

江 苏 省 地 方 标 准

DB32/T 1118—2007

人工蛹虫草子实体生产操作规程

The operational regulations of Cultured *C. militaris* fruitbody

2007-10-26 发布

2007-12-26 实施

江苏省质量技术监督局 发布

前 言

蛹虫草俗称北冬虫夏草，人工蛹虫草子实体是野生冬虫夏草的理想替代品，为了规范我省蛹虫草子实体的生产及加工，保障广大生产户的利益，也为了促进人工蛹虫草子实体的市场开拓和产业化进程，根据标准法规定特制定本标准。

本标准按 GB / T1.1-2000《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》和 GB / T1.2-2002《标准化工作导则 第2部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法》规定编写。

本标准由江苏省农业科学院农产品加工研究所提出。

本标准由江苏省农业科学院农产品加工研究所、江苏里下河地区农科所负责起草。

本标准主要起草人：蒋宁、刘红锦、张平、陈秀兰。

人工蛹虫草子实体生产技术规范

1 范围

本标准规定了人工蛹虫草子实体的产地环境、生产加工用水、生产技术要求、采收和加工及下脚料处理。

本标准适用于江苏地区采用玻璃广口瓶为培养容器的人工蛹虫草子实体的生产、加工。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准

GB 9688-88 食品包装用聚丙烯成型卫生标准

QB/T 3563-1999 500毫升罐头瓶

GB 4285—1989 农药安全使用标准

GB/T 8321（所有部分） 农药合理使用准则

NY/T528-2002 食用菌菌种生产技术规程

农业部令62号《食用菌菌种管理办法》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准

3.1

无菌操作 aseptic operation

食用菌菌种生产和栽培袋制作中,要求在接种前45min~50min用 30W紫外灯(或其它臭氧发生设备)对菌种瓶、栽培袋、接种箱(或接种室)、接种工具、工作服等进行表面杀菌,接种人员用75%的酒精消毒手臂后接种,确保整个接种过程无菌。

3.2

人工蛹虫草子实体 cultured *C. militaris* fruitbody

人工蛹虫草子实体指以禾谷类种子为主要培养料,经灭菌后在无菌条件下接入蛹虫草菌种,在一定条件下培育出来的蛹虫草子实体。

3.3

转色 changing colour

蛹虫草菌丝营养生长完成后,在一定光线条件下,颜色从白色转为橙黄色或橙红色。

4 技术要求

4.1 场地选择

4.1.1 基本要求

地势高,通风良好,排水畅通,交通便利,栽培室宜为平房。

4.1.2 环境卫生要求

至少500m之内无污染源(如大量扬尘的水泥厂,砖瓦厂、石灰厂、木材加工厂、农药厂和化工厂等)。

4.1.3 生产加工用水

应符合 GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准。

4.2 厂房设置和布局

4.2.1 建设内容和要求

应建有摊晒场、原料仓库、配料室、灭菌室、冷却间、接种室、发菌室、培养室、储藏室等，生产用房从结构和功能上满足食用菌生产的基本需要。

4.2.1.1 摊晒场

要求平坦高燥，通风良好，光照充足，远离火源、用水泥铺面。

4.2.1.2 原料仓库

要求平坦高燥，通风良好，防雨淋，远离火源。

4.2.1.3 配料室

要求水电方便，空间充足。如安排在室外，应有天棚，防雨防晒。

4.2.1.4 灭菌室

要求水电安全方便，通风良好，空间充足，散热排水良好。

4.2.1.5 冷却间

洁净、防尘、易散热。

4.2.1.6 接种室

设缓冲间，防尘换气性能良好。内壁和屋顶光滑，经常清洗和消毒。做到空气洁净。

4.2.1.7 发菌室和储藏室

内壁和屋顶光滑便于清洗和消毒，避免光照。加厚墙体，利于温控。

4.2.1.8 培养室

与内壁和屋顶光滑便于清洗和消毒，加装日光灯，增加光照。加厚墙体，利于温控

4.3 生产管理措施

4.3.1 菌种与管理

4.3.1.1 蛹虫草菌种应从具有相应技术资质的供种单位引种

4.3.1.2 蛹虫草菌种具有特殊性，可直接由母种制作栽培种

4.3.1.3 蛹虫草栽培种可采用固体菌种或液体菌种。

4.3.1.4 菌种的管理应符合《食用菌菌种管理办法》的要求。

4.3.2 菌种生产

以下化学试剂都为化学纯。

4.3.2.1 固体菌种

4.3.2.1.1 固体菌种配方

一般使用附录A中第A.1章规定的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)或第A.2章规定的综合马铃薯葡萄糖琼脂培养基(CPDA)，也可根据需要添加特殊物质，如酵母粉，蛋白胨，麦芽汁等。

