝粗壮、丰满、均匀，有锁状联合，无杂菌。	放大倍数不低于 10×40 的光学显微镜对培养物的水封片进行观察，每个检样应不低于 50 个视野。

附 录 C
(资料性)
生产档案

C.1 母种生产档案

母种生产档案见 C.1。

表 C.1 母种生产档案

编号：

品种名称		来源	
培养基		配制日期	
灭菌	压力	温度	时间
接种时间		扩繁数量	接种人
培养温度		萌发时间	长满时间
菌丝体特征		菌落边缘	菌丝体分泌物
背面外观		杂菌、虫(螨)	记录人
备注			

C.2 摇瓶菌种生产档案

摇瓶菌种生产档案见 C.2。

表 C.2 摇瓶菌种生产档案

编号：

培养基 配制	日期			装料量			
	配方						
	灭菌	压力		温度		时间	
	记录人						
接种	日期			品种名称			
	记录人						
培养	日期	温度	转速	菌液色泽	菌丝形态	其它	记录人
备注							

C.3 发酵罐菌种生产档案

发酵罐菌种生产档案见 C.3。

表 C.3 发酵罐菌种生产档案

编号：

培养基 配制	日期				发酵罐容量					
	配方									
	pH 值			备注			记录人			
灭菌	蒸汽	保温			灭菌			冷却温度		
	压力	压力	温度	时间	压力	温度	时间			
	备注						记录人			
接种	日期	接种前检测								
		温度		pH 值			微生物检测			
	接种量				空气过滤处理					
	备注						记录人			
培养	日期	罐内压力	空间温度	罐内温度	菌液颜色	菌丝形态	气味	pH 值	记录人	
备注										