

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4798—2025

香菇液体菌种生产技术规程

Technical code of practice for liquid spawn of Xianggu

2025-12-09 发布

中华人民共和国农业农村部

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。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：上海市农业科学院、上海国森生物科技有限公司、河南金海生物科技有限公司、延边德康生物技术有限公司、山东御苑生物技术有限公司、辽宁峪程菌业有限公司。

本文件主要起草人：周峰、李玉、谭琦、宋春艳、尚晓冬、董慧、于海龙、刘四海、李巧珍、李正鹏、董浩然、姜宁、郭倩、章炉军、陆欢、高霞、张丹、刘建雨、王瑞娟、张美彦、徐珍、杨慧。



香菇液体菌种生产技术规程

1 范围

本文件规定了香菇液体菌种生产的产地环境、生产设施与设备、工艺流程、生产技术、留样、储存和生产记录的要求。

本文件适用于香菇液体菌种生产。

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/T 150.1 压力容器 第1部分:通用要求

GB 3095 环境空气质量标准

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB/T 12728 食用菌术语

GB 19170 香菇菌种

GB 50073 洁净厂房设计规范

NY/T 119 饲料原料 小麦麸

NY/T 528 食用菌菌种生产规程

NY/T 1846 食用菌菌种检验规程

NY/T 3476 饲料原料 甘蔗糖蜜

HG/T 4028 有机硅高温消泡剂

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

母种 stock culture

经各种方法选育得到的具有结实性的菌丝体纯培养物及其继代培养物,也称一级种。

[来源:GB/T 12728—2006,2.5.7,有修改]

3.2

液体菌种 liquid spawn

培养基为液体状态的菌种。

[来源:GB/T 12728—2006,2.5.30]

3.3

摇瓶液体菌种 liquid spawn in shake-flask

由母种移植至摇瓶液体培养基中,在磁力搅拌器或摇床上扩大培养的液体菌种。

3.4

发酵罐液体菌种 liquid spawn in fermenter

由摇瓶液体菌种转接至发酵罐液体培养基中,通入无菌空气深层培养而成的液体菌种。

4 产地环境

4.1 环境要求

环境应干净整洁,周围无生活垃圾堆放或填埋场,无畜禽养殖场,无工业固体废弃物和危险废弃物堆放或填埋场等。环境应符合 GB 3095 中环境空气二类区质量要求及 NY/T 528 对产地环境的规定。

4.2 厂房设置和布局

厂房设置和布局应符合 NY/T 528 要求,应增设摇瓶液体菌种培养室、发酵罐液体菌种培养室。净化车间应符合 GB 50073 要求。

5 生产设施与设备

香菇液体菌种生产应有 NY/T 528 规定的相关设施设备,还应配备水处理设备、发酵罐、摇床或磁力搅拌器、蒸汽发生器、空气压缩机、压缩空气储气罐及空气过滤系统等。压力容器应使用经有资质部门生产与检验的安全合格产品,发酵罐应符合 GB/T 150.1 规定。空气过滤系统一般包括冷冻干燥机、吸附式干燥机、空气过滤器、恒温机等。应配备备用电源(发电机)。

