

权 利 要 求 书

1、一种冠突散囊菌发酵苦丁茶的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

5 步骤 1、分离纯化固体菌种：首先称取茯砖茶，加无菌水，振荡培养，用 2 层无菌纱布过滤，再用蒸馏水洗涤茶渣，过滤得浸提液，吸取 200ul 浸提液涂布到 PDA 固体培养基中，当冠突散囊菌生长后，用 PDA 固体培养基采用平板划线法纯化，得到冠突散囊菌单菌落后再一次转接到新的 PDA 固体培养基，得到冠突散囊菌的固体菌种；

10 步骤 2、制备液体菌种：将冠突散囊菌固体菌种接种到 CZG 液体培养基内，振荡培养；得到冠突散囊菌液体菌种；

将制得的冠突散囊菌液体菌种再一次转接到新 CZG 液体培养基内，振荡培养，得到新鲜冠突散囊菌液体菌种；

15 步骤 3、茶叶汽蒸接种：将苦丁茶毛茶和苦丁茶精致茶混合，按容器体积的 1/3 的茶叶量装入三角瓶或广口瓶中；将红茶茶汤或者茶枝加入到混合苦丁茶中；将红茶茶汤加入到苦丁茶中；搅拌均匀，用封口膜将锥形瓶密封，汽蒸，待锅内温度降至 40℃以下，取出茶叶，无菌接种液体菌种，搅拌均匀封口，制得发酵茶；

20 步骤 4、发酵：将制得的发酵茶发酵，发酵过程中观察茶叶湿度的变化，若茶叶湿度明显过低，应适当进行补水，保证冠突散囊菌的快速生长，发酵，得到发酵完全的苦丁茶；

步骤 5、烘干包装：将发酵好的苦丁茶分散，置于烘箱内烘干，烘干过程中每隔 15 分钟将茶叶翻转搅拌一次，得到发酵苦丁茶成品，并包装处理。

~~2、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 1 中的茯砖茶与无菌水的质量体积比 (g/ mL) 为 3:300-8:300；~~

25 ~~3、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 1 中的振荡培养温度为 25-35℃，振荡培养转速为 55-65r/min，振荡培养时间为 20-28h。~~

~~4、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 2 中的 CZG 液体培养基配方为：蔗糖 40-60 g/L，磷酸氢二钾 1 g/L，NH₃NO₃ 3 g/L，NaCl~~

40-50 g/L , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L。

5 53、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 2 中的摇瓶振荡培养温度为 25-30℃，振荡培养转速为 110-140 r/min，振荡培养时间为 4-10 d ;将制得的冠突散囊菌液体菌种再一次转接到新 CZG 液体培养基内的振荡培养温度为 25-30℃，振荡培养转速为 110-140 r/min，振荡培养时间为 3-8 d。

64、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 3 中的苦丁茶毛茶和苦丁茶精致茶的质量比为 6 :4 ;红茶茶汤通过以下方法制备得到：将红茶加入到蒸馏水煮沸，得到红茶茶汤。

10 75、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 3 中的红茶茶汤的质量浓度为 5%-8%；蒸馏水、红茶茶汤或者茶枝与苦丁茶混合物体积质量比：15：100-25：100；汽蒸温度为 70-80℃，汽蒸时间为 15-25min；液体菌种的接种量为 8%-10%。

15 86、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 4 中的发酵温度为 28℃-31℃，空气湿度 55%-65%，发酵 10 天。

97、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤 5 中的烘干温度为 60-75℃，烘干时间为 85-100 min。

108、一种由权利要求 1-97任一权利要求所述的制备方法制备得到的冠突散囊菌发酵苦丁茶。