

团 体 标 准

T/FSSJ SYNY001—2020
代替 T/FSSJ SYNY001-2017

黑木耳液体菌种生产技术规程

Production Technical Practice for Liquid Spawn of Auricularia auricula

2020 - 01 - 20 发布

2020 - 01 - 20 实施

辽宁省食用菌协会

发 布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由辽宁省食用菌协会提出。

本标准由辽宁省食用菌协会归口。

本标准起草单位：辽宁三友农业生物科技有限公司、辽宁省微生物科学研究院、辽宁省食用菌协会。

本标准主要起草人：邹存兵、赵铠、朱巍巍、张忠伟、陈飞、黄云松、李莹莹、孙凯、刘东旭、刘芳岑、盛金、王俊超。

黑木耳液体菌种生产操作规程

1 范围

本标准规定了黑木耳液体菌种生产的基本要求，主要包括生产场地、厂房和布局、设施设备、生产工艺流程、质量要求、技术要求、生产记录与存档、菌种贮藏。

本标准适用于黑木耳液体菌种的生产。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 19169 黑木耳菌种

GB/T 12728 食用菌术语

GB/T 150.4 压力容器 第4部分：制造、检验和验收

NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

NY/T 1731 食用菌菌种良好作业规范

NY/T 528 食用菌菌种生产操作规程

NY/T 1846 食用菌菌种检验规程

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

进行发酵培养的专用设备，也称发酵反应器。

3.2

罐压 pressure of fermentation bioreactor

指液体菌种培养过程中培养器内保持的空气压力，单位：Mpa。

3.3

通风量 ventilation volume

液体菌种培养时每分钟通入培养基中的无菌空气的量。用V/V（培养基体积/通入空气体积）标示。

3.4

接种量 inoculation quantity

接入培养器中的菌种的数量，以菌种体积与培养基体积的百分比标示。

3.5

摇瓶液体种 flask culture

装在玻璃三角瓶内于摇床上恒温振荡培养的液体菌种。

3.6

初始pH值 initial pH

液体培养基配制灭菌后未接种时的pH值。

4 人员

应有与液体菌种生产所需的专业技术人员，包括检验人员。

5 场地和设施

5.1 生产场地、厂房和布局

通风良好，交通便利。周围无工矿企业污染源、生活垃圾堆放和填埋场、工业固体废弃物和危险废弃物堆放和填埋场等。

布局符合符合NY/T 528 规定。

5.2 生产设施与设备

根据生产需求进行配备，使用符合NY/T 1731设备管理规定。压力容器应符合GB/T 150.4规定并经政府有关部门检验合格。

6 生产工艺流程

母种→摇瓶液体种
↓
培养料配制→投料→灭菌→冷却→接种→培养→发酵罐液体种

7 培养基

母种培养基使用附录A中A.1规定的马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）或A.2规定的综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基（CPDA）。

液体种培养基根据黑木耳品种及当地原料的要求使用适宜配方（见附录B），严格掌握初始pH。

8 母种

母种继代培养后须按NY/T 1846 规定抽样，并进行感官检验和菌丝微观特征检验，合格菌种进入生产流程。母种质量要求符合GB 19169及NY/T 1742 关于母种质量的规定。

9 摇瓶液体菌种生产

9.1 培养基分装及灭菌

摇瓶液体种培养基装量为容器体积的1/4至1/3,分装后立即灭菌。按常规高压蒸汽灭菌锅操作规程,0.1Mpa~0.12Mpa(121℃~126℃),维持25min。

灭菌后的摇瓶液体种培养基于30℃±1℃ 培养箱恒温培养48小时后,观察确认无混浊、无异味,可用于接种培养。

9.2 接种

按无菌操作规程,将母种斜面菌丝体切割成2mm~4mm颗粒,移入摇瓶培养基中,每100 mL液体培养基接种菌丝体颗粒1颗~3颗。

9.3 培养

菌种培养温度26℃±1℃,空气相对湿度55%~65%,避光振荡培养。往复式摇床振荡频率60次~120次/分, 旋转式摇床振荡频率150转~180转/分。每日检查生长状态,及时检出浑浊、异味、泡沫异常的不合格菌种。

