附件1：

 **DB62**

**甘肃省地方标准**

**DB62/T XXXX-XXXX**

**耳类菌棒生产技术规程**

2020-XX-XX发布 2021-XX-XX实施

甘肃省市场监督管理局 **发布**

目 次

前言………………………………………………………………………………………………………………………………1

1 范围……………………………………………………………………………………………………………………………2

2 规范性引用文件……………………………………………………………………………………………………… 2

3 术语和定义……………………………………………………………………………………………………………… 2

4 厂区………………………………………………………………………………………………………………………… 4

5 基质………………………………………………………………………………………………………………………… 4

6 菌种制作……………………………………………………………………………………………………………………5

7 菌棒制作……………………………………………………………………………………………………………………9

8 标识和运输………………………………………………………………………………………………………………12

9生产管理……………………………………………………………………………………………………………………13

**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》的规定编写。

本文件由甘肃省农业农村厅提出、归口并监督实施。

本文件起草单位：甘肃省科学院生物研究所、卓尼县农业技术推广站、迭部县农业技术推广站、甘肃省药品监督管理局、定西市农业科学研究院、。

本文件主要起草人：杨阿丽,杨瑞芳,高凤,拉目吉,冉永红,谢江波,赵玉卉,卢勇,杜成,王治业,宋婕,蒋应涛,杜文科,郭瑞,祁正华,王洁,赵志强,董建勇,后爱红,张想同,王伟,秦鹏,魏甲乾,仓扎西,赵闹九曼,王晓文,刘鸿。

 本文件为首次发布。

本文件由甘肃省科学院生物研究所负责解释。各单位或个人在执行本文件过程中如发现需要修改和补充之处，请随时将意见和建议反馈至甘肃省科学院生物研究所编著组（地址：甘肃省兰州市城关区定西南路197号，邮政编码：730000，E-mail：aliyang1012@163.com ,联系方式：18993035777），以供今后修订时参考。

**耳类菌棒生产技术规程**

**1 范围**

本文件规定了耳类菌棒生产的术语与定义、厂区、基质、菌种制作、菌棒制作、标识和运输、生产管理的技术要求。

本文件适用于木耳目(*Auriculariales*)木耳科(*Auriculariaceae*)木耳属(*Auricularia*)可人工商业化栽培的黑木耳（*Auricularia auricula*）、毛木耳（*Auricularia polytricha*）等耳类菌棒的生产。

**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/T 12728 食用菌术语

GB 3095 环境空气质量标准

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 5010 无公害农产品 种植业产地环境条件

GB 50073 洁净厂房设计规范

NY/T 119 饲料原料 小麦麸

GB/T 5483 天然石膏

GB 5749 生活饮用水卫生标准

NY 5099 无公害食品 食用菌栽培基质安全技术要求

NY/T 5010 无公害农产品 种植业产地环境条件

GB 9688 食品包装用聚丙烯成型品卫生标准

GB 9687 食品包装用聚乙烯成型品卫生标准

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 1284 食用菌菌种中杂菌及害虫的检验

**3 术语与定义**

GB/T 12728界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

**3.1 培养料 substrate**

为食用菌生长繁殖提供营养的物质。如木屑、玉米芯、棉籽壳、麦麸等。

**3.2 料棒 artificial sawdust log**

代料栽培接种前装有培养料的棒状体。

**3.3 菌棒 artificial bed-log**

料棒接种后长有菌丝的棒状体。也称菌筒、人造菇木。

**3.4 培养基 medium**

具有适宜的理化性质，用于微生物培养的基质。

**3.5 培养 culture**

食用菌生产中提供适宜条件使菌丝生长发育的过程。

**3.6 杂菌 weed mould**

食（药）用菌培养中引起污染的微生物。

**3.6 灭菌 sterilization**

采用物理或化学方法消除有害微生物的方法。

**3.7 接种 inoculation**

将菌种转接到培养基中的操作。

**3.8 菌种 culture**

生长在适宜基质上具结实性的菌丝培养物。包括母种、原种和栽培种。

**3.9 冷却 cooling**

将刚灭菌完毕的培养料置于洁净通风的场所使温度下降的过程。

**3.10 污染 contamination**

在培养过程种混有其他微生物的现象。

**3.11 耳芽 primordium**

耳类子实体的幼小阶段，形成于培养基的表面，呈淡黄色或褐色半透明的胶质体。

**4 厂区**

**4.1 选址**

选择地势平坦、排灌方便、通风良好、交通便利的地址。周围无堆放生活垃圾或填埋场，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。环境要求符合GB 3095中环境空气二类区质量要求以及NY/T 528和NY/T 5010中对产地环境的规定。

