



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00592

(22) Data de depozit: 13.08.2012

(41) Data publicării cererii:
30.05.2014 BOPI nr. 5/2014

(71) Solicitant:

- **NICULAE DUMITRU**,
STR.RODUL PĂMÂNTULUI NR.2, BL.P1,
SC.C, ET.3, AP.45, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **TUDOR IOANA**,
ALEEA SLT.ADRIAN CÂRSTEA NR.1,
BL.30B, AP.77, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **FITI ALEXANDRU**,
STR. PROF. DR. DIMITRIE GRECESCU
NR. 16, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- **AXINTE SORIN MIRCEA**,
BD. ION MIHALACHE NR.40, BL.33B,
AP.10, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **COVIC PAUL SORIN**, CALEA GRIVIȚEI
NR. 399, BL. O, ET. 9, AP. 35, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **PATRAHAU VASILE**,
STR. PRINCIPATELE UNITE NR.23,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- **APOLZAN ROXANA**,
STR. VIRGIL MADGEARU NR. 22, ET. 3,
AP. 3, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **COSMULESCU FELICIA**, STR. SERBOTA
NR 1, BL. V19, SC. 1, ET. 8, AP. 159,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- **NICULAE DUMITRU**,
STR.RODUL PĂMÂNTULUI NR.2, BL.P1,
SC.C, ET.3, AP.45, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **TUDOR IOANA**,
ALEEA SLT. ADRIAN CÂRSTEA NR.1,
BL.30B, AP.77, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **FITI ALEXANDRU**,
STR. PROF. DR. DIMITRIE GRECESCU
NR. 16, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- **AXINTE SORIN MIRCEA**,
BD. ION MIHALACHE NR.40, BL.33B,
AP.10, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **COVIC PAUL SORIN**, CALEA GRIVIȚEI
NR. 399, BL. O, ET. 9, AP. 35, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **PATRAHAU VASILE**,
STR.PRINCIPATELE UNITE NR.23,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- **APOLZAN ROXANA**,
STR. VIRGIL MADGEARU NR E. 22, ET. 3,
AP. 3, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **COSMULESCU FELICIA**, STR. SERBOTA
NR 1, BL. V19, SC. 1, ET. 8, AP. 159,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **TEHNOLOGIE PENTRU PRODUS MICELIU DE CIUPERCI CU
AJUTORUL MICROUNDDELOR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu pentru producerea miceliului de ciuperca care este obținut în condiții sterile de laborator și care, pentru a reproduce ciuperca din care a provenit, este plasat într-un microclimat optim. Tehnologia conform invenției cuprinde efectuarea dezinfectării/sterilizării cerealelor sortate, prespălate și

preînmuiate cu ajutorul unui câmp de microunde, realizând un grad de încălzire a suportului/substratului introdus în saci la o temperatură de 40...80°C, pe o durată de 10...15 min.

Revendicări: 1

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 invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



TEHNOLOGIE PENTRU PRODUS MICELIU DE CIUPERCI CU AJUTORUL MICROUNDELOR

Autori : NICULAE Dumitru, TUDOR Ioana, FITI Alexandru, AXINTE Sorin, COVIC Paul, PATRAHAU Vasile, APOLZAN Roxana, COSMULESCU Felicia

Descrierea inventiei

Pregatirea sau producerea miceliului de ciuperci prevede mai multe faze de lucru ce se desfasoara unele in zone nesterile si altele in zone sterile sau aseptice.

Miceliul este un sistem de filamente subțiri și ramificate care alcătuiesc aparatul vegetativ al majorității ciupercilor, care pentru cultura ciupercilor se materializeaza într-un preparat biologic, numit miceliu comercial, ce se obține în condiții sterile de laborator și care, plasat într-un microclimat optim, poate reproduce ciuperca din care a provenit: specia, tulpina sau hibridul respectiv.

Faza preliminara de pregatire a suportului / substratului de crestere pentru miceliu, consta in sterilizarea lui inainte de inoculare, urmata de mentinerea la incubare o anumita perioada de timp.

Suportul / substratul pentru producerea miceliului comercial cel mai frecvent utilizat este cel pe semințe de cereale precum : grâu, orz, ovăz, secară, porumb, mei, sorg, dar și pe coji de floarea soarelui, rumeguș de lemn, paie, dopuri sau dibluri de lemn, așchii de lemn.

Se poate produce miceliu comercial si pe mediu de cultura sub formă lichidă.