摇瓶静置1分钟后,菌丝球体积占比液体培养基体积的4/5以上,可结束培养。

10 发酵罐液体菌种生产

10.1 空气过滤系统检查

使用前要拆分检查滤芯,要求无油污、料污、无破损,外壳内外壁要求无污物、光亮洁净。滤芯在额定风量下,对粒径0.1~0.2 μm粒子的过滤效率大于99.99%,空气阻力低于280pa。

10.2 发酵罐检查与清洗

检查罐上全部阀门、安全阀、压力表、要求完好,工作正常。对罐体内、外和全部阀门用流水进行冲洗,达到无死角、内壁无任何培养料残余物的洁净程度。

10.3 空消灭菌

发酵罐初次使用、出现染菌、长期放置及更换品种时,应进行空消灭菌。有内置电加热棒的培养器加水至容积的80%加热至121℃,维持40min。用外源蒸汽灭菌的培养器,蒸汽压力达到0.1Mpa~0.12Mpa(121℃~124℃),维持40min。

10.4 投料定容

将配制好的培养基材料搅拌均匀,倒入或用泵抽入发酵罐中,加水定容至所需体积。培养基投料总量为罐体总容积的70%~80%。

10.5 灭菌和冷却

按高压蒸汽灭菌方法操作,培养器内压力达到0.1Mpa~0.12Mpa,培养基温度达到121℃~124℃、保持时间60 min~90 min。

灭菌结束将培养基降温至24℃~28℃。降温过程中要及时向培养器内补充过滤空气,防止罐压回零。

10.6 接种

利用火焰保护接种,接种量为罐内培养基总量的0.1%~0.5%。

10.7 培养

发酵罐通风量每分钟1: 0.5~1.2 V/V(料液体积/空气体积), 调节罐压保持在0.02 Mpa~0.04 Mpa, 培养温度调节在24℃~26℃, 培养7d~10d可达到香菇液体菌种成品标准。特殊品种根据特殊需求具体设定。

10.8 检测和判定

培养开始3d后每日从发酵罐中取出样品进行检测。按照NY/T 1846 中菌丝微观特征、细菌霉菌检验方法检验, 如异常则排空罐内培养物, 空消, 重新生产。

发酵终 pH 4.5-5.5, 每100ml液体菌种菌丝干离心后重量2.0~2.8g/100ml。合格黑木耳液体菌种球状菌丝体呈白色, 滤液呈淡黄色。菌液稍粘稠, 有大量球状菌丝体悬浮、分布均匀、菌球浓白清晰, 有黑木耳液体菌种培养时特有的香气, 无异味。

10.9 贮藏

成品液体菌种应及时应用。

特殊情况下, 培养结束后在发酵罐内通入无菌空气, 保持罐压0.02Mpa~0.04Mpa, 环境温度6℃~10℃, 可保存24h。

11 记录与存档

灭菌、培养、检测环节应有记录, 由具体操作人员现场填写, 定期审核, 签字后归档保存。

12 标签、包装、运输、贮存

符合NY/T528关于标签标志、包装运输、贮存条件的要求。

附 录 A
(规范性附录)
母种常用培养基及配方

A.1 PDA培养基（马铃薯葡萄糖琼脂培养基）

马铃薯200g（用浸出汁），葡萄糖20g，琼脂20g，水1000 ML，pH6.5~7.0。

A.2 CPDA培养基（综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基）

马铃薯200g（用浸出汁），葡萄糖20g，磷酸二氢钾2g，硫酸镁0.5g，VB1 100mg，水1000 ML，pH6.5~7.0。

附 录 B
(规范性附录)
黑木耳液体种常用培养基及配方

B.1 马铃薯葡萄糖培养基

马铃薯全粉400g (100目), 葡萄糖2000g, 磷酸二氢钾100g, 硫酸镁50g, 水100L, pH6.5~7.0。

B.2 蔗糖豆粕培养基

蔗糖1200g, 葡萄糖800g, 豆粕粉350g, 磷酸二氢钾70g, 硫酸镁70g, 水100L, pH6.5~7.0。