**4.2 布局**

厂区规划应有各自隔离的堆料场、原料库、拌料区、装袋间、灭菌间、冷却室、接种区、培养室、贮存室、菌种检验室等。菌种生产厂房按工艺流程合理布局，无菌区和有菌区有效隔离。

液体菌种生产的发酵间和接种间按照GB 50073执行。

**4.3 仪器设备**

固体菌种：磅秤、天平、装袋机、高压灭菌锅或常压灭菌设施、纯净工作台、调温设备、培养架、恒温箱、冰箱、显微镜等。

液体菌种：恒温摇床、发酵罐、空气压缩机、空气过滤器、油水分离器等。

**4.4 环境**

堆料场应远离火源，并具有防雨措施；原料库要通风良好、干燥、地面用垫仓板隔离；拌料区、装袋区、灭菌区采用半封闭式厂房，能遮阳、避雨；冷却区、接种区、培养区采用全封闭式厂房，对温度、光照、湿度、通风等环境条件可进行人工调控。

**5 基质**

**5.1 原料质量**

主料一般选用除桉、樟、槐等有害物质树种外的阔叶树的木屑。辅料要求新鲜、干燥、无虫、无霉、无异味。麦麸、石膏、水等应分别符合NY/T 119、GB/T 5483和GB 5749的规定，其他原料质量要求应符合NY 5099和NY/T 5010的规定。

**5.2 原料储存**

木屑应存放于堆料场；其他原料储放于原料库。

**6 菌种制作**

**6.1 种源**

应从具有一级或二级《菌种生产许可证》单位引种。不使用来历不明、种性不清、随意冠名的菌种和生产性状未经系统试验验证的组织分离物作种源生产菌种。

**6.2 生产工艺流程**

**6.2.1 固体菌种**

 固体菌种生产工艺流程见图1。

 图1固体菌种生产工艺流程图

培养、检查

灭菌

培养基配制

分装

接种

成品

**6.2.2 液体菌种**

液体菌种生产工艺流程见图2。

图2液体菌种生产工艺流程图

培养基配制

灭菌

冷却

发酵

母种

摇瓶培养

培养基配制

灭菌

冷却

空气（净化处理）

成品

**6.3 生产要求**

**6.3.1 容器**

**6.3.1.1** 试管：规格180mm× 180mm或200mm×200mm。

**6.3.1.2** 玻璃瓶：550mL×850 mL、瓶口直径3cm~4cm，无色。

**6.3.1.3** 塑料瓶：550mL×850 mL、瓶口直径3cm~4cm，无色，耐126℃高温。

**6.3.1.4** 聚丙烯塑料袋：15cm×28cm或17cm×35cm，耐126℃高温，质量符合GB 9688的规定。

**6.3.1.5** 聚乙烯塑料袋：15cm×28cm或17cm×35cm，质量符合GB 9687的规定。

**6.3.1.6** 三角瓶：250mL ~500mL。

**6.3.1.7** 一级种子罐：50L~100L。

**6.3.1.8** 二级种子罐：500L~1000L。

**6.3.1.9** 每批次菌种所用容器规格一致。

**6.4 培养基**

**6.4.1 母种培养基**

 母种培养基的分装量为试管长度的1/4至1/5，培养基推荐配方见表1。

**表1 母种培养基推荐配方**

|  |  |
| --- | --- |
| 配方 | 组成 |
| 配方1 | 马铃薯200g，葡萄糖20g，琼脂20g，水1000mL |
| 配方2 | 马铃薯200g，葡萄糖20g，磷酸二氢钾2g，硫酸镁0.5g，琼脂20g，水1000mL  |