4.3.2.1.2 固体菌种容器

使用玻璃试管和棉塞，试管18mmx180mm或20mmx200mm，棉塞使用梳棉，不应使用脱脂棉。

4.3.2.2 液体菌种

4.3.2.2.1 液体菌种配方

宜采用以下配方：葡萄糖20g，蛋白胨10g，磷酸二氢钾0.04g，硫酸镁0.04g，，维生素B₁200mg，水1000mL。也可根据需要添加特殊物质，如奶粉、鸡蛋清、柠檬酸三氨、麦芽汁、酵母粉10g、可溶性淀粉等。

4.3.2.2.2 液体菌种容器

根据生产量的需要选用合适容量的耐高温玻璃容器，宜选玻璃菌种瓶或医用盐水瓶。

4.3.2.3 菌种制作

4.3.2.3.1 固体菌种

按NY/T 528-2002 食用菌菌种生产技术规程执行。

4.3.2.3.2 液体菌种

4.3.2.4 根据第3章 3.3.2.2.1 项配方要求制作培养液，装入容器（可装至容器容积的1/5~1/3），用橡皮塞或棉花塞封口，高压灭菌保持40min，灭菌后自然冷却至25℃以下。

4.3.2.5 接种、培养

按NY/T 528-2002 食用菌菌种生产技术规程执行，固体菌种培养20d~22d，液体菌种培养6d~10d。

4.3.3 培养基质制作

4.3.3.1 培养基质配方

人工蛹虫栽培基质主料为大米、小米、小麦、大麦等禾谷类原料和蚕蛹粉、并添加葡萄糖或白糖、无机盐（磷酸二氢钾、硫酸镁）、维生素b1，也可根据需要添加特殊物质，如柠檬酸三氨、酵母粉、奶粉、鸡蛋清、蛋白胨、豆粕、豆粉、玉米粉等，但应控制培养料碳氮比为4~5/1。宜采用以下配方：

- a) 大米68%，蚕蛹粉26%，白糖（葡萄糖）5%，蛋白胨1%，维生素b1微量（1000mL水加2mg~3mg）
- b) 大米93%，白糖（葡萄糖）2%，蛋白胨（鸡蛋清）2%，蚕蛹粉2.5%，柠檬酸三氨0.2%，硫酸镁0.2%，磷酸二氢钾0.1%，维生素b1微量（1000mL水加2mg~3mg）
- c) 小麦85%，白糖（葡萄糖）2%，蛋白胨2%，蚕蛹粉10%，柠檬酸三氨0.2%，硫酸镁0.1%，磷酸二氢钾0.1%，酵母粉0.8%，维生素b1微量（1000mL水加2mg~3mg），
- d) 小麦95%，白糖（葡萄糖）2%，蛋白胨0.5%，蚕蛹粉2%，硫酸镁0.4%，磷酸二氢钾0.1%，维生素b1微量（1000mL水加2mg~3mg）

注：大米、小米、小麦、大麦等禾谷类原料和蚕蛹粉应无异味，无霉变现象，无有毒有害杂质；蚕蛹粉必须选择缢丝后及时清洗的蚕蛹，晾干外表水分后，立即在60℃低温下烘干，并在粉碎前经过人工粒选，剔除颜色变深发黑的劣质蛹。蛹粉必须在低温下密闭、干燥保存，以防止生虫和霉变。

4.3.3.2 培养容器

4.3.3.2.1.1 生产上可采用500mL玻璃罐头瓶，符合QB/T 3563-1999 500毫升罐头瓶规定。

4.3.3.2.1.2 或选择其他规格玻璃广口瓶，但应满足下列条件：应洁净、透明，不允许有明显且影响使用的不透明砂粒、气泡及炸裂纹；能耐一定温度差及耐稀释酸侵蚀，瓶口平面平行，在封合面上不允许有影响密封性能的疵点；瓶体厚薄均匀；同一种类者，其颜色必须一致。

