



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2023 00691**

(22) Data de depozit: **15/11/2023**

(41) Data publicării cererii:  
**30/04/2024** BOPI nr. **4/2024**

(71) Solicitant:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **CONSTANTINESCU-ARUXANDEI DIANA,  
ȘOS.MIHAI BRAVU, NR.297, BL.15A, SC.A,  
ET.1, AP.5, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **MORARU ANGELA, STR. PETRICANI  
NR. 1R, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **DIMITRIU LUMINIȚA, ALEEA BARAJULUI  
BICAZ, NR.9, BL.M31, SC.B, ET.2, AP.408,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **CONSTANTIN ANDREEA ECATERINA,  
STR.MIHAI EMINESCU, NR.17, ET.8, AP.42,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **TRITEAN NAOMI, STR.PERFEȚIONĂRII,  
NR.11, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **DIMA ȘTEFAN-OVIDIU, STR. ODOBEȘTI  
NR. 5B-5C, BL. M7-M7B, SC. B, ET. 6,  
AP. 72, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **PROCEDEU DE STIMULARE A FORMĂRII DE BIOPOLIMERI  
ÎN BIOFILMELE CONSORȚIILOR SIMBIOTICE DE DROJDII  
ȘI BACTERII**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a biopolimerilor celuloză și dextran din biofilmele unor consorții simbiotice de drojdii și bacterii. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: preparare a mediilor de cultură pentru Komucha sau kefir-de-apă, respectiv, a unei infuzii de suspensii de ceai verde sau negru în apă, îndulcită cu zahăr, la care se adaugă o felie de lămâie, inocularea mediilor cu infuzie îndulcită cu biofilm/ peliculă de cultură de Komucha sau biofilm/ granule de kefir în apă, adăugarea unui extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, având

activitate antioxidantă, exprimată ca IC50 de 2 mg/ml, cultivarea consorțiului Komucha sau kefir-de-apă, timp de 10 zile sau 3 zile la temperatura de 21...25°C, recoltarea aseptică a biofilmului/peliculei de Komucha/ granulei de kefir, prelevarea a 2/3 din cantitatea de biofilm pentru prelucrare în vederea obținerii biopolimerilor, celuloză sau dextran și utilizarea restului de biofilm pentru reluarea ciclului de producție

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).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2023 00691
Data depozit .....	15 -11- 2023

RO 138119 A0

24

## PROCEDEU DE STIMULARE A FORMĂRII DE BIOPOLIMERI ÎN BIOFILMELE CONSORȚIILOR SIMBIOTICE DE DROJDII ȘI BACTERII

Prezenta invenție se referă la un procedeu de stimulare a formării biopolimerilor, celuloză sau dextran, în biofilmele unor consorții simbiotice de drojdii și bacterii.

Sunt cunoscute procedee prin care se obțin biopolimeri, celuloză sau dextran, din biofilmele specifice unor consorții simbiotice de drojdii și bacterii. Exemple de astfel de consorții sunt consorțiile de Kombucha și de kefir-de-apă (water-kefir). Consorțiile Kombucha sunt formate din două tipuri de bacterii producătoare de acizi organici (bacterii acetice și bacterii lactice) și din drojdii osmofile (Villarreal-Soto, Beaufort et al. 2018). Bacteriile acetice sunt cele care produc pelicula de celuloză bacteriană (Tran, Grandvalet et al. 2020). Această peliculă de celuloză este edificată pe un suport inițial, constituit de o rețea pseudo-hifală a drojdiilor osmofile (Tran, Grandvalet et al. 2021). Drojdiile sunt înglobate în pelicula de celuloză, care devine astfel mai expandată (Tran, Grandvalet et al. 2021). În consorțiile Kombucha există o varietate de specii de drojdii (Villarreal-Soto, Beaufort et al. 2018). Consorțiile de kefir-de-apă sunt constituite tot din cele două tipuri de bacterii producătoare de acizi organici (bacterii acetice și bacterii lactice) și din drojdii. În cazul kefirului de apă biopolimerul suport este dextran /  $\alpha$ 1,6-glucan, produs de către *Lactobacillus hilgardii* (Fels, Jakob et al. 2018), iar speciile de drojdii sunt dominate de *Sacharomyces cerevisiae* (Lynch, Wilkinson et al. 2021).

Celuloza din Kombucha este o sursă de nanoceluloză cu proprietăți superioare celei obținute din plante (Dima, Panaitescu et al. 2017). Nanoceluloza (NC) este unul dintre cei mai studiați biopolimeri datorită interesantelor sale proprietăți: rezistența mecanică ridicată, suprafața specifică foarte mare, stabilitate chimică, hidrofilicitate, cristalinitate, transparență, biocompatibilitate, sensibilitate electro-magnetică, conductivitate pentru protoni, reactivitate chimică de suprafață ridicată, disponibilitate - celuloza fiind cel mai abundent material regenerabil (Thomas, Duolikun et al. 2020). Aceste proprietăți fac ca nanoceluloza să fie interesantă pentru diverse aplicații, în diferite domenii. În domeniul biomedical/farmaceutic, nanoceluloza are multiple utilizări - pansamente, dispozitive de sterilizare prin ultrafiltrare, sisteme de eliberare controlată a medicamentelor, suport pentru culturi celulare, regenerare tisulară sau bioimprimare (Gregory, Tripathi et al. 2021, Nicu, Ciolacu and Ciolacu 2021). În industria alimentară, nanoceluloza este ingredient alimentar funcțional, stabilizator alimentar sau aditiv în nanocompozite cu proprietăți diverse pentru ambalarea alimentelor (Abitbol, Rivkin et al.

