

DB42

湖北省地方标准

DB42/T 192.1—2024

香菇生产技术规程 第1部分：液体菌种

Code of practice for cultivation of *Lentinula edodes*—
Part 1: Liquid spawn

地方标准信息服务平台

2024-07-29 发布

2024-09-29 实施

湖北省市场监督管理局 发布

目 次

前言 III

引言 V

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 生产条件 2

5 生产工艺流程 2

6 发酵罐液体菌种（二级液体栽培种）生产技术 4

7 发酵罐液体菌种（三级液体栽培种）生产技术 5

8 取样检测与质量要求 7

9 使用方法 7

10 标签与贮存 8

11 生产档案 8

附录 A（资料性） 香菇液体菌种培养基配方 9

附录 B（资料性） 香菇液体菌种生产记录事项 10

参考文献 11

地方标准信息服务平台

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。

本文件是DB42/T 192《香菇生产技术规程》的第1部分。DB42/T 192已经发布了以下部分：

——第1部分：液体菌种；

——第2部分：代料香菇秋栽与贮藏运输。

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。

本文件由宜昌市农业科学研究院提出。

本文件由湖北省农业农村厅归口。

本文件起草单位：宜昌市农业科学研究院、华中农业大学、三峡大学、湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所、湖北森源生态科技股份有限公司、宜昌银罡桑蚕科技股份有限公司。

本文件主要起草人：胡光灿、冯德品、朱红、刘世玲、申露露、夏辉、周刚、李克彬、杨青、边银丙、沈祥陵、周伟、高新章、焦海涛、史德芳、闵维清、肖成。

本文件实施应用中的疑问，可咨询湖北省农业农村厅，联系电话：027-87665821，邮箱：hbsnab@126.com；对本文件的有关修改意见建议请反馈至宜昌市农业科学研究院，联系电话：0717-6671431，邮箱：lling.s@163.com。

地方标准信息服务平台

引 言

香菇是我国传统的食用菌人工栽培品种，栽培历史悠久，市场需求巨大。香菇产业作为见效快、收益高，绿色环保可循环的富民产业也得到了各级政府和广大农民的青睐，香菇种植效益显著高于普通粮油作物，大力发展香菇产业是促进农业增效、农民增收的有力举措，是实现乡村振兴的有效途径。我省随州、宜昌、十堰等地香菇栽培量大、产量高，取得了非常好的经济效益和社会效益。制定本文件的目的是，构建香菇栽培管理全过程标准体系，实现香菇标准化生产。本文件不同部分的划分和技术规程的确立，重点为香菇整个生产过程中不同生产环节的技术要求，亦便于本文件各部分单独使用。DB42/T 192拟由以下部分构成。

- 第1部分：液体菌种。目的在于规范香菇液体菌种生产技术。
- 第2部分：代料香菇秋栽与贮藏运输。目的在于规范代料香菇秋栽及贮藏运输技术。

地方标准信息服务平台

香菇生产技术规程

第1部分：液体菌种

1 范围

本文件规定了香菇（*Lentinula edodes*）液体菌种的生产条件、生产工艺流程、生产技术、留样检测与质量要求和使用方法、标签与贮存以及生产档案等。

本文件适用于湖北省香菇液体菌种的生产。

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 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 19170 香菇菌种
- 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 1284 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验
- NY/T 1742 食用菌菌种通用技术要求

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 spawn

生长在液体培养基里的菌种。

[来源：GB/T 12728-2006, 2.5.30]

3.2

摇瓶液体菌种 liquid spawn in shake flask

由母种接种到锥形瓶液体培养基中在摇床上振荡扩大培养而成的菌丝体纯培养物。

3.3

发酵罐液体菌种（二级液体栽培种） liquid spawn in fermentation tank (secondary liquid spawn)

由母种接种到发酵罐液体培养基中扩大培养而成的菌丝体纯培养物。

3.4

发酵罐液体菌种（三级液体栽培种） liquid spawn in fermentation tank (tertiary liquid spawn)

