

### 液体菌种生产技术规程 第9部分：桑黄

Technical regulation for the preparation of liquid spawn strains  
Part9: *Phellinus igniarius* (L. ex Fr.) Quel. [*Fomes igniarius* L. ex Fr.]

(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：：凤城市大业食用菌专业合作社联合社；辽宁省农业科学院；辽宁省农业发展服务中心；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、郭学山、刘国宇、侯俊、马世宇、张春风、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：凤城市大业食用菌专业合作社联合社（凤城市边门镇大东村），邮编：118100，联系电话：0429-8075807。

# 液体菌种生产技术规程 第9部分：桑黄

## 1 范围

本标准规定了桑黄液体菌种术语及定义、生产的基本要求、主要包括制作要求、生产工艺流程、质量要求、技术要求、生产记录与存档等技术要求。

本标准适用于桑黄液体菌种的生产。

## 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 生活饮用水卫生标准

GB 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/T 1731 食用菌菌种良好作业规范

NY/T 2375 食用菌生产技术规范

## 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

**液体菌种** *Liquid strain*

用液体基质培养的菌种即为液体菌种。

### 3.2

**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。

### 3.3

**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。

### 3.4

**发酵罐实消** *fermenter sterilization*

是指加入培养基后消毒灭菌。

## 4 生产要求

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。

### 4.1 环境条件

应符合 NY/T 528 的规定。

### 4.2 生产车间

应符合 GB 50073 的规定。

### 4.3 生产原料

培养基生产用水应符合 GB 5749 的要求，化学投入品应符合 NY/T 2375 要求，天然材料要求新鲜、无霉变、无螨、无虫、洁净、干燥。

### 4.4 菌种选择

选用菌丝生长旺盛、高产、优质、抗逆性强的菌种。

## 5 生产工艺

### 5.1 母种制备

#### 5.1.1 培养基配方

马铃薯(去皮)200g、葡萄糖 20g、蛋白胨 3g、磷酸二氢钾 3g，硫酸镁 1.5g，琼脂粉 20g，水 1000mL。

#### 5.1.2 母种培养基制作

取新鲜去皮马铃薯 200g 切成小块，加水煮沸 20~30min，然后用纱布过滤，补充水至 1000ml，加入琼脂加热搅匀，充分溶解后加入葡萄糖、磷酸二氢钾和硫酸镁，溶解后分装至试管，分装量为试管长度的 1/3~1/2，使用硅胶塞封口，将试管置于高压蒸汽灭菌锅中，0.1 Mpa 灭菌 30min，冷却后摆放斜面。

#### 5.1.3 接种与培养

在无菌条件下，用接种工具取黄豆粒大小的初始菌种接种至母种培养基中，24℃~26℃避光培养，菌丝长满斜面后检验合格即可使用。

#### 5.1.4 母种质量要求

培养期间每天检查，及时淘汰染菌或劣势菌种。菌丝长满管后逐支进行感官和菌丝微观特征检验，合格菌种进入生产流程。

### 5.2 液体菌种配方

表 1 液体菌种培养基配方

配方 1	葡萄糖 20 g/L、豆粕粉 5 g/L、磷酸二氢钾 1.5 g/L、硫酸镁 1 g/L, pH 自然
配方 2	玉米粉 20 g/L、蛋白胨 3 g/L、磷酸二氢钾 1 g/L、硫酸镁 0.5 g/L, pH 自然
配方 3	玉米粉 20 g/L、豆粕粉 5g/L、磷酸二氢钾 1 g/L、硫酸镁 0.5 g/L, pH 自然

### 5.3 摇瓶液体菌种生产

#### 5.3.1 培养基配制

按液体培养基配方配制，混合均匀，装入 250 mL、500 mL 或 1000 mL 无色玻璃三角瓶中，装液量宜为摇瓶容量的 1/4~1/3，瓶塞封口，并用报纸或牛皮纸包扎，置于高压蒸汽灭菌锅中，在 0.1 Mpa 下灭菌 25min~30 min。

#### 5.3.2 接种

待培养基冷却至 25℃以下，在无菌条件下，用接种工具挑取取块径 3mm~5mm 的菌块迅速转接于摇瓶培养基内，封口。

#### 5.3.3 培养

24℃~26℃条件下，静置培养 24h，然后置于摇床上震荡暗光培养，转速 150 r/min~160 r/min，培养时间 6d~9d。

#### 5.3.4 摇瓶液体菌种质量要求

菌液澄清透明，菌球均匀密集，无异味，镜检无杂菌、菌丝形态正常。

### 5.4 发酵罐液体菌种生产

#### 5.4.1 培养基配制

将配制好的培养基材料搅拌均匀，倒入或用泵抽入处理好的发酵罐中，加水定容至所需体积。培养基投料总量为罐体总容积的 60%~80%。拧紧上料口盖，在 0.1 Ma 压力下灭菌 40 min~60 min。

#### 5.4.2 接种

灭菌结束后培养基温度冷却至 24℃以下，利用火焰保护接种，接种量为罐内培养基总体积的 1%~2%。

#### 5.4.3 培养

根据菌丝生长情况，适时调节进气阀，通入适量无菌空气，同时调节排气阀，维持罐压培养具体要求如下：

- a) 罐压：0.02 Mpa~0.05 Mpa；
- b) 罐温：25℃±2℃；
- c) 通气量：1:0.5~1.2 V/V（料液体积/空气体积）；
- d) 培养时间：6~9 d。

#### 5.4.4 质量要求

每隔 24 h 从取样口取样检查 1 次，培养结束后肉眼观察菌丝球密集、培养液澄清、无异味，镜检无杂菌。

#### 5.4.4.1 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 2 桑黄液体菌种感官要求

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

#### 5.4.4.2 生理指标

##### 5.4.4.2.1 镜检

###### 5.4.4.2.1.1 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。

###### 5.4.4.2.1.2 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。

###### 5.4.4.2.1.3 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。

###### 5.4.4.2.1.4 判断

根据观察结果，判断是否染菌，做出检测报告。

##### 5.4.4.2.2 取样接种

取少量桑黄菌液，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 3 桑黄液体菌种生理指标

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≥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

## 6 贮藏

桑黄液体菌种生产后应立即使用，如不能立即使用应进行贮藏。贮藏条件：在发酵罐内注入无菌空气，保持罐压 0.01 Mpa~0.03 Mpa，料温 4 °C~10 °C可保 3d，11 °C~15 °C可保存 2d。

## 7 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。

---