**6.4.2 原种、栽培种培养基**

 培养基推荐配方见表2。

**表2 原种、栽培种培养基推荐配方**

|  |  |
| --- | --- |
| 配方 | 组成 |
| 配方1 | 阔叶树木屑78%，麸皮20%，白砂糖1%，石膏1%，含水量58%±2% |
| 配方2 | 阔叶树木屑63%，棉籽壳15%，麸皮20%，白砂糖1%，石膏1%，含水量58%±2% |
| 配方3 | 棉籽壳99%，石膏1%，含水量58%±2% |

**6.4.3 液体菌种培养基**

 摇瓶培养基推荐配方见表3，扩大培养基推荐配方见表4。

**表3 摇瓶培养基推荐配方**

|  |  |
| --- | --- |
| 配方 | 组成 |
| 配方1 | 葡糖糖20g，蛋白胨2.5g，酵母膏2.5g，磷酸二氢钾1.0g，硫酸镁1.0g，水1000mL, |
| 配方2 | 白砂糖30g，磷酸二氢钾1.0g，硫酸镁1.0g，麸皮50g，玉米浆3mL，水1000mL |

**表4 扩大培养基推荐配方**

|  |  |
| --- | --- |
| 配方 | 组成 |
| 配方1 | 淀粉30g，葡萄糖20g，蛋白胨2.5g，酵母膏2.0g，磷酸二氢钾2.0g，硫酸镁1.0g，水1000mL, |
| 配方2 | 白砂糖30g，磷酸二氢钾1.0g，硫酸镁1.0g，麸皮50g，玉米浆3mL，水1000mL |

**6.5 灭菌**

**6.5.1** 培养基配制后在4h内进锅灭菌。母种培养基灭菌121℃，30min。原种培养基灭菌121℃，1.5h。栽培种培养基常压灭菌100℃，10h~12h；高压灭菌121℃，1.5h。

**6.5.2** 液体菌种培养基灭菌：121℃~124℃，40min。

**6.6 灭菌检查**

**6.6.1** 母种培养基随机抽取3%~5%的样品，28℃恒温培养，48h后检查，无杂菌即为灭菌合格。

**6.6.2** 原种和栽培种培养基抽取1%的样品，接种于表1 推荐的培养基，28℃恒温培养，48h后检查，无杂菌即为灭菌合格。

**6.7 冷却**

培养基灭菌后，冷却至20℃~30℃备用。

**6.8 接种**

严格按无菌操作要求接种。接种完成后及时贴好标签。

**6.9 培养**

培养温度20℃~24℃，空气相对湿度65%~75%，通风，避光。液体菌种还需要保持罐压在0.03Mpa~0.05Mpa，罐内换气量为1：0.5~1：1.2V/V（料液体积/空气体积）。

**6.10 培养期间检查**

间隔10d检查1次，挑出不合格菌种。

**6.11 菌种感官要求**

母种感官要求见表5，原种、栽培种感官要求见表6，液体菌种放罐要求见表7。

**表5 母种感官要求**

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 要求 |
| 容器 | 完整、无破损、无裂纹, |
| 棉塞或硅胶塞 | 干燥、洁净，松紧适度，满足透气和滤菌要求 |
| 斜面长度 | 顶端距试管塞40mm~50mm |
| 菌丝生长量 | 长满斜面 |
| 接种块大小 | （3~5）mm×（3~5）mm |
| 正面外观 | 菌丝洁白、纤细、平贴培养基生长，均匀、平整、无角变，菌落边缘整齐，无杂菌 |
| 背面外观 | 培养基不干缩，有菌丝体分泌的黄褐色色素 |
| 气味 | 有耳类菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味 |