Miceliul comercial produs pe paie este recomandat pentru speciile de ciuperci ce cresc pe paie precum *Stropharia r.a.*, *Volvariella volvacea* ș.a. Miceliul produs pe suport lignicol este recomandat pentru speciile lignicole cum ar fi *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* ș.a.

Miceliul comercial produs pe diferite cereale se pretează atat pentru speciile de ciuperci ce cresc pe compost cat și pentru cele ce cresc pe suporturi lignocelulozice.

Alegerea corectă a materiilor prime pentru substrat este esențială pentru producerea de miceliu comercial de calitate. Cea mai mare cantitate de miceliu comercial se produce pe semințe de secară. Grâul este al doilea material ca frecvență de utilizare. Acesta inasa este sensibil la crăpare în timpul fierberii, eliminand amidonul și devenind lipicios, cleios, motiv pentru care nu este recomandat pentru miceliu.

Se recomandă să fie folosit cu preponderență orzul care nu crapă la fiert, sau meiul. De asemenea mai este recomandat porumbul, care conține un endosperm mare, nu este afectat de fungi și dăunători și nu conține impurități.

Ca înlocuitor a cerealelor pentru producerea de miceliu comercial, se poate folosi perlit expandat amestecat cu diferite proporții de cereale.

Semințele de cereale (recomandabil ca semințele să provină din același an), se selectează pentru a se îndepărta boabele sparte, impuritățile, semințele de alte specii, praful, cele afectate de daunatori etc.

Spălarea cerealelor se face la curent continuu de apă rece, prin agitarea cu ajutorul unei sface sau lopeti de lemn perforate, până când apa de spalare rămâne curată. Printr-o bună spălare, o mare parte din competitori sunt îndepărtați.

În tehnologiile conventionale, după spălare, cerealele se scurg de apă și se trec în vasele de fierbere, ce pot fi marmite sau cazane duplex, în funcție de capacitatea procesată. În cazanul duplex fierberea se face cu ajutorul aburului, acesta având pereții dubli. Fierberea se recomandă să fie cât mai uniformă. În funcție de capacitatea vasului fierberea poate dura 15 sau 45 minute.

Verificarea fierberii se poate face simplu prin strângerea unor boabe între degete, după care boabele trebuie să nu se compacteze și să nu se lipească între ele, ci să curgă printre degete.

După fierbere și scurgerea de surplusul de apă, semințele se lasă la răcit, în tăvi de aluminiu sau de inox, iar pentru cantități mari acestea se pot raci într-un malaxor.

Se adaugă apoi amendamentele și se face omogenizarea compoziției.

Ca amendamente se adaugă: 10% sulfat de calciu sau ipsos și 2 - 3 % carbonat de calciu sau creta furajeră. Ca aport de proteină se poate adăuga 4 - 5% făină de soia. Acestea trebuie să fie omogenizate uniform, toate boabele să fie acoperite cu pulberea albă rezultată, pentru a nu se compacta și a nu forma glomerule. Prin acoperirea cu calciu, între boabe rămâne un spațiu prin care circulă aerul și care permite miceliului să respire și să crească pe o suprafață cât mai mare. Mediul de cultură va avea un pH neutru, ușor alcalin, de 7 - 7,2.

Spatiul de pregătire se recomandă să fie prevăzut cu toate utilitățile și compartimentat pe flux tehnologic.

Recipientii pentru produs miceliu comercial pot fi saculeți sau pungi de diferite capacități, din material rezistent la temperatura de sterilizare de **120 - 130 °C**, în care se introduce suportul / substratul format din semințele de cereale sterilizate și amendamentate, în vederea inoculării cu inocul.

Din analize, s-au depistat pe un gram de semințe de cereale între 43 - 109.000 de bacterii, 228.000 actinomicete și 120.000 spori de ciuperci micromicete, care pot produce diferite mușegăiuri. S-a determinat că pentru producerea unei cantități de 1g miceliu comercial trebuie distruse prin sterilizare 100 mii de microorganisme, reprezentate de spori de bacterii și de ciuperci.

În tehnologia convențională de producere a miceliului, sterilizarea se realizează pe baza de abur de înaltă presiune, cu timp de menținere diferit în funcție de specia de ciuperci și de cantitatea de suport introdusă în recipient. Temperatura de sterilizare este de **130 °C** cu timp de menținere de **2 - 4 ore**, în total **5 - 6 ore**.

