



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01049**

(22) Data de depozit: **03.11.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.12.2013** BOPI nr. **12/2013**

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

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA DIN PITEȘTI,**
STR. TÂRGU DIN VALE NR.1, PITEȘTI, AG,
RO

(72) Inventatori:
• **PETRE MARIAN,**
ALEEA CETATEA VECHĂ NR.2 A, BL.2 BIS,
SC.1, ET.4, AP.14, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;

• **TEODORESCU ALEXANDRU,**
STR. BANAT, BL. B 3, SC. A, AP. 15, PITEȘTI,
AG, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 121678 B1; RO 121718 B1

(54) **PROCEDEU DE CULTIVARE A MACROMICETELOR
DIN SPECIA *LENTINUS EDODES* ȘI BIOMASĂ FUNGICĂ
CU ROL ANTIOXIDANT**



RO 126279 B1

1 Inventția se referă la un procedeu biotehologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor
din specia *Lentinus edodes*, precum și la o biomasă cu rol antioxidant, care se obține prin
3 aplicarea acestui procedeu biotehologic.

5 Sunt cunoscute diverse procedee de cultivare submersibilă sau pe substraturi solide
a unor specii de macromicete, în instalații de creștere și dezvoltare dirijate prin sisteme com-
puterizate de conducere și control, pentru producerea de extracte sau suplimente cu rol
7 nutritiv și/sau terapeutic, ce prezintă numeroase dezavantaje prin faptul că:

- impun aplicarea unor procedee tehnologice energofage;
- 9 - utilizează un număr mare de aparate și instalații termice, electrice și electronice;
- necesită substraturi de cultivare preparate din materii prime și materiale auxiliare,
11 care determină creșterea costurilor de producție;
- produsul final obținut are un preț de comercializare extrem de ridicat.

13 **RO 121678 B1** se referă la un procedeu biotehologic, destinat cultivării *in vitro* a
macromicetelor din specia *Lentinula edodes*, pentru obținerea unei biomase fungice, cu
15 proprietăți imunomodulatoare, antitumorale și antiinfecțioase. Procedeu constă în cultivarea
macromicetelor aparținând acestei specii, în regim submers, pe un mediu nutritiv lichid, de
17 compoziție dată, mediul respectiv se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de
1000...5000 ml, iar vasele de cultivare sunt sterilizate la 121°C, se răcesc la temperatura de
19 25°C, se inoculează aseptice cu miceliu din culturi pure, se introduc în incubatoare care
asigură temperatura constantă de 23...25°C și viteza de agitare de 100...120 rpm, și se
21 mențin o perioadă de timp de 10...14 zile, la sfârșitul căreia rezultă o biomasă fungică,
alcătuită din formațiuni sferice miceliene, care sunt separate de mediul lichid prin
23 centrifugare, apoi sunt deshidratate lent și condiționate sub formă de granule cu dimensiuni
de 0,1...0,5 mm. Biomasa astfel obținută se utilizează în scop terapeutic, datorită
25 proprietăților sale imunomodulatoare, antitumorale și antiinfecțioase, determinate de
conținutul de beta-D-glucani, glicoproteine, galacto-gluco-manani și ergosteroli.

27 **RO 121718 B1** se referă la o metodă de producere a miceliului comercial de ciuperci
comestibile, din speciile *Lentinus edodes* și *Pleurotus ostreatus*. Metoda de producere a
29 miceliului comercial de ciuperci, conform invenției, utilizează medii nutritive constituite pre-
ponderent din deșeuri vegetale, rezultate în cursul proceselor de prelucrare agroindustrială,
31 care se aplică în agricultură și în vinificație, respectiv, a coardelor și a frunzelor de viță de
vie, precum și a tescovinei din struguri, substratul de creștere având în componență: frunze
33 și coarde de viță de vie, măcinate sub forma unor particule cu dimensiuni de 3...5 mm, în
proporție de 20...30%, în greutate, tescovină din struguri, deshidratată, 30...40%, în greutate,
35 tărâțe de orz și grâu, în raport de 1:2, în procent de 1...5%, în greutate, semințe de orz, în
stadiu incipient de germinare, 15...20%, în greutate, drojdie de bere 1...5%, în greutate, praf
37 de calcar 1...3%, în greutate, apă demineralizată, până la hidratarea completă, având
valoarea finală a indicelui de pH 6,0...6,5.

39 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în constă în stabilirea pașilor de
cultivare intensivă a macromicetelor din specia *Lentinus edodes*, pe medii nutritive alcătuite
41 din componente integrale naturale, pentru producerea de biomasă fungică, caracterizată prin
conținut ridicat de proteine 30...35%, de polizaharide totale 20...25% și de polifenoli cu
43 activitate antioxidantă 10...15%, raportat la greutatea uscată.

45 Procedeu conform invenției elimină dezavantajele menționate, prin aceea că, în scopul
obținerii unui supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată și având rol funcțional antioxidant,
se cultivă această specie pe un mediu nutritiv lichid, constituit din următoarele componente
47 naturale: tărâțe de orez în proporție de 15...20%, tărâțe de grâu în proporție de 10...15%, tărâțe
de ovăz 5...10%, drojdie de bere 1...5%, apă deionizată în volum corespunzător realizării

RO 126279 B1

procentului total de 100% al soluției finale, pe baza raportului de echivalență volum-greutate, care se transvazează în vase de cultivare, se sterilizează termic, se răcesc la temperatura camerei, se inoculează aseptice cu miceliu din culturi pure, se incubează în condiții în sine cunoscute și se mențin în fermentație submersibilă, o perioadă de timp de 5... 10 zile, la sfârșitul căreia rezultă o biomasă fungică, de culoare albă, care apoi se separă prin filtrare de faza lichidă a mediului de cultivare, iar sedimentul obținut se triturează prin mojarare, apoi se deshidratează lent în curent de aer cald, la o temperatură de 30...35°C și în final se condiționează sub formă de granule, cu dimensiuni de 0,1...0,5 mm, utilizabile pentru obținerea unor suplimente alimentare cu valoare nutritivă ridicată și rol funcțional antioxidant.