4.3.3.3 拌料、装瓶

上述培养配料方任选一种或根据需要自行配制，按料水比1:1.3~1.5加入适量符合GB 5749标准要求的洁净水。拌料要均匀，pH自然。配制完成的培养料分装入符合第3章3.3.3.2项要求的培养容器中，每瓶装干料30~35g，用高压聚丙烯膜（符合GB 9688 食品包装用聚丙烯成型卫生标准规定）或牛皮纸封口。用硅胶橡皮圈扎口。

4.3.3.4 灭菌

培养料配制分装后应在2h~4h内灭菌。常压灭菌温度达100℃，保持10h~12h；高压灭菌0.12MPa~1.5h。

4.3.3.5 冷却

冷却室使用前要进行清洁和除尘处理。地面铺消毒过的塑料膜，空间用臭氧发生器消毒或化学药品消毒。化学药品消毒按附录C表C.1要求执行。将灭菌后的培养瓶移入冷却至适宜温度。

4.3.4 接种

4.3.4.1 接种室（箱）的基本处理程序

清洁 → 移入接种物和被接种物 → 接种室（箱）的消毒处理。

4.3.4.2 无菌接种

培养瓶表面灭菌后按无菌操作接种，接完种仍然需封好瓶口。

4.3.5 发菌

4.3.5.1 发菌室使用前要进行清洁和消毒处理，空间用臭氧发生器消毒或化学药品消毒，床架和地面用新洁尔灭溶液处理。

4.3.5.2 接种后的培养基瓶移入培养室中，堆放整齐，瓶间留 1cm 左右间隙，以利散热。

4.3.5.3 避光发菌，温度控制在 20℃~23℃。湿度控制 60%左右。发菌阶段菌丝需氧量教少，无需通风，如果采用炉火加温，则需要把煤气用烟道排出房间。

4.3.5.4 一般 15~20 天后菌丝长满料面，根扎到瓶底，表面气生菌有现倒伏现象，并出现小突起，即可移入培养室培养。

4.3.6 培养室管理

4.3.6.1 菌丝转色管理

4.3.6.1.1.1 培养基瓶入培养室后，保持温度在 20℃~21℃。

4.3.6.1.1.2 增加光照时间，每天不少于 10h，光照度 200 lx~100lx。

4.3.6.1.1.3 转色 2d~8d 后，培养料面即形成菌蕾。

4.3.6.2 菌蕾管理

温度保持在 23℃；湿度加大到 80%~85%。

4.3.6.3 子实体生长管理

4.3.6.3.1 设施要求

4.3.6.3.1.1 培养架材料可用水泥，金属、竹、木等材料制作，要求结实坚固，易于清洗消毒。

4.3.6.3.1.2 床架可多层，层与层间距为 50cm~70cm，保证有散射光照到床面。

4.3.6.3.1.3 床架层间或床间可加装日光灯。

4.3.6.3.2 温度要求

温度控制在 20℃~25℃，最佳为 20℃~23℃，不得超过 25℃。

4.3.6.3.3 光照要求

子实体生长阶段不能日光灯连续照射，应有间隔。同时要及时调整日光灯的方位，尽量保证子实体生长方向日光灯方位一致。

4.3.6.3.4 空气湿度要求

湿度控制在 85%左右。

4.3.6.3.5 氧气要求

氧气需要较少，在子实体长到约 2 厘米高时，用粗针在封口膜或纸上扎 3~5 个孔即可满足需要。

4.3.6.4 其他管理措施

4.3.6.4.1 若培养料面气生菌丝较浓密，菌蕾较少，可采用 10℃温差刺激或搔菌处理来促使菌蕾生长。

4.3.6.4.2 采收后每瓶加入清水或相应的营养液（以葡萄糖 5%为主），按第 4 章相关管理要求管理约 30d 后采收第二潮蛹虫草子实体。

4.3.6.4.3 生产过程中污染瓶需及时清理出培养室。

4.3.6.5 子实体采收

4.3.6.5.1 蛹虫草子实体从出现菌蕾后生长约 15d~20d，即可成熟，高度达 4cm~10cm 左右。子实体顶部表面出龟背纹，即可采收。

4.3.6.5.2 采收可用刀、剪，手摘等方法，注意保持子实体形状完整。

4.3.7 采收处理

