

ICS

DB21

辽宁省地方标准

DBXX/XXXX—XXXX

液体菌种生产技术规程 第7部分：羊肚菌

Technical regulation for the preparation of liquid spawn
Part:honeycomb morel

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口管理。

本文件起草单位：铁岭县茂森食用菌培育中心 辽宁省农业科学研究院食用菌研究所
抚顺市农业综合行政执法队 辽东学院

本文件主要起草人：代勇 李娟 高静 赵哲 李来晶 解桂华 陈静 郭龙祥 李跃 史明文 罗秋曼 代岩

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（沈阳市和平区太原北街2号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：铁岭县茂森食用菌培育中心（铁岭市铁岭县熊官屯镇上峪村），联系电话：15842335937。

目次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	3
4 生产基本要求	4
5 生产技术	5
6 液体菌种质量标准	6
7 贮藏	7
8 记录与存档	8

液体菌种生产技术规程 第 7 部分：羊肚菌

1. 范围

本标准规定了羊肚菌液体菌种生产基本要求、生产技术、工艺流程、液体菌种质量指标、贮藏、记录及生产档案等技术要求。

本标准适用于羊肚菌液体菌种生产。

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 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 50073 洁净厂房设计规范

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 1846 食用菌菌种检验规程

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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4. 生产基本要求

4.1 工作人员

具有食用菌菌种生产能力的专业技术人员和检验人员。

4.2 场地

生产场所应符合NY/T 528的规定。环境卫生应符合NY/T 1731的规定。

4.3 厂房

厂房设计应符合NY/T 528的规定。

4.4 生产设施与设备要求

设备与设施应符合NY/T 528 的规定。液体种发酵罐质量应符合GB 150.1的规定。

4.5 培养原料

培养基原料应符合NY/T 528 的规定。生产用水标准应符合GB 5749要求。

4.6 生产品种

选用高产、优质、抗逆性强、商品性好的羊肚菌品种，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。

5 生产技术

马铃薯 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L, 蛋白胨 4 g/L, 磷酸二氢钾 3 g/L, 硫酸镁 1.5 g/L, pH 自然。

5.4.3 投料与定容

将原料、水按比例搅拌均匀, 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。

5.4.4 发酵罐实消

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

5.4.5 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 0 MPa, 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 0.02~0.04 MPa 时向罐内通入无菌空气, 调整排气阀, 维持罐压 0.04~0.05 MPa, 培养液温度降至 25 °C 以下时, 关闭夹套进水阀。

5.4.6 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。

5.4.7 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 0.01~0.02 MPa, 培养温度控制在 20~22 °C, 培养 4~6 d。

5.4.8 检测

发酵后第 4 d 开始定期检测, 采用显微镜和感官观察菌丝生长状况以及有无杂菌污染。

6 液体菌种质量标准

6.1 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 羊肚菌液体菌种感官要求

项目	感官指标
菌液色泽	菌液澄清, 呈淡黄色, 菌丝球呈白色
菌液形态	菌液粘稠不分层, 菌丝体分布均匀。
菌液气味	有羊肚菌液体培养时特有的香气, 无异味, 摇瓶气味正常, 发酵罐排气口气味正常

6.2 理化指标

应符合表 2 的规定。

表 2 羊肚菌液体菌种理化指标

项目	理化指标
pH 值	4.5~5.5
菌丝湿重 (mg/mL)	≥50
菌丝球直径 (cm)	<0.45
显微镜下菌丝形态	菌丝着色深, 均匀、粗壮、分支呈树枝状
杂菌鉴别	无霉菌、酵母和细菌菌体

6.3 液体菌种检测

6.3.1 形态学观察

通过肉眼观察菌丝球形态，通过显微镜观察菌丝体形态。

6.3.2 霉菌检验

按照无菌操作从取样阀取少量培养液，接种于GB 4789.28中规定的PDA培养基中，25~30℃恒温培养48~72 h，采用显微镜和感官观察菌丝生长状况和有无霉菌污染，必要时进行水封片镜检。

6.3.3 细菌检验

按照无菌操作从取样阀取少量培养液，接种于GB 4789.28中规定的营养肉汤培养液中，30~35℃恒温培养24~48 h，观察是否有细菌污染，必要时进行镜检和划线培养检验。

6.3.4 pH测定

用pH计测定菌液酸碱度。

6.3.5 菌丝湿重测定

称取一定体积的培养液，经10000 r/min离心5 min，称重。

6.3.6 菌丝球直径

随机吸取1mL培养液，将其中的菌丝球排列成直线，查出菌球数量，用刻度尺测其总长度，计算每个菌丝球的平均直径。

7 贮存

7.1 标签

生产的菌种必须贴有质量合格标签，其内容包含菌种种类、级别、品种、生产单位、接种日期。

7.2 贮存条件

7.2.1 母种保存

母种在0~4℃条件下贮存，贮存期不超过60d。

7.2.2 摇瓶菌种保存

摇瓶菌种如不能立即使用，需降温保存。4℃、暗光条件下可保存5~7 d。

7.2.3 发酵罐液体菌种保存

发酵罐液体菌种，若不能立即使用时，需降温保压处理。在培养器内通入无菌空气，保持罐压0.02~0.04 MPa，液温6~10℃可保存3 d，11~15℃可保存2 d。

8 记录与存档

发酵罐液体菌种生产的每个环节都要有详实的生产记录，由具体操作人员现场记录填写，定期由技术主管审核，签字后归档保存，档案应保存3年以上。