



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00765**

(22) Data de depozit: **28/10/2016**

(41) Data publicării cererii:  
**27/04/2018** BOPI nr. **4/2018**

(71) Solicitant:  
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE  
AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
DIN BUCUREȘTI, BD.MĂRĂȘTI NR.59,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO**

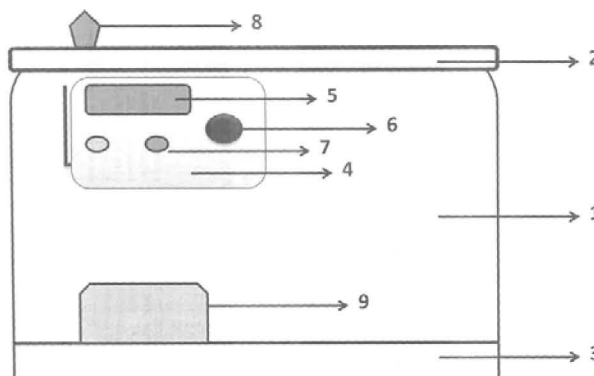
(72) Inventatori:  
• **VAMANU EMANUEL,  
ALEEA VALEA CĂLUGĂREASCĂ NR.3,  
BL.A 10, SC.D, ET.2, AP.53, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **PETRE ALEXANDRU,  
STR. GRIGORE MOISIL, BL. PK5, SC. 3,  
AP. 26, SAT 1 DECEMBRIE,  
COMUNA 1 DECEMBRIE, IF, RO**

(54) **PROCEDEU ADAPTAT CULTIVĂRII CIUPERCII *LENTINULA  
EDODES (SHIITAKE)* LA NIVEL DE LABORATOR, ȘI SISTEM  
AUTOMATIZAT DE APLICARE**

### (57) Rezumat:

Invenția se referă la un sistem pentru cultivarea ciupercii *Lentinula edodes*. Sera conform invenției este formată dintr-o incintă (1) din polipropilenă transparentă având o lungime de 78 cm, o lățime de 56 cm și o înălțime de 43 cm, închisă cu un capac (2) ermetic, în care sunt montate două filtre (8) de aer pentru reținerea particulelor mai mari de 15 μm, precum și două module termoelectrice pentru răcirea incintei (1); la bază, incinta (1) are un strat (3) de perlită, sterilizat, de 5...6 cm grosime, pentru asigurarea unei umidități de 85...99%, sistemul fiind în legătură cu un alt sistem exterior (4, 5, 6, 7) de automatizare a parametrilor de temperatură și umiditate asociați celor patru faze de cultivare a ciupercii.

Revendicări: 2  
Figuri: 1



## Procedeu adaptat cultivării ciupercii *Lentinula edodes* (Shiitake) la nivel de laborator și sistem automatizat de aplicare

Ciupercile reprezintă un aliment complex datorită compoziției complexe în compuși bioactivi, cum ar fi componenta polifenolcarboxilică, acid ascorbic, tocoferoli și polizaharide. *Lentinula edodes* este o ciupercă comestibilă, dar și una din cele mai cunoscute din punct de vedere terapeutic. Este intens cultivată în Europa, dar în România producătorii independenți o cultivă în condiții adaptate propriilor capacități de care dispun. Nu există unități dedicate de cultivare, de obicei ele sunt foste ciupercării modificate de *Agaricus bisporus* sau *Pleurotus ostreatus*, dar și în sere realizate sub forma unor solarii modificate. Nu există, în România, facilități care să poată realiza cercetări și adaptări ale tehnologiilor existente în scopul implementării cultivării ciupercilor în industria agricolă.

Sistemul propus (denumit RomLabHouse) este un sistem independent, care își propune să elimine acest inconvenient, putând fi utilizat în orice universitate sau institut de cercetare. Se poate adapta oricărui laborator existent deoarece are un sistem autonom de menținere a condițiilor de mediu. Nu necesită alte facilități sau echipamente pentru a stabili valoarea temperaturii și a umidității. Pentru stabilizarea acestor condiții și monitorizarea lor în timp real este utilizată platforma Arduino Yun. Este o platformă open source, care nu necesită cunoștințe avansate de electronică și programare, fiind o unealtă avantajoasă pentru studenți și cercetători în scopul facilitării activităților de cercetare.