6 工艺流程

工艺流程见图 1。

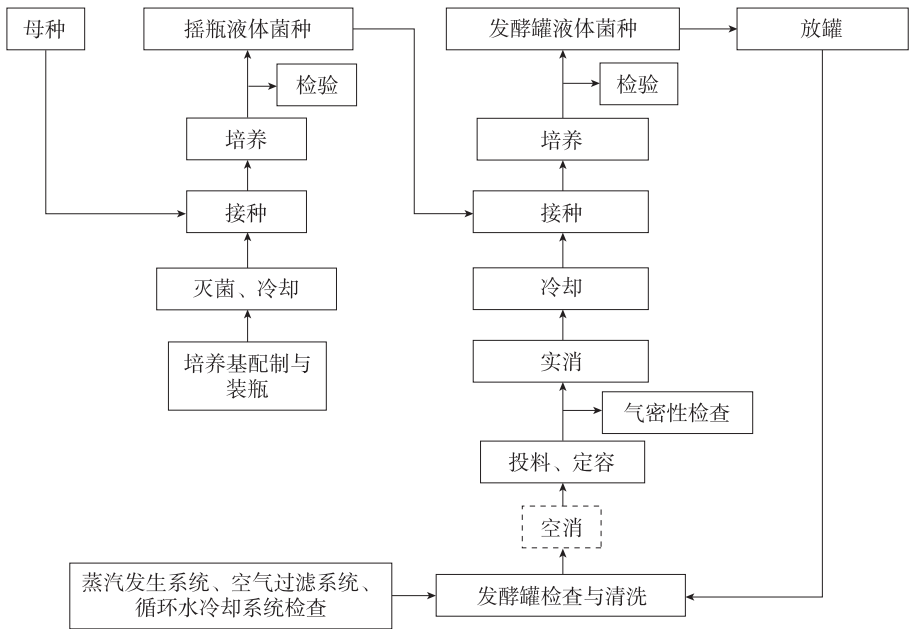


图 1 香菇液体菌种生产工艺流程

7 生产技术

7.1 培养基配方

母种培养基可采用附录 A 中 A.1 规定的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(以下简称“PDA 培养基”)。摇瓶液体菌种培养基可采用 A.2 给出的配方,发酵罐液体菌种可采用 A.3 给出的配方。糖蜜应符合 NY/T 3476 要求,麦麸应符合 NY/T 119 要求,消泡剂应符合 HG/T 4028 要求,生产用水应符合 GB 5749 要求,其他培养基质应符合 NY/T 528 要求。生物制剂和天然材料的水不溶性固体物料粉碎后应过孔径 0.125 mm~0.150 mm 的筛网。

7.2 母种生产

母种生产应符合 NY/T 528 要求,按 NY/T 1846 规定检验,母种质量应符合 GB 19170 要求。母种菌丝体纯白色,无异常色泽和形态;菌落形态均匀平整,边缘整齐,无角变;背面无色素或暗斑;无污染;显微镜观察菌丝有锁状联合。

7.3 摇瓶液体菌种生产

7.3.1 容器

宜选用 1 000 mL 三角瓶,用棉(梳棉)塞、硅胶塞、海绵塞或专用封口透气膜封口。

7.3.2 培养基配制与装瓶

按照 A.2 配方配制培养基,装液量为摇瓶容量的 40%~60%,加入 1 粒 3 cm~3.5 cm 的磁转子,封口后灭菌,灭菌时瓶口用报纸、硫酸纸或牛皮纸包扎防潮。

7.3.3 灭菌、冷却

灭菌温度 121 ℃,维持 30 min~40 min。灭菌结束将摇瓶放入超净工作台中冷却至 26 ℃以下备用。

7.3.4 接种

严格按无菌操作规程,接种直径 3 mm~5 mm 的母种块 20 块~24 块,挑取的母种块应距离接种点 2 cm~4 cm。

7.3.5 培养

将接种后的摇瓶置于磁力搅拌器上,1 000 r/min~1 200 r/min 打碎 1 h~2 h,然后置于摇床(转速 110 r/min~130 r/min)或磁力搅拌器(转速 400 r/min~800 r/min),23 ℃~26 ℃,避光培养 5 d~7 d。

7.3.6 菌种检验

每日观察菌液颜色、菌球形态,及时检出浑浊、泡沫异常的不合格菌种。

7.3.7 菌种质量标准

菌球及片段形态饱满、均匀,密集;静置 60 min~90 min,菌球体积占比不低于整个菌液的 85%;pH 3.0~5.0;菌丝湿重 0.1 g/mL~0.20 g/mL。取样无异味,镜检无杂菌,菌丝有锁状联合。检验方法按照附录 B 的规定执行。

7.4 发酵罐液体菌种生产

7.4.1 蒸汽发生系统、空气过滤系统和循环冷却水系统检查

生产前,检查蒸汽发生系统、空气过滤系统和循环冷却水系统等设施设备,确保工作正常。

7.4.2 发酵罐检查与清洗

发酵罐的阀门、安全阀、压力表应完好,气密性良好,工作正常。用流水将罐体内、外和全部阀门冲洗干净,无死角。

7.4.3 空消

在初次使用、出现杂菌、长期放置或更换品种时,发酵罐应进行空消。灭菌压力 0.11 MPa~0.13 MPa、温度 121 ℃~123 ℃、时间 30 min~60 min。空消结束,通气备用。

