



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 01047

(22) Data de depozit: 03.11.2010

(41) Data publicării cererii:
30.05.2011 BOPI nr. 5/2011

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA DIN PITEȘTI,
STR. TÂRGUL DIN VALE NR.1, PITEȘTI,
AG, RO

(72) Inventatori:
• PETRE MARIAN,
ALEEA CETATEA VECHE NR.2A, BL.2BIS,
SC.1, ET.4, AP.14, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• TEODORESCU ALEXANDRU,
STR. BANAT, BL. B3, SC. A, AP. 15,
PITEȘTI, AG, RO

(54) **PROCEDEU DE CULTIVARE A MACROMICETELOR DIN
SPECIA *GRIFOLA FRONDOSA* ȘI BIOMASĂ FUNGICĂ
NUTRITIVĂ**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu biotehnologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor din specia *Grifola frondosa*, cu obținerea unei biomase cu proprietăți nutritive. Procedeu conform invenției presupune cultivarea macromicetelor din specia *Grifola frondosa*, în regim submersibil, pe un mediu nutritiv lichid, transvazarea în vase de cultivare, sterilizare la 121°C timp de 15 min, răcire la temperatura de 25°C, inoculare aseptică cu miceliu de culturi pure, incubare

la temperatura constantă de 23...25°C și viteza de agitare de 100...200 rpm, timp de 10...14 zile, cu obținerea unei biomase alcătuită din formațiuni sferice miceliene care sunt separate de mediul lichid prin centrifugare, sunt deshidratate lent și condiționate sub formă de granule cu dimensiuni de 0,1...0,5 mm.

Revendicări: 2



**PROCEDEU DE CULTIVARE A MACROMICETELOR DIN SPECIA
GRIFOLA FRONDOSA ȘI BIOMASĂ FUNGICĂ NUTRITIVĂ**

Invenția se referă la un procedeu biotehnologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor din specia *Grifola frondosa*, pe un mediu nutritiv lichid, constituit din următoarele componente naturale: tărâțe de secară, în proporție de 25...35%, tărâțe de grâu, în proporție de 20...30%, semințe de orz, decorticate și germinate timp de 24...48 h și apoi măcinate foarte fin 15...20%, peptonă din soia 5...10%, drojdie de bere 1...5%, apă deionizată, în volum corespunzător realizării procentului total de 100% al soluției finale, pe baza raportului de echivalență volum-greutate, precum și la o biomasă cu proprietăți nutritive, care se obține prin aplicarea acestui procedeu biotehnologic.

Conform procedurii, mediul nutritiv, astfel obținut, se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 1000...5000 ml, care, ulterior, se sterilizează la 121⁰C, timp de 15 min., se răcesc la temperatura de 25⁰C, se inoculează aseptice cu rondele de miceliu, prelevate din culturi pure, se introduc în incubatoare, care asigură temperatura constantă de 23...25⁰C și viteza de agitare de 100...120 rpm, și se mențin, în acest mod, timp de 10...14 zile. La sfârșitul perioadei de fermentație, în regim submersibil, rezultă o biomasă fungică, de culoare albă-sidefată, alcătuită din formațiuni miceliene compacte, de tip corpuscular, formate din hife anastomozate, dispuse elipsoidal în structura internă a acestor corpusculi. Pentru separarea biomasei fungice solide în raport cu faza lichidă a mediului de cultivare, se aplică metoda de centrifugare, sedimentul obținut fiind, apoi, deshidratat lent în curent de aer cald, la o temperatură de 30...35⁰C și condiționat sub forma unor particule de 0,1...0,5 mm.

Bioprodusul rezultat, constituit din biomasa fungică a speciei *Grifola frondosa* și obținut prin procedeu menționat, se caracterizează printr-un conținut de proteine de 15...20% și de polizaharide totale de 10...15%.

Sunt cunoscute diverse procedee de cultivare în mediu lichid sau solid a unor specii de macromicete, în condiții de creștere și dezvoltare, dirijate prin sisteme computerizate de conducere și control, pentru producerea de suplimente cu valoare nutritivă și terapeutică, care prezintă dezavantajele că impun aplicarea unor procedee tehnologice energofage, prin utilizarea

unui număr mare de aparate și instalații termice, electrice și electronice și că necesită substraturi de cultivare, preparate din materii prime și materiale auxiliare, care determină creșterea costurilor de producție, produsul final având un preț de comercializare extrem de ridicat.

Scopul invenției este acela de valorificare biotehnologică a subproduselor rezultate din procesele tehnologice de prelucrare a cerealelor din industria de morărit și panificație prin obținerea de biomasă fungică nutritivă aparținând speciei *Grifola frondosa*, ca umare a cultivării intensive a acesteia, în regim submersibil, pe medii nutritive naturale, utilizând un procedeu simplu, ieftin și eficient, aplicabil pentru fabricarea unor suplimente alimentare.

Problema pe care o rezolvă invenția este cultivarea intensivă *in vitro* a macromicetelor din specia *Grifola frondosa*, pe medii nutritive, alcătuite din componente integral naturale, pentru producerea de biomasă fungică, caracterizată printr-un conținut ridicat de proteine de 15...20% și de polizaharide totale de 10...15%, cu un consum de energie și manoperă mai redus cu 30-40%, comparativ cu procedeele clasice de cultivare a acestei specii de macromicete.

Procedeu, conform invenției, elimină dezavantajele menționate, prin aceea că, în scopul obținerii biomasei fungice aparținând speciei *Grifola frondosa*, se utilizează medii de cultivare, compuse din ingrediente complet naturale, care asigură derularea proceselor fermentative submersibile, induse de activitatea enzimatică fungică, într-un timp mult mai scurt și cu o eficiență economică mult mai mare, comparativ cu procedeele utilizate, actualmente, la nivel mondial.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției.