Astfel, soluția constructivă este formată din:

1. O cutie din plastic volum 130 litri;
2. Două sisteme Peltier provenite de la lăzi frigorifice auto, cu alimentare independentă la 220V;
3. Pe fundul cutiei se așează un strat de perlită de 5 – 6 cm grosime, care a fost sterilizat înainte la 120°C, timp de două ore;
4. O automatizare Arduino Yun cu ecran LCD de prezentare a datelor și antenă wireless (acestea sunt fixate într-o cutie exterioară din plexiglas);
5. Senzor de temperatură și umiditate;

/ Rector USAMV București Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai



Conf. dr. Varmanu Emanuel



Ca și material biologic s-a utilizat specia *Lentinula edodes* (Shiitake) care a provenit de la Fungi Perfecti LLC, USA (<http://www.fungi.com>).

Experimentul 1 - Substratul 1 conține următoarele ingrediente:

1. Rumegul fag 2000 mL;
2. Amestec cereale (grâu:soia:porumb 1:1:1) 500 mL;
3. Ipsos 20 mL;
4. Apă 750 mL.

Experimentul 2 - Substratul 2 conține următoarele ingrediente:

1. Rumeguș fag 2000 mL;
2. Porumb măcinat mare 500 mL;
3. Tărâțe grâu 300 mL;
4. Ipsos 20 mL;
5. Apă 750 mL.

Experiment 3 - Substratul 3 conține următoarele ingrediente:

1. Rumeguș de fag 2000 mL;
2. Paie de grâu tocate 500 mL;
3. Tărâțe de grâu 500 mL;
4. Ipsos 50 mL;
5. Apă 800 mL.

Toate aceste formule de substrat au fost omogenizate într-un recipient din plastic, volum 10 litri. Cu o spatula din plastic de 300 mL s-a încărcat o pungă sterilizabilă din polipropilenă cu microfiltru 0.2  $\mu$ , aproximativ 2.5 kg (Mushroom Production Center GmbH, Innsbruck, Austria). Sacii nesigilați s-au sterilizat în autoclav la 121<sup>0</sup>C, timp de două ore. După 24 de ore, se scoate punga cu substratul sterilizat fără a o desface și se introduce într-o hotă în flux laminar. Se inoculează cu 2 – 5% miceliu granular Shiitake care a fost preparat în prealabil pe boabe de grâu/porumb sterilizate. Punga se sigilează cu colier din plastic. Se păstrează la 20 – 23<sup>0</sup>C, la întuneric, timp de 2.5 – 3 luni, din care maxim 14 zile reprezintă colonizarea totală a substratului. Timpul include și perioada de brunificare esențială pentru inițierea procesului de fructificare.

Rector USAMV București Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai

Conf. dr. Vamanu Emanuel

Incinta serei este fabricată din polipropilenă transparentă, măsurând 78 cm în lungime, 56 cm în lăţime şi 43cm în înălţime. Aceasta este prevăzută cu un capac ermetic şi are un volum de 130 litri. Prin capac au fost montate 2 filtre de aer ce reţin particule mai mari de 15  $\mu\text{m}$ , pentru a permite un schimb de gaze lipsit de contaminanţi.

Tot prin capac au fost instalate 2 module termoelectrice ce folosesc efectul Peltier pentru a răci incinta serei. Acestea funcţionează prin crearea unei diferenţe de temperatură între suprafeţele inferioare şi superioare ale unor plăci între care se află materiale semiconductoare cu proprietăţi diferite, ce atunci când sunt străbătute de un curent continuu de 12V generează un flux termic.

Placa ce se răceşte are formă zimţată, pentru a avea o suprafaţă de contact mare, este din aluminiu şi pătrunde prin capac direct în incinta serei. Placa ce se încălzeşte are ataşată un radiator şi un ventilator ce disipă căldura prin capac, în exteriorul incintei.