由发酵罐液体菌种（二级液体栽培种）接种到发酵罐中扩大培养而成的菌丝体纯培养物。

4 生产条件

4.1 人员条件

按照《湖北省食用菌菌种管理办法》的规定配备液体菌种生产的专业技术人员，熟悉液体菌种生产和设备设施的操作。

4.2 场地条件

场地选择应符合NY/T 528的要求。

4.3 厂房要求

厂房设置与布局符合NY/T 528要求。生产车间应按照GB 50073执行，培养基配制室、摇瓶液体菌种培养室、液体菌种生产车间规模配套，培养基配制室保持干净整洁，并且和摇瓶液体菌种培养室以及液体菌种发酵车间分隔开。

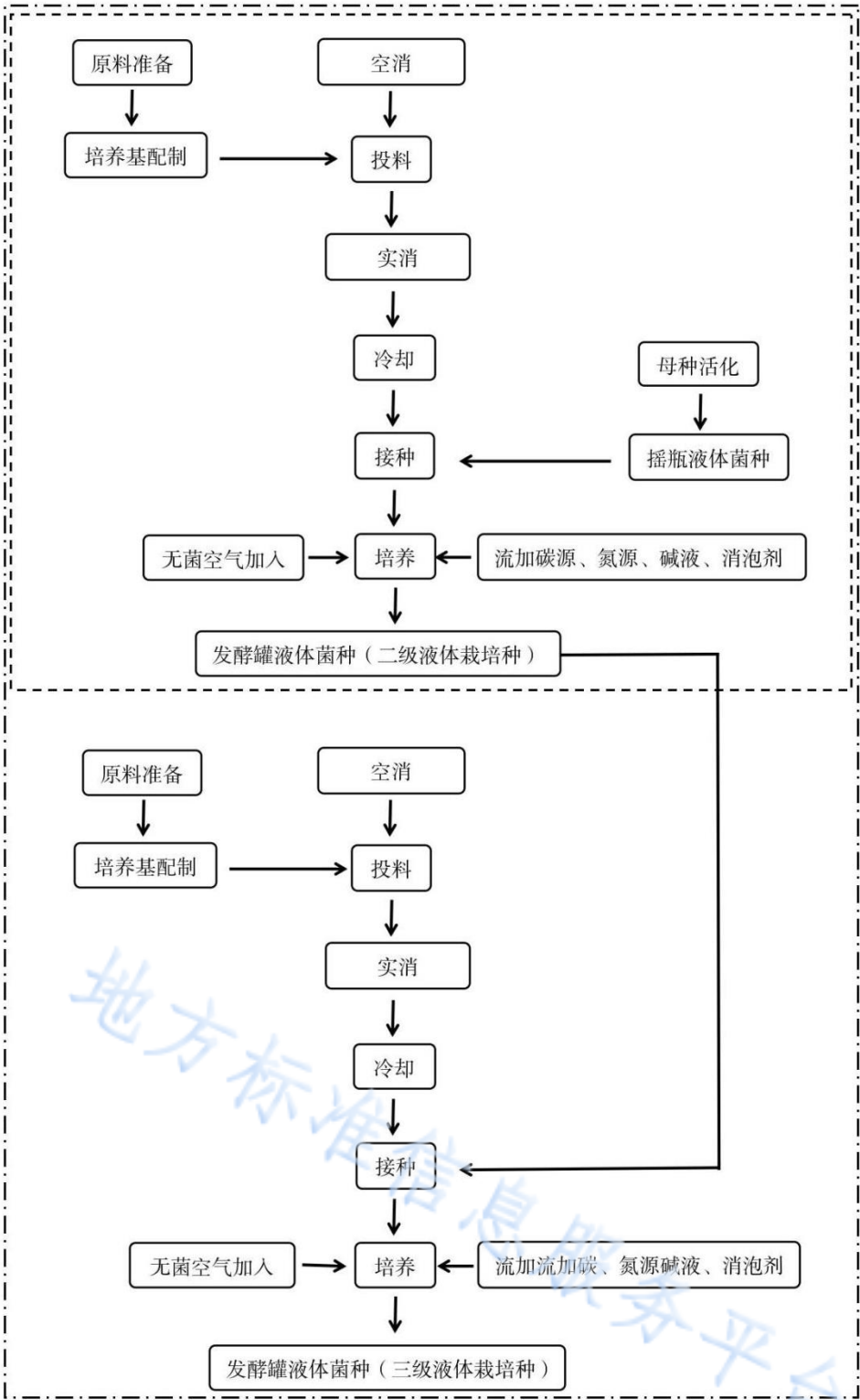
4.4 生产设备与设施

设备与设施符合NY/T 528要求，公用工程系统有水处理系统、循环水系统、蒸汽系统、冰水系统、无菌压缩空气系统和应急电源。高压蒸汽灭菌锅、蒸汽锅炉等压力容器应经政府有关部门检验合格，符合监管部门要求。