子实体采收后应立即摊开，避光凉干 24h，5h、40~60 热风烘干，干制后包装，并在 0℃~5℃的干燥环境下保存。

5 病虫害防治

5.1 防治要求

农药的使用按照 GB 4285-1989 和 GB/T 8321（所有部分）的规定进行。

5.2 主要病虫害及防治方法

见附录 B.1 规定的方法。

6 下脚料处理

6.1 蛹虫草采收后，下脚料应及时进行处理，并清理培养室，远离培养区域，否则会成为病虫害污染源。

6.2 可直接作为农家肥，果园、苗圃等应用；或可堆制发酵腐烂后，作为有机营养土，在农作物、花木苗圃、蔬菜、盆景土、城市绿化用土等方面应用。

6.3 可用做家禽、畜的饲料添加剂。

6.4 可用于提取相关蛹虫草活性物质。

附 录 A
(规范性附录)

固体菌种常用培养基及其配方

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 1000mL, pH值自然。

A.2 CPDA(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, 琼脂20g, 磷酸二氢钾2g, 硫酸镁0.5g水1000mL, pH值自然。

附 录 B
(规范性附录)
主要病虫害及防治方法

B.1 主要病虫害及防治方法见表 B.1。

表 B.1 主要病虫害及防治方法

序号	主要病虫害	防治对象	防治方法	备注
1	绿霉、根霉、毛霉、 青霉、黄霉	冷却间、 接种室、 培养室	50%多菌灵 1000 倍液。 70%甲基托布津 600~800 倍液喷洒。 臭氧灭菌。 做好环境清洁工作，清理隔离污染物 加强通风通气	子实体、培 养基禁止 直接接 触 农药
		培养瓶	75%酒精处理， 10%石灰水处理， 严格控制灭菌工艺，培养料彻底杀菌， 防止菌种污染 被污染的菌种和培养要及时清理并埋土处理	
2	细菌	冷却间、 接种室、 培养室	1%的高锰酸钾喷洒。 臭氧灭菌，加强环境卫生 严格控制灭菌工艺，培养料彻底杀菌 被污染的菌种和培养要及时清理并埋土处理	
		培养瓶	75%酒精、0.05%金霉素或 0、2%漂白粉处理	
3	螨类 菇蚊、蝇 跳虫	全部生产场 所、培养瓶	螨害轻微发生时，用菜籽饼或糖醋液诱杀放 置，菌种室培养室远离仓库等地。 3W 的黑光灯定期诱杀成虫，选用优质培养基原 料，房间加装纱门、窗，子实体生长阶段可在 室内喷除虫菊等农药，搞好环境卫生。 搞好环境卫生，防止积水，严重时室内可喷 0.1 %鱼藤精或 0.5%除虫菊。	
4	蛞蝓	全部生产场所	人工捕捉或撒石灰、食盐驱杀。	

附 录 C
(规范性附录)

蛹虫草子实体生产中可选用的化学消毒剂

C.1 蛹虫草子实体生产中可选用的化学消毒剂见表 C.1。

表 C.1 蛹虫草子实体生产中可选用的化学消毒剂

名 称	使 用 浓 度 及 方 式	施 用 对 象
乙醇	75%，浸泡或涂擦	手、接种工具、接种操作台面、菌种瓶表面等
甲醛	0.4%，浸泡或涂擦	接种工具、接种操作台、菌种瓶表面等
	(37~40) %，20mL/m ³ ，加热熏蒸	培养室、无菌室、接种箱
高锰酸钾/甲醛	(高锰酸钾 5g+市售甲醛 10mL)/m ³ 熏蒸	培养室、无菌室、接种箱
高锰酸钾	(0.1~0.2) %，涂擦	接种工具、接种操作台、菌种瓶表面等
酚皂液 (来苏儿)	(0.5~2) %，涂擦	无菌室、接种箱、栽培房、床架
	(0.5~2) %，喷雾	皮肤
	3%，浸泡	接种工具
新洁尔灭	(0.25~0.5) %，浸泡、喷雾	皮肤（不能用于器具、培养室、无菌室、接种箱）
漂 白 粉	10%，现用现配，浸泡	接种工具、菌种瓶表面等
	1%，现用现配，喷雾	栽培房、床架
硫酸铜/石灰	硫酸铜 1g+石灰 1g+水 100g，现用现配，喷雾， 涂擦	栽培房、床架、环境