Procedeele sunt greoi și se prelungesc în timp, deoarece durează până se ajunge la temperatura de sterilizare, iar după expirarea timpului de sterilizare se parcurge de asemenea o perioadă de cca 2 ore, pentru răcirea lentă a recipientilor cu suport / substrat, pentru a nu se acumula condens în interiorul acestora. În autoclavele în care se practică sterilizarea, recipientii sunt așezați pe diferite nivele, pentru o ocupare cât mai eficientă a spațiului și sunt obligatorii verificările privind o bună sterilizare la toate nivelele autoclavei. Se recomandă autoclavele pentru sterilizare deoarece funcționează pe baza de abur care circulă prin pereții lor dubli, în scopul de a nu se usca suportul.

Miceliul de ciuperci comercial este constant în ceea ce privește calitatea, are termen de păstrare lung de aproape 3 luni la 2 °C, are vigoare, se folosește ca normă de 0,5 - 5 %, are rezistență mare la condițiile externe în timpul creșterii în substrat, este competitiv cu microflora bacteriană și fungică și produce ciuperci de calitate, culoare, formă și densitate, identice.

Tehnologia noua propusa pentru producerea de miceliu comercial, realizeaza dezinfectarea / sterilizarea cerealelor sortate, presalate si preinmuiate, cu ajutorul campului de microunde, fara a realiza un grad ridicat de incalzire a suportului si deci cu un consum redus de energie si in timp semnificativ mai scurt.

Energia microundelor, cu ajutorul careia se realizeaza procesul de dezinfectie / sterilizare a suportului / substratului de cereale, este furnizata de generatoare de microunde si antene de radiatie.

Energia microundelor furnizata de sursele de microunde are frecventa de 2450 MHz, frecventa alocata pentru aplicatii **Industriale, Stiintifice si Medicale** (banda **ISM**) pentru Romania.

Procesul de dezinfectie / sterilizare are la baza absorbtia energiei microundelor in suportul / substratul de cereale si conversia acesteia in caldura, datorata fenomenului de polarizare de orientare - reorientare a moleculelor polare de apa in campul de microunde cu frecventa de 2450 MHz.

In acest fel, suportul / substratul de cereale introdus in saci / pungi de polipropilena, se incalzeste rapid si uniform in toata masa pana la o temperatura de dezinfectie / sterilizare de **40 - 80 °C** (sau pana la alte temperaturi de dezinfectie / sterilizare, in functie de caracteristicile suportului).

Temperatura procesului de dezinfectie / sterilizare este masurata continuu cu ajutorul unor termocuple fixate in masa de suport de cereale din instalatia de dezinfectie / sterilizare cu microunde, termocuplele fiind conectate la sistemul electric de comanda – automatizare.

Procesul de dezinfectie / sterilizare cu microunde, conduce la obtinerea unui suport / substrat de cereale, bine dezinfectat / sterilizat, fara posibilitatea infectarii tehnologice cu fungi concurenti, levuri sau bacterii, care elimina folosirea ulterioara a chimicalelor in productia de ciuperci. Procesul de dezinfectie / sterilizare cu microunde se realizeaza pe o durata de timp redusa la **10 – 15 minute** comparativ cu **5 – 6 ore** in cazul sterilizarii conventionale la autoclav. De asemenea consumul de energie este redus, spatiul tehnologic este de cca 10 ori mai mic decat in cazul instalatiilor conventionale, iar interventia operatorilor este minima.

Dupa racirea suportului / substratului de cereale dezinfectat / sterilizat introdus in saci / pungi de polipropilena, acesta va fi trecut intr-o boxa sterila unde se face inocularea fiecarui recipient. Cantitatea de inocul ce se utilizeaza este de cca **2 – 3 %**, sau **20 - 30 g / kg** de suport / substrat de cereale, dupa care recipientii din folie de polipropilena se sigileaza prin lipire la cald si sunt trecuti la incubare. Incubarea va avea loc in camere speciale termostatate la temperatura de 22 - 24 °C, umiditatea relativa a aerului de 70%, sub flux de ventilatie, cu filtru HEPA la admisia de aer. Incubarea sau cresterea miceliului in aceste camere termostat se desfasoara pe o perioada de 14 - 21 zile sau pana la 35 zile, in functie de specia de ciuperci.

REVENDICARI

Tehnologia pentru produs miceliu de ciuperci cu ajutorul microundelor, asa cum este prezentata in Descrierea inventiei, caracterizata prin aceea ca realizeaza dezinfectarea / sterilizarea suportului / substratului format din cereale sortate, presalate si preinmuiate, **cu ajutorul campului de microunde**, fara a realiza un grad ridicat de incalzire a suportului si deci cu un consum redus de energie si in timp semnificativ mai scurt.