Biomasa fungică a speciei *Lentinus edodes*, reprezentată prin miceliul secundar dezvoltat la suprafața și în interiorul mediului de cultivare, precum și prin corpuri de fructificare cu aspect caracteristic, obținută prin aplicarea procedurii biotehnologice conform invenției, se utilizează ca atare, în scop alimentar și terapeutic, datorită conținutului ridicat de proteine 30...35%, de polizaharide totale 20...25% și de polifenoli cu activitate antioxidantă 10... 15%, raportat la greutatea uscată.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- reprezintă un procedeu biotehnologic simplu, economic și eficient, destinat cultivării controlate și intensive a speciei *Lentinus edodes*, pe medii nutritive constituite din componente integrale naturale, în vederea obținerii unor suplimente alimentare cu valoare nutritivă ridicată și rol funcțional antioxidant;

- 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 biotehnologice menționate, obținerea într-un timp foarte scurt a unor cantități sporite de biomasă fungică, al căror conținut în substanțe biologice active, cu proprietăți nutritive și terapeutice, este semnificativ mai mare, comparativ cu alte metode de cultivare întrebuintate până în prezent.

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

Pentru cultivarea macromicetelor din specia *Lentinus edodes*, se prepară un mediu nutritiv lichid, compus din următoarele componente integrale naturale:

- tărâțe de orez 20 kg;
- tărâțe de grâu 15 kg;
- tărâțe de ovăz 10 kg;
- drojdie de bere 5 kg;

- apă deionizată, până la obținerea a 100kg de soluție finală, pe baza raportului de echivalență volum-greutate.

Mediul nutritiv, astfel obținut, se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 5000 ml, care, ulterior, se sterilizează la 121°C, timp de 15 min. După răcire la temperatura de 25°C, acest mediu nutritiv natural se inoculează, în condiții de asepsie, utilizând rondele de miceliu cu un diametru de 1 mm, prelevate din culturi pure. Apoi, vasele de cultivare ce conțin mediul nutritiv inoculat cu miceliul prelevat din culturi pure se introduc în incubatoare, care asigură temperatura constantă de 25°C și viteza de agitare de 150 rpm, și se mențin astfel o perioadă de timp de 10 zile, în care se realizează fermentația submersibilă a mediului nutritiv, datorită activității enzimelor fungice.

La sfârșitul perioadei de cultivare, rezultă o biomasă fungică, de culoare albă, reprezentată prin miceliul secundar dezvoltat la suprafața și în interiorul mediului de cultivare, alcătuit din hife miceliene anastomozate, precum și corpuri de fructificare cu aspect caracteristic speciei *Lentinus edodes*. Biomasa fungică obținută se separă prin filtrare de faza lichidă a mediului de cultivare, iar sedimentul obținut se triturează prin mojarare, apoi se deshidratează

RO 126279 B1

1 lent în curent de aer cald, la o temperatură de 35°C și în final se condiționează sub formă de
3 granule, cu dimensiuni de 0,5 mm, utilizabile pentru obținerea unor suplimente alimentare
cu valoare nutritivă ridicată și rol funcțional antioxidant.

5 Biomasa fungică, reprezentată de miceliul secundar, precum și de corpurile de fructificare
7 ale speciei *Lentinus edodes*, obținută prin procedeul biotehnologic menționat, se utilizează
ca atare, în scop alimentar, sub formă de supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată,
caracterizat prin conținut ridicat de proteine 30...35%, de polizaharide totale 20...25% și de
polifenoli cu activitate antioxidantă 10... 15%, raportat la greutatea uscată.

1. Procedeu biotehologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor din specia *Lentinus edodes*, **caracterizat prin aceea că**, în scopul obținerii unui supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată și având rol funcțional antioxidant, se cultivă această specie pe un mediu nutritiv lichid, constituit din următoarele componente naturale: tărâțe de orez în proporție de 15...20%, tărâțe de grâu în proporție de 10...15%, tărâțe de ovăz 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, se sterilizează termic, se răcesc la temperatura camerei, se inoculează aseptice cu miceliu din culturi pure, se incubează în condiții în sine cunoscute și se mențin în fermentație submersibilă, o perioadă de timp de 5...10 zile, la sfârșitul căreia rezultă o biomasă fungică, de culoare albă, care apoi se separă prin filtrare de faza lichidă a mediului de cultivare, iar sedimentul obținut se triturează prin mojarare, apoi se deshidratează lent în curent de aer cald, la o temperatură de 30...35°C și în final se condiționează sub formă de granule, cu dimensiuni de 0,1...0,5 mm, utilizabile pentru obținerea unor suplimente alimentare cu valoare nutritivă ridicată și rol funcțional antioxidant. 3 5 7 9 11 13 15 17
2. Biomasă fungică a speciei *Lentinus edodes*, reprezentată prin miceliul secundar dezvoltat la suprafața și în interiorul mediului de cultivare, precum și prin corpuri de fructificare cu aspect caracteristic, obținută prin aplicarea procedeeului biotehologic definit la revendicarea 1, **caracterizată prin aceea că** se utilizează ca atare, în scop alimentar și terapeutic, datorită conținutului ridicat de proteine 30...35%, de polizaharide totale 20...25% și de polifenoli cu activitate antioxidantă 10...15%, raportat la greutatea uscată. 19 21 23