**表6 原种、栽培种感官要求**

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 组成 |
| 容器 | 完整、无破损、无裂纹, |
| 菌种盖 | 干燥、洁净，满足透气和滤菌要求 |
| 培养基距离瓶（袋）口距离 | 50mm±5mm |
| 接种量 | 每支母种接种（4~6）瓶原种，每瓶原种接种（30~40）袋栽培种 |
| 菌丝生长量 | 长满容器 |
| 菌丝体特征 | 白色至米黄色，纤细，生长旺健，菌落边缘整齐，无杂菌 |
| 培养基 | 无干缩，允许少量无色至棕黄色水珠 |
| 耳芽 | 允许少量胶质、琥珀色颗粒状耳芽 |
| 气味 | 有耳类菌种特有的清香味，无酸、臭、霉等异味 |

**表7 液体菌种放罐要求**

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 要求 |
| 色泽 | 菌球菌丝呈白色，菌液呈棕色, |
| 形态 | 菌液略粘稠，球状菌丝体稠密且均匀分布 |
| 气味 | 无酸、臭、霉等异味，无发酵酒精气味 |

**6.12 留样**

每批次留样3支（瓶、袋）。母种4℃~6℃贮存；原种、栽培种1℃~4℃贮存。

**6.13 运输贮存**

**6.13.1 运输**

**6.13.1.1** 菌种运输不得与有毒、有害物品混装混运。

**6.13.1.2** 运输应有防晒、防潮、防雨、防冻、防震的设施与措施。

**6.13.2 贮存**

**6.13.2.1** 母种贮存在5℃冰箱内，保质期6个月。

**6.13.2.2** 原种贮存温度5℃~10℃，保质期3个月。

**6.13.2.3** 栽培种贮存温度10℃~15℃，保质期1个月。

**6.13.2.4** 液体菌种贮存温度6℃~10℃，贮存3d；11℃~15℃，贮存2d。

**7 菌棒制作**

**7.1基质配制**

**7.1.1 推荐配方**

推荐配方见表8。

**表8 料棒推荐配方**

|  |  |
| --- | --- |
| 配方 | 组成 |
| 配方1 | 阔叶树木屑79%，麦麸20%，石膏1% |
| 配方2 | 阔叶树木屑49%，玉米芯30%，麦麸20%，石膏1.5%，石灰1% 000000001.5%001.5%00.5#00000.5%0.5% |

**7.1.2 基质制备**

**7.1.2.1 称重**

按计划生产数量和配方中各原料的比例准确称重。

**7.1.2.2 干拌（一次搅拌）**

按木屑→麦麸→木屑→麦麸→石膏的顺序将称重后的原料倒入搅拌机内充分拌匀。

**7.1.2.3 湿拌（二次搅拌）**

干料拌匀后，加水进行充分拌匀，含水量55%~60%。

**7.2 装袋**

**7.2.1** 长棒选用规格为15cm×55cm×0.05mm的聚乙烯菌袋，拌料后要求5h内完成装袋，料棒紧实，袋无破损，单个棒重（湿）应为1.5kg~1.7kg，装袋后清理袋口并扎紧。如使用高压灭菌，料棒打1个循环透气口（直径0.5cm），贴专用透气胶片，用眼观、手膜的方法检查料棒微孔，微孔处贴透气胶片。

**7.2.1** 短棒选用规格为18cm×33cm×0.05mm的聚乙烯菌袋，拌料后要求5h内完成装袋，料棒紧实，袋无破损，单个棒重（湿）应为1.3kg~1.5kg，装袋后窝口插入接种棒，用棉塞封口。

**7.3 灭菌**

装好的料棒应及时采用常压或高压进行灭菌，将料棒码放于灭菌架上，通常一次灭菌的料棒数量控制在7000棒~10000棒。常压灭菌时，中心料温需在4h达到100℃，保持16h~18h；高压灭菌压力保持在0.1MPa/121℃，灭菌3h~3.5h。

**7.4 冷却**

灭菌后的料棒移入预先清洁、消毒、杀虫的冷却室，温度控制在18℃~20℃，冷却至27℃以下。

**7.5 接种**

**7.5.1 菌种**

菌种应符合NY/T 1742的质量要求，接种前一天使用新结尔灭、次氯酸钠或二氯异氢尿酸钠等对装有菌种的器皿进行表面消毒。

**7.5.2 操作**

**7.5.2.1 固体菌种接种**

接种前应对打穴工具（呈长圆锥体状，长约12cm~14cm，直径2.2~2.5cm）进行灭菌，接种室进行清洁和消毒（消毒用食用菌专用气雾消毒剂4g~8g熏蒸30min），用75%的酒精涂擦纯净工作台工作区，紫外线灯照射30min，再用75%的酒精对手和工具进行消毒。