7.4.4 投料、定容

根据 A.3 配方,按照所需的发酵数量准确称取培养料,搅拌均匀后过孔径 0.3 mm~0.6 mm 筛网,加入罐体,加水定容至所需体积,加入 0.03%~0.05% 消泡剂,通气搅拌混合均匀,拧紧上料口盖。气密性检查良好方可进行灭菌。

7.4.5 实消

灭菌压力 0.11 MPa~0.13 MPa、温度 121 ℃~123 ℃、时间 50 min~60 min。灭菌时微开排气阀,保持蒸汽通畅。

7.4.6 冷却

灭菌结束后将培养液温度降至 23 ℃~26 ℃。降温过程中应及时向发酵罐内通入无菌空气,罐内始终维持正压状态,防止冷却过程中罐压回零倒吸导致污染。

7.4.7 接种

采用火焰接种法,按无菌操作规程,将摇瓶液体菌种接入发酵罐,接种量为培养液总量的 0.1%~0.5%(v/v)。

7.4.8 培养

根据菌丝生长情况,适时调节进气阀和排气阀,维持罐压 0.03 MPa~0.05 MPa,通气比 0.2 vvm~0.3 vvm,培养温度 23 ℃~26 ℃,时间 6 d~8 d。接种后每日检查菌液色泽、菌球形态和排气气味,发现

问题及早处理。

7.4.9 菌种检验

检验方法按照附录 B 的规定执行。

7.4.10 菌种质量标准

质量标准按照附录 C 的规定执行。

7.4.11 放罐

经检验,达到菌种质量标准即可放罐。放罐应严格遵守无菌操作规程。

8 留样

菌种和培养基均应留样备查。母种每个批次留存 3 支~5 支,于 2℃~4℃下储存,储存至该批次菌种出第一潮菇。摇瓶液体菌种每个批次留样 30 mL~40 mL;发酵罐实消后的空白培养液、放罐前 24 h~48 h 的菌液和发酵终止后的菌液均留样 100 mL~150 mL。样品用三角瓶留存,2℃~4℃保存 7 d 以上。

9 储存

摇瓶液体菌种,2℃~4℃可存放 1 d~3 d。发酵罐液体菌种,储存时持续通入无菌空气,保持罐压 0.03 MPa~0.05 MPa,10℃~20℃可存放 1 d~3 d。

10 生产记录

母种、摇瓶液体菌种和发酵罐液体菌种生产的每个环节应有完整详实的生产记录档案,以备提供香菇液体菌种生产所涉及各环节的溯源记录。生产记录由具体操作人员现场填写,每天由主管领导审核,签字后归档保存,留存至少 2 年。有条件的提倡使用电子生产记录。生产档案记录事项见附录 D。

附 录 A
(规范性)
培养基配方

A.1 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA 培养基)

马铃薯 200 g(煮出汁),葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 自然。

A.2 摇瓶液体菌种培养基

糖蜜 15 g~25 g,麦麸 10 g~20 g,磷酸二氢钾 1.0 g~1.5 g,硫酸镁 0.5 g~1.0 g,水 1 000 mL,灭菌后 pH 5.0~5.5。

A.3 发酵罐液体菌种培养基

糖蜜 15 g~25 g,麦麸 10 g~20 g,磷酸二氢钾 1.0 g~1.5 g,硫酸镁 0.5 g~1.0 g,水 1 000 mL,灭菌后 pH 5.0~6.0。

附 录 B
(规范性)
液体菌种检验

B.1 感官检验

肉眼观察菌球形态、菌液色泽和澄清度,鼻子闻排气的气味进行检验(发酵罐液体菌种)。

B.2 显微镜镜检

按照无菌操作取少量菌液,显微镜下观察,菌丝形态应粗壮、饱满、光滑,有锁状联合。采用革兰氏染色法检查无细菌污染。每一试检样品应检查不少于 30 个视野。

B.3 霉菌检验

按照无菌操作取少量菌液,涂布或划线于 PDA 培养基上,25℃~28℃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。若出现白色以外的杂色,或生长速度和菌落形态异常,或有异味,判定为霉菌污染物。

B.4 细菌检验

按照无菌操作取少量菌液,接种于营养肉汤培养液(蛋白胨 10 g,牛肉膏 3 g,氯化钠 5 g,水 1 000 mL,pH 自然)中,37℃恒温培养 24 h~48 h,观察培养液是否浑浊。培养液浑浊有异味,则为细菌污染。