Fazele de cultivare corespund etapelor ciclului de viaţă a ciupercii Shiitake. Acestea au alocate un număr de la 1 la 4, ce este afişat pe display-ul Arduino-ului, alături de temperatură şi umiditate. Parametrii de temperatură sunt asociaţi fazelor de cultivare după cum urmează:

Faza 1. Colonizare: T: 24 – 28°C;

Faza 2. Brunificare: T: 22 – 25°C;

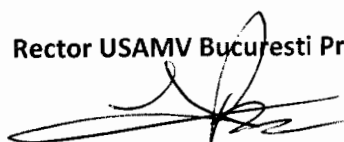
Faza 3. Fructificare: T: 18 – 20°C;

Faza 4. Recuperare: T: 22 – 25°C.

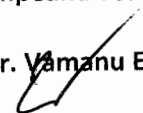
Se pot realiza, în condiţiile propuse, trei fructificări, din maxim cinci cât pot fi realizate în condiţii industriale cu această specie. Prima fructificare are loc la limita maximă a timpului, după brunificare şi fără şoc termohidric, atunci când aproximativ 70% din suprafaţa substratului colonizat s-a brunificat. Restul fructificărilor au loc după şoc termohidric. Se realizează prin imersie 12 – 24 de ore la 6 – 10°C. Fructificarea are loc în cutie, în Faza 3 a automatizării. Între două fructificări, substratul este păstrat în Faza 4, de recuperare a miceliului, în aceeaşi cutie, în laborator.

Indiferent de fază, umiditatea serei este menţinută la 85-99% de către un strat de perlită aşezat pe fundul incintei. Perlita este o sticlă vulcanică amorfă ce se găseşte în comerţ sub formă expandată. Aceasta are proprietatea de a reţine în structura sa un conţinut ridicat de apă, odată ce

Rector USAMV Bucuresti Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai



Conf. dr. Vămanu Emanuel



este hidratată. Apa poate fi eliberată, în mod constant, prin evaporare pentru a asigura umiditatea necesară. Evaporarea are loc până la epuizarea apei, punct în care perlita trebuie rehidratată.

Modulul Arduino este montat într-un compartiment pe exteriorul serei pentru a permite amplasarea alăturată a display-ului, antenei wireless și a joystick-ului, ce asigură comutarea manuală a parametrilor de cultivare, respectiv transmiterea online a parametrilor.

Nu am găsit în baza de date a OSIM, în urma studiului de literatură, procedee similare care să urmărească cultivarea în laborator sau dezvoltarea de procedee/sisteme adaptate unei anumite specii de ciuperci.

În schimb, au fost identificate în baze de date internaționale următoarele brevete relevante:

D1: Brevetul US20050097815 diferă, în primul rând, prin formulele de substrat propuse bazate pe: frunze de banane, resturi de grapefruit și proporții diferite din cereale; rumeguș simplu; rumeguș amestecat cu cereale; cereale simple. Toate au fost suplimentate cu o cantitate semnificativă de gips 5 – 10%.

D2: Brevetul EP0504142A1 diferă, în primul rând, prin formula de substrat declarată bazată pe: cereale (sorg, ovăz), muguri arțar, drojdie de bere, semințe decojite de floarea soarelui, usturoi, uleiuri vegetale, melasă, lapte.

D3: Brevetul US20140173977 se adresează, în primul rând speciilor din genul *Agaricus*

Toate cele trei surse menționate, sunt aplicabile unei cultivări industriale, în scopul valorificării unor deșeuri și subproduse din industria alimentară. Formulele de substrat propuse conțin un număr mare de componente, inclusiv prezența într-un procent ridicat a gipsului. Toate acestea au un scop total diferit de cererea de brevet propusă, care își dorește implementarea unei tehnologii reproductibile la nivel de laborator.

Rezultate experimentale:

Fiecare substrat este capabil să fructifice de mai multe ori până la epuizarea nutrienților din compoziție. După recoltare și cântărire, blocurile sunt introduse în seră, setată pe faza 4 de cultivare, unde miceliul se reface în zonele de recoltare. Acest proces durează aproximativ 14 zile, după care blocurile de substrat pot fi supuse din nou șocului termohidric.

