



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

(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 *LENTINUS EDODES* ȘI BIOMASĂ FUNGICĂ CU ROL ANTIOXIDANT

#### (57) Rezumat:

Prezenta inventie se referă la un procedeu biotehnologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor din specia *Lentinus edodes* și la biomasa fungică a speciei *Lentinus edodes*, cu aplicații în industria alimentară și în terapie. Procedeul conform inventiei presupune cultivarea macromicetelor din specia *Lentinus edodes* pe un mediu nutritiv lichid, transvazarea în vase de cultivare, sterilizare la 121°C, timp de 15 min, răcire la 25°C, inocularea aseptică cu micelii din culturi pure, incubare la temperatură constantă de 23...25°C și

viteza de agitare de 100...150 rpm, menținere în fermentație submersibilă timp de 5...10 zile, cu obținerea unei biomase fungice de culoare albă care este separată de mediul de cultivare prin filtrare și sedimentul rezultat este triturat prin mojarare, se deshidratează lent în curent de aer cald la o temperatură de 30...35°C și se condiționează sub formă de granule cu dimensiuni de 0,1...0,5 mm.

Revendicări: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



## PROCEDU DE CULTIVARE A MACROMICETELOR DIN SPECIA *LENTINUS EDODES* ȘI BIOMASĂ FUNGICĂ CU ROL ANTIOXIDANT

Invenția se referă la un procedeu biotehnologic de cultivare *in vitro* a macromicetelor din specia *Lentinus edodes*, 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.

Mediul nutritiv, astfel obținut, se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 1000...5000 ml, care, ulterior, se sterilizează la 121<sup>0</sup>C, timp de 15 min., se răcesc la temperatura de 25<sup>0</sup>C, se inoculează aseptic cu miceliu din culturi pure, se introduc în incubatoare, care asigură temperatură constantă de 23...25<sup>0</sup>C și viteza de agitare de 100...150 rpm, și se mențin, în acest mod, timp de 5...10 zile, după care se păstrează în incinta acelorași incubatoare și la aceeași temperatură constantă timp de 10... 15 zile fără agitare, după care apar corpurile de fructificare ale acestei specii de macromicete cu o morfologie specifică.

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, alcătuite din hife miceliene anastomozate, precum și corpuri de fructificare cu aspectul 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 lent în curent de aer cald, la o temperatură de 30...35<sup>0</sup>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, reprezentată de miceliul secundar și corpurile de fructificare ale speciei *Lentinus edodes*, ce a fost obținută prin procedeu 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.

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

|  |
|--|
| OFICIUL DE STAT PENTRU INVENTII ȘI MĂRCI |
| Cerere de brevet de inventie             |
| Nr. a 2010 01049                         |
| Data depozit 03 -11- 2010                |

computerizate de conducere și control, pentru producerea de extracte sau suplimente cu rol nutritiv și/sau terapeutic, ce prezintă numeroase dezavantaje prin faptul că:

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

Scopul invenției este acela de a obține un supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată și având rol funcțional în reglarea metabolismului uman, constituit din biomasa fungică aparținând speciei *Lentinus edodes*, prin cultivare intensivă *in vitro*, pe medii nutritive constituite din componente organice naturale, prin utilizarea unui procedeu simplu, ieftin și eficient, aplicabil în industria alimentară.

Problema pe care o rezolvă invenția se referă la cultivarea intensivă a macromicetelor din specia *Lentinus edodes*, pe medii nutritive, alcătuite din componente integral naturale, pentru producerea de biomasă fungică, caracterizată prin conținut ridicat de proteine 30...35%, de polizaharide totale 20...25% și de polifenoli cu activitate antioxidantă 10...15%, raportat la greutatea uscată.

Procedeul, conform invenției, elimină dezavantajele menționate, prin aceea că, în scopul obținerii unui supliment alimentar cu valoare nutritivă ridicată, reprezentat de biomasa fungică aparținând speciei *Lentinus edodes*, utilizează medii de cultivare, compuse din ingrediente complet naturale, care asigură desfășurarea unor procese fermentative induse de enzimele fungice, prin care sunt sintetizate substanțe biologic active, cu rol în reglarea proceselor metabolice umane, în timp mult mai scurt și cu eficiență economică sporită, comparativ cu procedeele utilizate în prezent, la nivel mondial.

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

Pentru cultivarea macromicetelor din specia *Lentinus edodes* se prepară un mediu nutritiv lichid, compus din următoarele componente integral 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 echivalentă volum-greutate. Mediul nutritiv, astfel obținut, se transvazează în vase de cultivare cu o capacitate de 1000...5000 ml, care, ulterior, se sterilizează

*M. Petru  
An 2*

la  $121^{\circ}\text{C}$ , timp de 15 min. După răcire la temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , 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. Apoi, vasele de cultivare ce conțin mediul nutritiv inoculat cu miceliul prelevat din culturi pure se introduc în incubatoare, care asigură temperatură constantă de  $23\ldots 25^{\circ}\text{C}$  și viteza de agitare de 100...150 rpm, și se mențin astfel o perioadă de timp de 5...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 suprafață 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 lent în curent de aer cald, la o temperatură de  $30\ldots 35^{\circ}\text{C}$  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, reprezentată de miceliul secundar, precum și de corpurile de fructificare ale speciei *Lentinus edodes*, obținută prin procedeul biotecnologic 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.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- utilizează un procedeu biotecnologic simplu, economic și eficient, destinat cultivării controlate și intensive a speciei *Lentinus edodes*, pe medii nutritive constituite din componente integral 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 procedeului biotecnologic menționat, 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 întrebuințate până în prezent



The image shows two handwritten signatures and a number. The first signature, on the left, appears to be "Mihai". The second signature, on the right, appears to be "Doru". Below the signatures is the number "3".

2010 - 01049 --  
03 -11- 2010

### Referințe bibliografice

Brevet RO, nr. 97180

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

PETRE, M., 2002. Biotehnologii pentru degradarea și conversia microbiană a constituentilor vegetali. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 140-185 (ISBN: 973-30-2295-0)

PETRE, M., PETRE V., 2003. Medicinal Mushrooms Used as Natural Adaptogens and Stimulants of Immune System. In: Proc. the 8<sup>th</sup> Natl. Symp. "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

Mihai  
Alin  
4

## REVENDICĂRI

1. Procedeu biotehnologic simplu, economic și eficient, destinat cultivării intensive controlate 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, constituit din biomasa fungică aparținând speciei *Lentinus edodes*, 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 la  $121^0\text{C}$ , timp de 15 min., se răcesc la temperatura de  $25^0\text{C}$ , se inoculează aseptic cu miceliu din culturi pure, se introduc în incubatoare, care asigură temperatură constantă de  $23...25^0\text{C}$  și viteza de agitare de 100...150 rpm, și se mențin într-o perioadă de fermentație submersibilă, timp de 5...10 zile, la sfârșitul căreia rezultă o biomă fungică, de culoare albă, care apoi se separă prin filtrare de fază 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  $30...35^0\text{C}$  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.

2. Biomă fungică a speciei *Lentinus edodes*, reprezentată prin miceliul secundar dezvoltat la suprafață și în interiorul mediului de cultivare, precum și prin corpuri de fructificare cu aspect caracteristic, caracterizat prin aceea că se obține prin aplicarea procedeului biotehnologic menționat și 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

*M. Mălin  
An*