

液体菌种生产技术规程 第8部分：猴头菇

Technical regulation for the preparation of liquid spawn
Part8: *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出。

本文件由辽宁省农业农村厅归口。

本文件起草单位：辽宁省农业科学院食用菌研究所；辽宁省农业农村发展服务中心；凤城市大业食用菌专业合作社联合社；葫芦岛农函大玄宇食用菌野驯繁育有限公司。

本文件主要起草人：李超、李宏亮、侯俊、刘国宇、郭学山、马世宇、史明文

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅（辽宁省沈阳市和平区太原北街2号），邮编：110001，联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：辽宁省农业科学院食用菌研究所，邮编：110161，联系电话：024-31025879。

液体菌种生产技术规程 第8部分：猴头菇

1 范围

本标准规定了猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 液体菌种生产的术语和定义、生产条件、生产技术、质量要求、贮藏、生产记录等要求。

本标准适用于猴头菇液体菌种的生产。

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 150.1 压力容器 第1部分：通用要求

GB 4789.28 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

GB 5749 食品安全国家标准 生活饮用水卫生标准

GB/T 12728 食品安全国家标准 食用菌术语

NY/T 528 食品安全国家标准 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 1731 食品安全国家标准 食用菌菌种良好作业规范

3 术语和定义

GB/T 12728界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

发酵罐 *fermentation bioreactor*

一种生物反应器，是指为活细胞或酶提供适宜的反应环境，让他们进行细胞增殖或生产的装置系统。

3.2

发酵罐空消 *empty fermenter sterilization*

是指在发酵罐内没有放发酵液时，对整个空的罐体进行灭菌消毒。

3.3

发酵罐实消 *fermenter sterilization*

是指加入培养基后消毒灭菌。

4 生产条件

生产要求应符合 NY/T 528 的规定。环境要求应符合 NY/T 1731 的规定。液体种发酵罐质量应符合 GB 150.1 的规定。生产用水标准应符合 GB 5749 的规定。