Substratul utilizat a reprezentat o formulare proprie, ce a avut ca scop asigurarea unui mediu afânat, îmbunătățit nutritiv, ce a putut fi colonizat rapid de către miceliul ciupercii Shiitake. De

/ Rector USAMV Bucuresti Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai

Conf. dr. Vamanu Emanuel

asemenea s-a realizat o reducere a perioadei de brunificare de până la 50% - substratul ce conține paie tocate. Acesta favorizează fructificarea, dar nu are loc formarea corpului de fructificație normal. Se produce doar o acumulare punctiformă de miceliu, care deși se brunifică rapid, nu declanșează procesul de diferențiere. Reluarea ciclului de fructificare nu determină o îmbunătățire a randamentului productive. Rezultatul determinat în prezența paielor tocate sunt determinate de o acumulare insuficientă a substanțelor nutritive ce susțin formarea corpului de fructificare. Stimularea brunificării, bazată pe o degradare rapidă a substratului bazat pe paie, nu corespunde cu creșterea productivității. Rezultatele sunt valabile, cel puțin în acest caz, pentru specia testată.

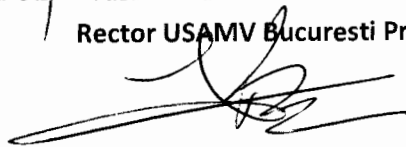
Rezultatele obținute, cu substratul 1 și 2, sunt comparabile cu cele din industria de cultivare a ciupercilor. Valoarea productivității este în concordanță cu valorile exprimate în literatura de specialitate privind cultivarea ciupercilor Shiitake. Astfel, productivitatea medie este de 15.57%, iar eficiența biologică medie a fost de 39.53%.

Automatizarea serei permite cultivarea în condiții de laborator pentru utilizarea sistemului în practica universitară.

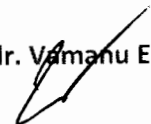
#### **Bibliografie selectivă:**

1. Lucrare licență 2015, Petre Alexandru, MUSHROOM LABORATORY GREENHOUSE - Sistem automatizat pentru cultivarea ciupercii *Lentinula edodes* la nivel de laborator.
2. <http://www.ebay.com/itm/100-mushroom-spawn-grow-bags-with-B-5-filter-patch-3B-/121442344546>
3. <http://www.ikea.com/gb/en/products/small-storage-organisers/storage-boxes-baskets/samla-box-transparent-art-90102971/>
4. [http://www.knfilters.com/filter\\_facts.htm](http://www.knfilters.com/filter_facts.htm)
5. Brevet US20050097815, 2005, S. Wasser, V. Bilay, Substrate and method for growing shiitake mushrooms [*Lentinus edodes* (berk.) singer] and new shiitake strain.
6. Brevet EP0504142A1, 1992, B.T. Hiromoto, Substrate and method for culture of fungi, including shiitake (*Lentinus edodes*).
7. Brevet US20140173977, 2014, K. Juscius Production method of the substrate for the growing of champignons and other cultivated mushrooms

Rector USAMV Bucuresti Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai



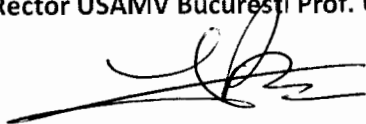
Conf. dr. Vamanu Emanuel



**REVENDICARE**

1. Procedeul adaptat pentru cultivarea ciupercii *Lentinula edodes* (Shiitake) la nivel de laborator constă în realizarea unor condiții optime de cultivare (temperatură și umiditate), caracterizare prin, patru etape distincte Faza 1. Colonizare: T: 24 – 28°C; Faza 2. Brunificare: T: 22 – 25°C; Faza 3. Fructificare: T: 18 – 20°C; Faza 4. Recuperare: T: 22 – 25°C. Indiferent de fază, umiditatea serei este menținută la 85-99% de către un strat de perlită așezat pe fundul incintei. Aceasta are proprietatea de a reține în structura sa un conținut ridicat de apă, odată ce este hidratată. Apa poate fi eliberată, în mod constant, prin evaporare pentru a asigura umiditatea necesară. Evaporarea are loc până la epuizarea apei, punct în care perlita trebuie rehidratată.
2. Sistemul automatizat de cultivare în laborator caracterizat prin aceea că este constituit: dintr-o cutie din plastic volum 130 litri; două sisteme Peltier provenite de la lăzi frigorifice auto, cu alimentare independentă la 220V; pe fundul cutiei se așează un strat de perlită de 5 – 6 cm grosime, care a fost sterilizat înainte la 120°C, timp de două ore; o automatizare Arduino Yun cu ecran LCD de prezentare a datelor și antenă wireless (acestea sunt fixate într-o cutie exterioară din plexiglas); Senzor de temperatură și umiditate. Modulul Arduino care este montat într-un compartiment pe exteriorul serei permite amplasarea alăturată a display-ului, antenei wireless și a joystick-ului, ceea ce asigură comutarea manuală a parametrilor de cultivare, respectiv transmiterea online a parametrilor.