B.5 pH 测定

按照无菌操作取少量菌液,用 pH 计或精密 pH 试纸测定菌液酸碱度。菌液酸碱度应在正常范围内。

B.6 菌丝湿重测定

按照无菌操作取少量菌液,量取一定体积的培养液,经 4 000 r/min~6 000 r/min 离心 15 min~20 min,弃上清液,称量菌丝湿重。

B.7 菌丝体积比测定

按照无菌操作取少量菌液,量取一定体积的培养液,静置 60 min~90 min,测量菌球体积与总培养液体积的比值。

B.8 CO₂ 浓度监测

用 CO₂ 检测仪监测发酵罐排气的 CO₂ 浓度。

附 录 C
(规范性)
发酵罐液体菌种质量标准

C.1 感官要求

感官指标应符合表 1 的规定。

表 C.1 香菇发酵罐液体菌种感官要求

项目	要求
菌液色泽	菌液澄清透明,无浑浊
菌液形态	大量菌球、菌丝片段均匀悬浮于液体中,菌球大小均匀,形态为球状、丝状或叉状,静置不迅速分层
菌液气味	有香菇液体培养时特有的香气,无酸、臭等异味
菌丝显微形态	可见香菇菌种液体培养中特有的菌丝形态,菌丝粗壮,饱满、光滑,无空泡,有锁状联合,菌丝内原生质体分布均匀
杂菌鉴别	无霉菌菌丝、酵母和细菌菌体。

C.2 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 C.2 香菇发酵罐液体菌种理化指标

理化指标	要求
发酵终点 pH	3.0~4.0
菌丝湿重,g/mL	0.1~0.2
菌球体积比,%	≥85
CO ₂ 浓度,mg/L	2 000~3 000

附 录 A
(资料性)
香菇液体菌种生产档案记录事项

D.1 母种生产档案

表 D.1 母种生产档案

培养基制备					
制备日期		制备数量 mL		分装数量 支/个	
灭菌温度 ℃		灭菌时间 min		灭菌前 pH	
培养基配方				灭菌后 pH	
接种					
接种日期		菌种名称		菌种批次	
接种数量 支/个		菌种状态		继代次数	
培养					
培养地点		培养温度 ℃		培养时间 d	
母种检验					
菌落形态		色泽		色素	
长势		污染情况		杂菌类型	
使用					
使用人		使用日期		使用数量	
异常情况处理：					

记录人： 入档日期：

D.2 摇瓶液体菌种生产档案

D.1 母种生产档案

表 D.2 摇瓶液体菌种生产档案

培养基制备					
制备日期		制备数量 mL		分装数量 瓶	
灭菌温度 ℃		灭菌时间 min		灭菌前 pH	
培养基配方				灭菌后 pH	
接种					
接种日期		母种名称		母种批次	
接种数量 块		母种状态		母种继代 次数	
培养					
培养地点			培养温度 ℃		
转速			培养时间 d		

表 D. 1 (续)

摇瓶菌种检验					
菌液颜色		菌球形态		菌液体积比 %	
发酵终点 pH		菌丝鲜重 g/mL		污染情况	
使用					
使用人		使用日期		使用数量	
异常情况处理：					

记录人：

入档日期:

D.3 发酵罐液体菌种生产档案

表 D.3 发酵罐液体菌种生产档案

制罐							
发酵罐编号		制罐日期		培养液体积		灭菌前 pH	
灭菌温度 ℃		灭菌时间 min				灭菌后 pH	
培养基配方							
接种							
接种日期		接种时间		摇瓶菌种名称		摇瓶菌种批次	
摇瓶菌种 pH		摇瓶菌种 菌液体积比 %		摇瓶菌种 菌液色泽		摇瓶菌种 菌球形态	
培养							
日期	时间	设置温度 ℃	实际温度 ℃	通气比 %	CO ₂ 浓度 mg/L	菌液颜色	气味
菌种检验							
取样日期		取样时间		菌液颜色		菌球形态	
菌丝形态		菌丝湿重 g/mL		菌液体积比 %		菌液 pH	
杂菌情况							
用种							
用种日期		使用人		接种量 g/棒		接种数量 棒	
菌种储存情况：							
设备工作状况：							
异常情况处理：							

记录人:

入档日期: