



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00989**

(22) Data de depozit: **28/11/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2020 BOPI nr. **6/2020**

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

(72) Inventatori:
• **PETRE MARIAN,**
ALEEA CETATEA VECHE NR.2 A, BL.2 BIS,
SC.1, ET.4, AP.14, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• **POPESCU ȘTEFAN, NR. 509,**
COMUNA BOȚEȘTI, AG, RO

(54) **METODĂ BIOTEHNOLOGICĂ DE CREȘTERE
A UNOR CIUPERCII MEDICINALE PE DEȘEURI POMICOLE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere biomasă miceliană pentru prepararea de suplimente alimentare cu valoare nutritivă și terapeutică. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de preparare a unui mediu de creștere a ciupercilor medicinale, din speciile *Ganoderma applanatum* și *Fomes fomentarius*, format din deșeuri de fructe de măr, prun și cireș, rezultate din prelucrarea acestora în fabricarea conservelor, tărâțe de orz ecologic, praf de calcar și apă demineralizată,

având un pH de 6...6,5, sterilizarea prin autoclavare, la 121°C, timp de 20 min, răcire, după care se inoculează cu fragmente de miceliu din culturile pure ale speciilor de ciuperci, cu menținere timp de 24...72 h la temperatura de 23...25°C, apoi se cultivă în vase de cultură și se colectează aseptice biomasă miceliană în vederea prelucrării ulterioare.

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).



21

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2018 ee 989
Data depozit 28.11.2018..

METODĂ BIOTEHNOLOGICĂ DE CREȘTERE A UNOR CIUPERCI MEDICINALE PE DEȘEURI POMICOLE

Invenția se referă la o metodă biotehologică de cultivare controlată a ciupercilor medicinale, de preferință, din speciile *Ganoderma applanatum* și *Fomes fomentarius*, pentru obținerea de biomasă miceliană, necesară producerii de suplimente alimentare, cu valoare nutritivă și terapeutică.

Domeniul tehnic la care se referă prezenta invenție este cel al biotehnologiilor de obținere a miceliului pur aparținând unor specii fungice selecționate, destinat producției de suplimente alimentare.

Stadiul actual al tehnicii se referă la diferite procedee de cultivare a numeroase specii de ciuperci comestibile și medicinale, care prezintă anumite dezavantaje, deoarece nu asigură integral condițiile de asepsie totală, impuse de tehnologia creșterii și multiplicării miceliului de ciuperci medicinale pentru producerea de biomasă fungică, existând un risc permanent de contaminare a mediului de cultivare, și nu permit cultivarea controlată prin monitorizarea riguroasă și permanentă a parametrilor fizico-chimici de cultivare submersibilă, costurile de producție ale acestor tehnologii fiind semnificativ mai mari decât cele specifice procedului descris de această invenție. De asemenea, sunt cunoscute numeroase procedee pentru cultivarea unor specii de ciuperci comestibile și medicinale pe diverse substraturi nutritive, care conțin ingrediente preponderent sintetice, și a căror producere necesită utilaje neperformante din punct de vedere tehnic, energofage și ineficiente economic, comparativ cu metoda de obținere a unei biomase miceliene cu rol terapeutic, ce constituie obiectul prezentei invenții.

Astfel, ținând cont de problema tehnică destinată rezolvării și de soluția propusă prin prezenta invenție, au fost selectate ca fiind relevante următoarele documente:

- D1. KR20010070847 A - care se referă la compoziția unui mediu de cultivare a ciupercilor din genurile *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Flammulina* și *Lentinus*, ce conține germeni de porumb, melasă fermentată condensată, biostone, turmalină și sulfat de zinc.
- D2. JP2001103837 A - care descrie o metodă de cultivare a ciupercilor comestibile din speciile genurilor *Pleurotus* și *Flammulina* pe un mediu compus din tărâțe de grâu, de orez și de porumb.
- D3. RO126278 A - ce se referă la un procedeu de cultivare a macromicetelor din specia *Ganoderma lucidum* pentru obținerea unei biomase nutritive.

Analizând documentele menționate, se poate observa că mediul de cultivare a ciupercilor, prezentat în descrierea prezentei invenții diferă de cel inclus în D1, considerat ca fiind documentul cel mai apropiat de invenția revendicată, prin faptul că se utilizează materii prime ecologice de obținere a mediului optim pentru cultivarea ciupercilor în scopul obținerii unei biomase nutritive. Totodată, se constată că față de D1, D2 și D3, deși componentele din mediile de cultivare sunt cunoscute, rapoartele lor de asociere nu se regăsesc în aceste documente.

Problemele tehnice obiectivă pe care le rezolvă invenția se referă, în primul rând, la obținerea de biomasă fungică, microbiologic pură 100%, prin cultivarea submersibilă controlată a unor specii de ciuperci medicinale, pe substraturi de creștere constituite din materii prime naturale, în al doilea rând, la eliminarea oricăror surse potențiale de producere a unor infecții ale substraturilor de cultivare, care pot compromite în totalitate producția de biomasă miceliană, iar în al treilea rând, la asigurarea unui ciclu continuu de producție, în condiții de înaltă calitate și siguranță alimentară, comparativ cu celelalte procedee utilizate până în prezent.

Metoda de obținere a unei biomase fungice nutritive prin cultivare submersibilă controlată, conform invenției, se desfășoară pe parcursul mai multor etape, prin utilizarea unor culturi pure de ciuperci medicinale, de preferință, din speciile *Ganoderma applanatum* și *Fomes fomentarius*. În prima etapă, se prepară mediul nutritiv de creștere a ciupercilor din speciile menționate, prin utilizarea exclusivă de ingrediente naturale, după cum urmează: deșeuri ale fructelor de măr, prun și cireș, rezultate din prelucrarea acestora în fabricarea conservelor, 30...40%, tărâțe din orz ecologic, 20...30%, praf de calcar 3...5%, apă demineralizată până la 100%, valoarea finală a indicelui pH fiind între 6...6,5. Toate aceste componente naturale se amestecă prin agitare orbitală, astfel încât să rezulte o soluție coloidală omogenă, apoi se transvazează în recipiente din sticlă, cu capacitatea de 1...1,5 litri, se sterilizează prin autoclavare, la 121 °C, timp de 20 min., iar după răcire la temperatura camerei se inoculează cu fragmente de miceliu, prelevate aseptice din culturile pure ale speciilor de ciuperci menționate și se păstrează timp de 24...72 ore la temperatura de 23...25 °C pentru declanșarea procesului de creștere a miceliului.

În etapa imediat următoare, mediul nutritiv inoculat se transvazează aseptice în vase de cultivare din sticlă, cu capacitatea de 500 mL, sterilizate în prealabil prin autoclavare și conectate la un incubator orbital, care asigură conducerea și controlul în timp real al procesului de creștere a miceliului aparținând speciilor de ciuperci menționate, pentru obținerea de biomasă fungică

constituită din miceliul acestor ciuperci, sub formă de pelete fungice. Pe parcursul unei perioade de 5...7 zile a procesului de creștere submersibilă controlată a miceliului ciupercilor menționate, în vasele de cultivare se mențin la valori constante următorii parametri fizico-chimici: temperatura, 23...25 °C, indicele pH 6...7, viteza de agitare, 50...70 rpm.

La finalul ciclului de creștere a biomasei miceliene, se colectează aseptice din vasele de cultivare întreaga cantitate de miceliu, sub formă de pelete fungice, și se transvazează aseptice pentru stocare într-un rezervor sterilizat în prealabil, din care, apoi biomasa colectată se separă de mediul lichid prin filtrare dirijată, cu ajutorul unei pompe de vacuum și a unui filtru Seitz, iar apoi se prelucurează pentru producerea de suplimente alimentare cu rol terapeutic.

Metoda, conform invenției, înlătură dezavantajele altor procedee menționate anterior, prin faptul că asigură obținerea de biomasă fungică, sub formă de miceliu dezvoltat în mediu lichid, prin cultivarea unor specii de ciuperci, de preferință din speciile menționate, pe substraturi integrale naturale, în condiții strict controlate, atât sub aspect fizico-chimic, cât și microbiologic.

În raport cu stadiul actual al tehnicii, metoda ce constituie obiectul acestei invenții prezintă următoarele avantaje:

- asigură obținerea de biomasă fungică, sub formă de miceliu dezvoltat în mediu lichid, prin creșterea controlată de culturi pure ale speciilor de ciuperci menționate pe substraturi de cultivare 100% naturale;
- reprezintă o modalitate simplă, economică și eficientă economic, de valorificare integrală a subproduselor rezultate din prelucrarea industrială a cerealelor, pentru obținerea de biomasă fungică, prin cultivarea de ciuperci medicinale;
- asigură producerea într-un interval de timp extrem de scurt a unor cantități de biomasă miceliană cu o compoziție permanent constantă, având puritate microbiologică 100%

În continuare, se prezintă un exemplu de realizare a invenției.

Conform metodei, în prima etapă, se prepară mediul de creștere a ciupercilor medicinale, de preferință, din speciile *Ganoderma applanatum* și *Fomes fomentarius*, compus din următoarele ingrediente naturale, după cum urmează: deșeuri ale fructelor de măr, prun și cireș, rezultate din prelucrarea acestora în fabricarea conservelor, 30...40%, tărâțe din orz ecologic, 20...30%, praf de calcar 3...5%, apă demineralizată până la 100%, valoarea finală a indicelui pH fiind între 6...6,5, apoi se transvazează în recipiente din sticlă, cu volumul de 1...1,5 litri, se sterilizează prin autoclavare, la 121 °C, timp de 20 min., iar după răcire la temperatura camerei

se inoculează cu fragmente de miceliu, prelevate aseptice din culturile pure ale ciupercilor menționate și se incubează 24...72 ore la temperatura de 23...25 °C, pentru declanșarea procesului de creștere a miceliului. Apoi, mediul nutritiv inoculat se transvazează aseptice în vase de cultivare din sticlă, cu capacitatea de 500 mL, sterilizate în prealabil prin autoclavare și conectate la un incubator orbital, care asigură conducerea și controlul în timp real al procesului de creștere a miceliului aparținând speciilor de ciuperci menționate, pentru obținerea de biomasă fungică constituită din miceliul acestor ciuperci, sub formă de pelete fungice. Pe parcursul unei perioade de 5...7 zile a procesului de creștere submersibilă controlată a miceliului ciupercilor menționate, în vasele de cultivare se mențin la valori constante următorii parametri fizico-chimici: temperatura, 23...25 °C, indicele pH 6...7, viteza de agitare, 50...70 rpm. La finalul ciclului de creștere a biomasei miceliene, se colectează aseptice întreaga cantitate de miceliu, sub formă de pelete fungice, se transvazează aseptice pentru stocare într-un rezervor, iar apoi întreaga biomasă miceliană se separă de mediul lichid prin filtrare dirijată, cu ajutorul unei pompe de vacuum și a unui filtru Seitz, și se prelucrează pentru producerea de suplimente alimentare, cu rol terapeutic.

Biomasa miceliană obținută prin metoda menționată se utilizează fie ca atare, sub formă de pulbere deshidratată, fie, prin prelucrare ulterioară, sub forma unor suplimente alimentare, cu valoare terapeutică

REVENDICARE

1. Metodă biotehnologică destinată obținerii de biomasă miceliană, prin cultivare submersibilă controlată a ciupercilor medicinale, de preferință, din speciile *Ganoderma applanatum* și *Fomes fomentarius*, conform invenției, **caracterizată prin aceea că se prepară un mediu de creștere a ciupercilor menționate, compus din următoarele ingrediente naturale, după cum urmează:** deșeuri ale fructelor de măr, prun și cireș, rezultate din prelucrarea acestora în fabricarea conservelor, 30...40%, tărațe din orz ecologic, 20...30%, praf de calcar 3...5%, apă demineralizată până la 100%, valoarea finală a indicelui pH fiind între 6...6,5, apoi se transvazează în recipiente din sticlă, cu capacitatea de 1...1,5 litri, se sterilizează prin autoclavare, la 121 °C, timp de 20 min., iar după răcire se inoculează cu fragmente de miceliu, prelevate aseptice din culturile pure ale speciilor de ciuperci menționate și se mențin timp de 24...72 ore la temperatura de 23...25 °C, apoi se transvazează aseptice în vase de cultivare de 500 mL, sterilizate în prealabil prin autoclavare, menținându-se la valori constante, timp de 5...7 zile, următorii parametri fizico-chimici: temperatura , 23...25 °C, indicele pH 6...7, viteza de agitare, 50...70 rpm, iar la finalul ciclului de cultivare se colectează aseptice întreaga cantitate de biomasă miceliană, se transvazează aseptice într-un rezervor, se separă de mediul lichid prin filtrare și se prelucrează pentru producerea de suplimente alimentare cu rol terapeutic