5 生产工艺流程

流程见图1。

地方标准信息服务平台



注1：[] 发酵罐液体菌种（二级液体栽培种）生产

注2：[] 发酵罐液体菌种（三级液体栽培种）生产

图1 香菇液体栽培种生产工艺流程

6 发酵罐液体菌种（二级液体栽培种）生产技术

6.1 品种选择

使用经本地3年以上多点试验，适合液体发酵、传代稳定、品质优、抗逆性强、产量高的香菇品种。菌种质量应符合GB 19170和NY/T 1742规定的要求。

6.2 制备母种

符合NY/T 528要求。

6.3 摇瓶液体菌种生产

6.3.1 容器标准

采用1000 mL~2000 mL的锥形瓶，锥形瓶应保持清洁、干燥。

6.3.2 装液量

按照锥形瓶容积的40%装量系数装液，用带有透气功能的封口膜封口。

6.3.3 摇瓶液体菌种培养基配方

见附录A中培养基配方A.1。

6.3.4 灭菌

高压蒸汽灭菌，在121℃，0.11 MPa~0.12 MPa的压力下，维持30 min。

6.3.5 接种

将灭菌后装有培养基的锥形瓶冷却至25℃以下进行接种，拿出已活化好的平板母种，在无菌环境下打孔接种，每瓶接入直径0.5 cm的菌块3块~5块。

6.3.6 培养

将接种后的锥形瓶放到摇床上进行避光振荡培养，保持温度23℃~25℃，转速150 r/min~170 r/min，培养6 d~8 d。

6.4 发酵罐液体菌种（二级液体栽培种）生产

6.4.1 生产前的检查及清洗

检查生产线上全部阀门、安全阀、压力表，要求完好，工作正常。对所有罐体、管道和阀门用清洁的流水进行清洗，达到无死角、内壁无培养料等残余物。

6.4.2 生产线空消

生产线在初次使用、长期未使用、上一次发酵生产出现染菌或者更换生产品种时，应清洗干净并进行空消灭菌。将蒸汽通入生产线所有设备和管道，对发酵罐以及各路阀门、管道及相关附件进行彻底灭菌，蒸汽压力为0.1 MPa~0.15 MPa、温度121℃~124℃、灭菌30 min~40 min。

6.4.3 液体菌种培养基配制

具体配方根据原料来源和营养需求,使用适宜的配方,用水应符合GB 5749要求。常用的配方见附录A.2。在配料罐中将培养基按配方用水混合好,混合好的培养基体积小于发酵罐装量系数体积。

6.4.4 投料与定容

配制好的培养基通过管道和离心泵投入发酵罐,用水定容至发酵罐罐体容量的70%,加入0.03%消泡剂,通入压缩空气搅拌2 min~3 min,混合均匀。

6.4.5 发酵罐实消

通入蒸汽将发酵罐及投入的培养基进行灭菌,保持罐内温度121℃,维持60 min。

6.4.6 冷却

灭菌结束后,通过发酵冷却系统,使罐内培养基降温至24℃~26℃。保持压力平稳,防止罐压回零。

6.4.7 接种

发酵罐接种口处放置百级层流罩,用带有手柄的接种火焰圈,蘸上95%的酒精,套在接种口上点燃火焰圈,在火焰上方打开摇瓶液体菌种瓶塞,用火焰灼烧瓶口30 s~40 s,打开发酵罐上的接种口盖,将摇瓶液体菌种快速倒入发酵罐中,迅速盖好并拧紧接种口,开始发酵生产。