接种时用打穴工具在料棒上打深2.0cm~2.5cm规格3个~4个接种穴，取菌种块塞满接种穴，再接种（整块接入，不能有空隙），接种完成后，套上外袋（17cm~18cm×60cm的聚乙烯袋）并扎口。每瓶栽培种（750mL）接种15个~20个料棒，接种后的菌棒要及时移入培养场所。

**7.5.2.2 液体菌种接种**

接种前将液体菌种接种枪和棉塞进行高压灭菌，接种室进行清洁和消毒（消毒用食用菌专用气雾消毒剂4g~8g熏蒸30min），用75%的酒精涂擦纯净工作台工作区，紫外线灯照射30min，再用75%的酒精对手和工具进行消毒。

接种前发酵罐保持正常的罐压，去掉棉塞和接种棒，每个接种点接种25mL~30mL，接种后重新用新的灭菌棉塞进行封口。

**7.5.2.3** 接种过程严格执行无菌操作，每批接种应为单一品种，如中途换品种需要对接种工具和超级工作台等 表面进行擦拭消毒。

**7.6 培养管理**

**7.6..1 培养场所**

菌棒培养设施大棚应覆盖黑白膜、大棚顶架设遮阳网和喷淋设施，棚高3.5m~4.5m。

**7.6.2场所消毒**

菌棒移入培养设施大棚前2d~4d，用2%~5%来苏尔溶液或0.2~0.5%过氧乙酸溶液喷洒消毒，地面撒一层石灰，地面铺一层塑料薄膜。

**7.6.3堆放方式**

将完成接种的菌棒移入培养场所。长棒建议按照“井”字型堆放，堆高8层~10层，堆之间留0.3m~0.5m的通风道，短棒建议使用网格架排袋。

**7.6.4环境控制**

**7.6.4.1温度**

菌棒接种1d~10d，培养温度宜控制在24℃~26℃，10d后，宜控制在21℃~23℃。

**7.6.4.2湿度**

菌棒培养期间，要求空气相对湿度60%~70%。

**7.6.4.3通风**

菌棒培养期间，要求通风良好。

**7.6.4.4 翻堆检查**

长棒接种孔菌丝长至8cm~10cm时，进行翻堆检查杂菌污染情况。翻堆后耳棒按“井”字型或三角形堆放，堆高6层~8层。

定期观测培养场所的温度、湿度、料温、杂菌感染情况，及时调整发菌条件和处理污染菌棒。

**7.7 耳棒成品**

在适宜条件下，长棒经过40d~50d菌丝可长满袋，短棒20d~25d菌丝满袋。按照NY/T 1284进行质量检验，菌丝生长正常、无杂菌感染的为菌棒成品。

**8 标识和运输**

**8.1 标识**

 菌棒成品使用打码器进行标识。标识上注明生产单位、生产日期、生产批次、生产数量及其他需要的相关信息。

**8.2 运输**

 运输工具清洁干净，有防雨防晒设施，不可进行裸露运输，不与有毒有害有污染菌棒的物品混运，菌棒运输车厢内部温度不能超过25℃。

**9 生产管理**

**9.1 设备设施维护检修**

水、电、消防设施以及生产设备均应定期检查、维护、检修，其中锅炉、叉车按特种设备进行管护。

**9.2 环境卫生**

每天生产结束，对各个作业区场所做好环境卫生清洁，做好清洁记录。

**9.3 生产档案**

建立生产档案，包括每批次的菌种来源、菌种生产过程、生产原料来源、标识信息、生产数量、生产日期、灭菌时间、接种时间、菌棒数量、菌棒去向等。档案记录真实、准确、规范。保档案记录保留1年以上。

**9.4 安全生产**

安全生产管理应符合NY/T 1731的规定。