5 品种选择

选用高产、优质、抗逆性强、商品性好的猴头菇品种，从具相应资质的供种单位引种或本单位选育，并清楚地追溯菌种来源。菌种生产过程应符合NY/T 528 的要求。

6 生产技术

6.1 母种制备

6.1.1 培养基配方

去皮马铃薯200g，葡萄糖20g，琼脂20g，蛋白胨3g~5g，水1000ml。

6.1.2 菌种活化

将保藏种接种到培养基中，培养温度22℃~24℃，避光恒温培养10d~15d，菌丝长满试管或者培养皿检验合格即可使用。

6.2 摇瓶生产

6.2.1 容器

采用无色专用玻璃菌瓶，用棉塞、硅胶塞或专用封口透气膜封口。

6.2.2 培养基配方

去皮马铃薯 200g、葡萄糖 20g/L、磷酸二氢钾 1g/L、硫酸镁 0.5g/L、pH4.0。

6.2.3 培养基配制

去皮马铃薯煎汁1000ml，放入葡萄糖、磷酸二氢钾和硫酸镁，充分溶解均匀后，装入摇瓶，装液量不超过摇瓶容量的3/5，摇瓶中放置磁力搅拌棒，封口后待灭菌。

6.2.4 灭菌

将摇瓶放入高压灭菌锅内进行灭菌，灭菌蒸汽压力0.11 MPa，在121℃下维持20min~30min。

6.2.5 接种

待培养基冷却至25℃以下，在无菌条件下，用打孔器打孔（5mm孔径）或接种钩取（5mm~8mm×5mm~8mm）4块~5块活化母种块迅速转接于摇瓶培养基内，封口。

6.2.6 振荡培养

将摇瓶放入摇床内，培养温度22℃~25℃，转速150r/min~170r/min，避光条件培养6d~8d。

6.3 发酵罐生产

6.3.1 发酵罐空消

发酵罐初次使用、出现杂菌、长期放置及更换品种时，应进行空消灭菌。蒸气压力0.11 MPa~0.14 MPa、恒压维持40min。

6.3.2 培养基配方

去皮马铃薯（200g）煎汁 1L、葡萄糖 20g/L、磷酸二氢钾 1g/L、硫酸镁 0.5g/L、pH4.0。

6.3.3 投料与定容

原料按比例加水后搅拌均匀，加入罐内，装液量为罐体容量的70%~80%，加入0.01%消泡剂，拧紧上料口盖。

6.3.4 发酵罐实消

液体种发酵罐内蒸汽压力控制在0.11MPa~0.12MPa，恒压维持60min~90min。

6.3.5 冷却

灭菌结束，关闭空气过滤器灭菌阀与排气阀，缓慢打开夹套排气阀降压至0MPa，通入冷水降温；同时缓慢打开发酵罐罐内排气阀降压，待压力接近0.02 MPa~0.04 MPa时向罐内通入无菌空气，调整排气阀，维持罐压0.04MPa~0.05MPa，培养液温度降至25℃以下时，关闭夹套进水阀。

6.3.6 接种

将摇瓶接种管和发酵罐接种口用75%酒精消毒，用95%酒精的火焰圈套在接种口上，轻微打开阀门，使发酵罐罐内压力为0.01 MPa。点燃火焰圈，在火焰保护下用镊子去掉瓶塞，打开接种口阀门，将摇瓶菌种注入发酵罐。接种量为 0.5%~1.0%。接种后迅速关闭接种阀门，去掉火焰圈，继续通入无菌空气。

6.3.7 发酵培养

根据菌丝生长情况，适时调节进气阀门，通入适量无菌空气，通气量一般为1: 0.8 V/V•min~1: 1 V/V•min，同时调节排气阀，维持罐压0.01 MPa~0.02MPa，培养温度控制在22℃~24℃，培养6d~8d。

7 质量要求

7.1 感官要求

采用“看、旋、嗅”的步骤进行检查，应符合表1的规定。

表1 猴头菇液体菌种感官要求

项目	感官指标
色泽	培养液呈黄色或黄褐色、清澈透明，菌丝体白色
形态大小	菌丝球均匀分布、大小一致、菌丝粗壮、线条分明、菌液无混浊
气味	有菌类特有的芳香气味，无发霉、发臭、酸、甜等异味

7.2 生理指标

7.2.1 镜检

7.2.1.1、取样

接种前，在无菌操作状态下将液体菌种取到灭菌后的三角瓶中。

7.2.1.1 装片

取一滴液体菌种，带少量菌球，滴在载玻片上，盖上盖玻片。

7.2.1.3 观察

在 400 倍下观察菌丝和液体的状态，重点观察菌丝分枝、隔膜、粗细、锁状联合等是否正常，观察是否有酵母菌、细菌等异常微生物。

7.2.1.4 判断

根据观察结果，判断是否染菌，做出检测报告。

7.2.2 取样接种

取少量猴头菇菌液，接种于霉菌、细菌和酵母菌专用培养基中，在22℃~26℃条件下恒温培养2d~3d，观察菌丝生长情况。

表 2 猴头菇液体菌种生理指标

项目	生理指标
pH 值	4.0~5.0
菌丝湿重 (mg/mL)	液体菌液经离心机离心后，湿重 \geq 70
菌丝特征	菌丝界限分明、粗细分布不均、呈枝叉状
杂菌检测	通过菌液接种培养，无霉菌、酵母和细菌

8 贮藏

猴头菇液体菌种生产后应立即使用。如不能立即使用，摇瓶液体菌种需降温保存，在1℃~4℃、暗光条件下可保存4d~5d，发酵罐液体菌种通入无菌空气，保持罐压0.02MPa~0.04MPa，在液温6℃~10℃条件下可保存3d~5d。

9 生产记录

详细记录液体菌种生产每个环节的技术指标，由具体操作人员现场记录填写，技术主管审核，签字后归档保存，生产记录档案应保留2年。