6.4.8 碳源、氮源流加罐准备

将碳源流加罐和氮源流加罐以及附属的阀门管道等先空消灭菌,加入碳源(糖蜜原液)和氮源(8%的食品级氨水)后再实消灭菌,在发酵培养阶段根据自控系统调节使用。

6.4.9 碱液、消泡剂流加罐准备

将碱液罐和消泡剂罐以及附属的阀门管道等先空消灭菌,分别加入碱液(饱和碳酸钠溶液)和消泡剂(0.09%的聚氧乙烯聚氧丙烯季戊四醇醚)再实消灭菌,在液体菌种发酵培养阶段根据需求,通过自控系统调节使用。

6.4.10 培养条件

发酵罐温度保持在23℃~25℃;培养基初始pH 5,整个发酵过程设定为pH 4.5;发酵罐罐内压力保持在0.02 MPa~0.04 MPa;通过发酵罐的进气阀和排气阀将通风量调节至1:0.5 V/V~1:1.2 V/V(料液体积/空气体积)。

6.4.11 培养时间

培养时间为6 d~8 d。

6.4.12 放罐指标

经镜检和其他理化指标等方法检验质量合格,符合表1规定即可放罐接种。

7 发酵罐液体菌种(三级液体栽培种)生产技术

7.1 发酵罐选择

发酵罐液体菌种（三级液体栽培种）生产的发酵罐体积大小根据生产需求量进行选择，按照发酵罐装量体积8%~10%的接种量进行接种，合理配置二级液体栽培种生产发酵罐的体积和数量，根据接种量设置1个二级液体栽培种生产的发酵罐对1个~5个三级液体栽培种生产的发酵罐。

7.2 生产前的检查及清洗

按照本文件6.4.1的规定执行。

7.3 空消

按照本文件6.4.2的规定执行。

7.4 液体菌种培养基配方和配制

按照本文件6.4.3的规定执行。

7.5 投料与定容

按照本文件6.4.4的规定执行。

7.6 发酵罐实消

按照本文件6.4.5的规定执行。

7.7 冷却

按照本文件6.4.6的规定执行。

7.8 接种

打开三级液体栽培种生产发酵罐接种口阀门和二级发酵罐出料口阀门（这些发酵罐附属设施和两个发酵罐之间连接的管道在空消、实消时和接种前都应进行灭菌），将二级液体栽培种生产的液体菌种，利用无菌压缩空气的压力，通过管道输送到三级液体栽培种生产的发酵罐中，按照发酵罐培养基装量体积8%~10%的接种量进行接种，接种完毕，拧紧接种口的阀门，开始进行三级液体栽培种生产。

7.9 碳源、氮源流加罐准备

按照本文件6.4.8的规定执行。

7.10 碱液、消泡剂流加罐准备

按照本文件6.4.9的规定执行。

7.11 发酵罐液体菌种培养条件

发酵罐温度23℃~25℃；培养基pH 5，整个发酵过程pH 4.5~5；发酵罐罐内压力保持在0.02 MPa~0.04 MPa；通过发酵罐的进气阀和排气阀将通风量调节至1:0.5 V/V~1:1.2 V/V（料液体积/空气体积）。

7.12 液体菌种培养时间

培养时间为6 d~8 d。

7.13 放罐指标

经镜检和其他理化指标等方法检验质量合格，符合表1规定即可放罐。

8 取样检测与质量要求

8.1 取样

8.1.1 取样方法

对摇瓶液体菌种样品、培养器灭菌后的空白培养基样品、培养过程中定期取样，每种样品留样5瓶（个），每瓶（个）10 mL～20 mL，用作镜检和其它理化指标测定。上述样品4℃冰箱内保存一周以上。

发酵罐液体菌种从开始生产24 h后，每隔12 h从取样口取样进行以下项目检测。放罐之前取样留样备检。

8.1.2 杂菌检测

真菌检验。按照NY/T 1284的要求将少量培养液接种于PDA培养基中，置于28℃～30℃恒温培养48 h，采用显微镜和感官观察菌丝生长状况和有无杂菌污染；若出现香菇正常菌丝白色以外的杂色者，或有异味者为霉菌、酵母等杂菌污染物，必要时进行水封片镜检。

细菌检验。按照无菌操作将少量培养液接种于营养肉汤培养液中，置于28℃～30℃恒温培养24 h～48 h，观察培养液是否浑浊。培养液浑浊，为有细菌污染；培养液澄清，为无细菌污染。