Pentru cultivarea submersibilă a macromicetelor din specia *Grifola frondosa* se prepară un mediu nutritiv lichid, compus din următoarele componente integral naturale: tărâțe de secară, în proporție de 25...35%, tărâțe de grâu, în proporție de 20...30%, semințe de orz, decorticate și germinate timp de 24...48 h și apoi măcinate foarte fin 15...20%, peptonă din soia 5...10%, drojdie de bere 1...5%, apă deionizată, în volum corespunzător realizării procentului total de 100% al soluției finale, pe baza raportului de echivalență volum-greutate

Mediul nutritiv, astfel obținut, se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 1000 – 5000 ml, care, ulterior, se sterilizează la 121⁰C, timp de 15 min. După răcire la temperatura de 25⁰C, acest mediu nutritiv natural se inoculează, în condiții de asepsie, utilizând rondele de miceliu cu un diametru de 0,7...1 mm, prelevate din culturi pure.



Handwritten signature and initials in the bottom right corner of the page.

Apoi, vasele de cultivare, conținând mediul nutritiv inoculat cu miceliu, se introduc în incubatoare, care asigură temperatura constantă de 23...25⁰C și viteza de agitare de 100...120 rpm, și se mențin, în acest mod, timp de 10...14 zile, perioadă în care se realizează fermentația submersă a mediului nutritiv respective, ca urmare a activității enzimatică a celulelor fungice.

La sfârșitul perioadei de fermentație în regim submersibil, rezultă o biomasă fungică, de culoare albă, alcătuită din formațiuni miceliene compacte, de tip corpuscular, formate din hife anastomozate, dispuse elipsoidal în structura internă a acestor corpusculi. Pentru separarea biomasei fungice solide, în raport cu faza lichidă a mediului de cultivare, se aplică metoda de centrifugare, sedimentul obținut fiind, apoi, deshidratat lent în curent de aer cald, la o temperatură de 30...35⁰C și condiționat sub forma unor particule de 0,1...0,5 mm.

Biomasa fungică a speciei *Grifola frondosa* obținută prin procedeul menționat se utilizează ca atare, sub formă de supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată, având un conținut ridicat de proteine de 15...20% și de polizaharide totale de 10...15%, raportat la cantitatea de substanță uscată.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- utilizează un procedeu biotehnologic simplu, economic și eficient, destinat cultivării intensive a speciei *Grifola frondosa*, pe medii nutritive constituite din componente integral naturale, în vederea obținerii unui supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată;
- elimină aplicarea unor procedee tehnologice energofage și nu necesită substraturi de cultivare și materiale auxiliare, care să determine creșterea costurilor de producție;
- asigură, prin aplicarea procedurii biotehnologic menționat, producerea în timp foarte scurt a unor cantități sporite de biomasă fungică, al căror conținut în substanțe biologice active, cu proprietăți terapeutice, este semnificativ mai mare, comparativ cu alte metode de cultivare întrebuințate până în prezent



Referințe bibliografice

Brevet RO, nr. 97180

Brevete S.U.A., nr. 4461760; 5281577; 5560914

PETRE, M., PETRE V., 2003. Medicinal Mushrooms Used as Natural Adaptogens and Stimulants of Immune System. Proceedings of the 8th National Symposium "Medicinal Plants – Present and Perspectives", Piatra Neamț, p. 12-15 (ISBN: 973-8392-49-7)

Brevet RO, nr. 121677

Brevet RO, nr. 121678

Brevet RO, nr. 121679

Alina
Te
4

REVENDICĂRI

Procedeu biotehologic simplu, economic și eficient, destinat cultivării *in vitro* a macromicetelor din specia *Grifola frondosa*, **caracterizat prin aceea că**, în scopul valorificării subproduselor rezultate din procesele tehnologice de prelucrare a cerealelor din industria de morărit și panificație prin obținerea de biomasă fungică nutritivă pentru fabricarea unor suplimente alimentare, se cultivă această specie, în regim submersibil, pe un mediu nutritiv lichid, constituit din următoarele componente naturale: tărâțe de secară, în proporție de 25...35%, tărâțe de grâu, în proporție de 20...30%, semințe de orz, decorticate și germinate timp de 24...48 h și apoi măcinate foarte fin 15...20%, peptonă din soia 5...10%, drojdie de bere 1...5%, apă deionizată, în volum corespunzător realizării procentului total de 100% al soluției finale, pe baza raportului de echivalență volum-greutate, care se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 1000...5000 ml, se sterilizează la 121⁰C, timp de 15 min., se răcesc la temperatura de 25⁰C, se inoculează aseptice cu miceliu din culturi pure, se introduc în incubatoare, care asigură temperatura constantă de 23...25⁰C și viteza de agitare de 100...120 rpm, și se mențin o perioadă de timp de 10...14 zile, la sfârșitul căreia, rezultă o biomasă fungică, alcătuită din formațiuni sferice miceliene, care, în continuare, sunt separate de mediul lichid prin centrifugare, apoi sunt deshidratate lent și condiționate sub formă de granule cu dimensiuni de 0,1...0,5 mm.

2. Biomasă fungică a speciei *Grifola frondosa*, obținută prin aplicarea procedurii biotehnologice menționate, **caracterizată prin aceea că** se utilizează, ca atare, pentru producerea de suplimente alimentare cu valoare nutritivă ridicată având un conținut de proteine de 15...20% și de polizaharide totale de 10...15%.