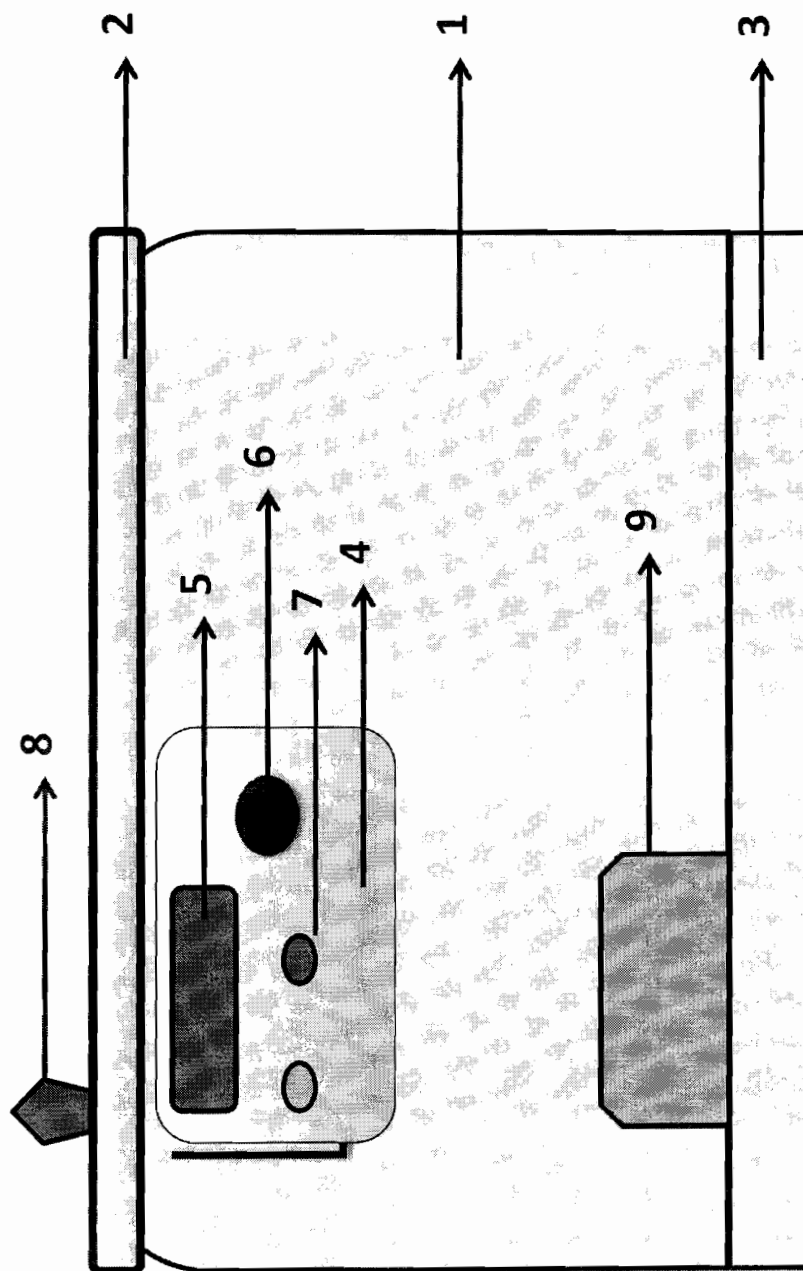
Rector USAMV București Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai



Conf. dr. Vamanu Emanuel



Legendă: 1. Cutie plastic; 2. Capac cutie; 3. Strat perlită; 4. Cutie automatizare;  
5. Display; 6. Joystick; 7. Leduri luminoase; 8. Filtru aer; 9. Substrat.



Rector USAMV Bucuresti Prof. Univ. Dr. Cimpeanu Sorin Mihai

Conf. dr. Vamanu Emanuel