8.1.3 菌丝湿重

采用定量滤纸，将搅拌均匀的液体菌液进行过滤，至无水滴滴下后，称其菌丝体重量，然后减去滤纸湿重。

8.2 液体菌种质量

质量要求指标应符合表1的规定。

表1 质量要求

项 目	要 求
菌液色泽	菌丝球或菌丝片段呈白色，菌液呈浅棕色
菌液形态	培养液澄清透明，菌丝球、菌丝片段均匀悬浮于液体中，不分层，直径小于 3.5 mm
菌液气味	有香菇菌种特有的气味，无酸、臭等异味
显微镜下 菌丝形态	可见香菇菌种液体培养中特有的菌丝形态，菌丝粗壮，分枝较少，无杂菌
pH（采用酸度计测定）	4.5～5.0
菌丝湿重（g/mL）	0.15～0.18
留样菌检	划痕处只有香菇菌丝生长而无霉菌、酵母和细菌等其它杂菌生长

9 使用方法

将灭菌冷却后待接种的料棒放置在输送带，输入至无菌接种区。在接种区用接种器将液体菌种注入料棒，每棒接种4个~6个接种点，每个接种点接种15 mL~20 mL。接种完毕后移至发菌室培养。

10 标签与贮存

10.1 标签

注明品种名称、菌种级别、生产日期和发酵罐序号。

10.2 贮存

10.2.1 摇瓶液体菌种保存方法

摇瓶液体菌种瓶口用牛皮纸包好，放在4℃的温度下可保存1 d~2 d。

10.2.2 发酵罐液体菌种保存方法

液体菌种即成即用，在室温15℃~18℃和持续通入无菌空气的条件下可保存1 d~2 d。

11 生产档案

详实记录母种、摇瓶液体菌种和发酵罐液体菌种生产的每个环节，记录内容按附录B执行。生产记录归档保存时限不少于两年。

地方标准信息服务平台

附 录 A
(资料性)
香菇液体菌种培养基配方

A.1 摇瓶菌种培养基配方

表A.1给出了摇瓶菌种培养基配方。生产用水应符合GB 5749要求，培养基质应符合NY/T 528要求，玉米粉使用前过20目筛。

表A.1 摇瓶菌种培养基配方

	蛋白胨	玉米粉	牛肉膏	葡萄糖	酵母膏	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄	VB ₁	水	pH
配方 1	5 g	—	—	20 g	3 g	3 g	1.5 g	5 mg	1 L	6.0~6.5
配方 2	—	20 g	4 g	20 g	5 g	2 g	1 g	5 mg	1 L	6.0~6.5

A.2 发酵罐液体菌种培养基配方

表A.2给出了发酵罐液体菌种培养基配方。

表A.2 发酵罐液体菌种培养基配方

	糖蜜	玉米粉	豆粕粉	黄豆粉	酵母浸粉	麸皮	VB ₁	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	消泡剂
配方 1	1%	2%	—	—	—	2%	0.1%	—	—	0.03%
配方 2	1%	0.3%	0.3%	—	0.1%	—	—	0.03%	0.05%	0.03%
配方 3	—	2.5%	—	1%	—	—	—	0.4%	—	0.03%

以上配方初始pH自然，生产用水应符合GB 5749要求，培养基质应符合NY/T 528要求，玉米粉使用前过20目筛。

附 录 B

(资料性)

香菇液体菌种生产记录事项

香菇液体菌种生产记录事项如下。

- a) 生产投入品使用情况 (包括液体菌种的制作培养基质、营养辅料、所用菌种、菌瓶) :
 - 1) 名称;
 - 2) 来源;
 - 3) 用法、用量。
- b) 菌种生产情况:
 - 1) 培养基制作;
 - 2) 高压灭菌;
 - 3) 接种;
 - 4) 培养。
- c) 接种栽培袋情况:
 - 1) 数量;
 - 2) 培养;
 - 3) 去向。

地方标准信息服务平台

参 考 文 献

- [1] GB/T 12728 食用菌术语
 - [2] 《湖北省食用菌菌种管理办法》
-

地方标准信息服务平台