2016, Gomez, Serpa et al. 2016, Khorasani and Shojaosadati 2016, Bharimalla, Deshmukh et al. 2017, Hubbe, Ferrer et al. 2017). Nanoceluloza a fost utilizată și pentru obținerea de membrane și adsorbenți pentru tratarea apelor uzate și procese de separare (Hokkanen, Bhatnagar and Sillanpaa 2016, Yoshikawa, Tharpa and Dima 2016, De France, Hoare and Cranston 2017, Liu, Geng et al. 2017, Mahfoudhi and Boufi 2017, Voisin, Bergstrom et al. 2017). Sunt descrise aplicații ale nanocelulozei și pentru dispozitive de înaltă tehnologie: nanogeneratoare triboelectrice, tranzistori flexibili, biosenzori, dispozitive de nanostocare energie, dispozitive nanofotonice (Gaspar, Fernandes et al. 2014, Abitbol, Rivkin et al. 2016, Costa, Pingel et al. 2016, Hoeng, Denneulin and Bras 2016, Sabo, Yermakov et al. 2016, Zhu, Luo et al. 2016, Du, Zhang et al. 2017, Kim, Yim et al. 2017).

Cererea de brevet CN 113174416 A descrie un procedeu de producere a celulozei bacteriene prin fermentarea sub-produselor rezultate în bucătărie cu Kombucha. Metoda cuprinde următoarele etape: (1) pretratarea sub-produselor rezultate în bucătărie; (2) hidroliza enzimatică eficientă a subproduselor într-un substrat fermentescibil; (3) adaptarea culturii de Kombucha la substratul fermentescibil rezultat din subprodusele de bucătărie; 4) fermentarea Kombucha pe substratul hidrolizat enzimatic pentru a produce celuloza bacteriană; și 5) colectarea și purificarea celulozei bacteriene.

Cererea de brevet WO2022266041 A descrie utilizarea celulozei de Kombucha ca o sursă de celuloză nanocristalină care poate fi utilizată în locul sau în combinație cu aditivi alternativi pentru fibre, cum ar fi produsele din hârtie și compozitele din hârtie ranforsată, pentru a îmbunătăți o serie de funcționalități tehnologice.

Dextran /  $\alpha$ 1,6-glucan are excelente proprietăți de emulsionare, capacitate peliculogenă ridicată, o rată scăzută de fotodegradare (3,8%) și proprietăți mucoadezive bune (aderență  $F_{max}$  de 1,065 N). Dextran /  $\alpha$ 1,6-glucan are o bună citocompatibilitate și o activitate antibacteriană ridicată împotriva *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*. Exopolizaharidul din kefirul de apă este o materie primă valoroasă pentru aplicații farmaceutice, biomedicale și cosmetice (Lucena, Ramos et al. 2022).

Nu sunt cunoscute procedee care să determine o stimulare a producerii de astfel de biopolimeri suport pentru biofilmele consorțiilor de drojdii și bacterii în timpul cultivării respectivelor consorții.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a dezvolta un procedeu prin care să fie stimulată producerea de biopolimeri suport, celuloză sau dextran, în biofilmele specifice consorțiilor de drojdii.

Procedeeul, conform invenției, constă în următoarele etape:

- ✓ Prepararea mediilor de cultură specifice pentru Kombucha sau kefir de apă, respectiv a unei infuzii de suspensii de frunze de ceai verde sau negru, 0,5 g în 100 ml de apă clocotindă, îndulcită cu zaharoză, în cantitate de 8 g la 100 ml de infuzie, sau unei soluții de 7 g zahar la 100 ml apă, la care se adaugă o felie de lămâie;
- ✓ Inocularea mediilor de cultură specifice cu infuziei îndulcite cu biofilm / peliculă de cultură de Kombucha, sau de biofilm/ granule de kefir de apă, 5 grame biofilm umed la 100 de grame mediu de cultură;
- ✓ Adăugarea unui extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, din frunze de cătină, frunze de gutui, tescovină de struguri, tescovină de mere, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, de 2 mg/ml, în raport de 1 ml (concentrație 2 mg/ml) la 100 ml cultură;
- ✓ Cultivarea consorțiului SCOBY, Kombucha sau kefir de apă, timp de 10 zile sau, respectiv, de 3 zile la temperatura de  $23^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , recoltarea aseptică a biofilmului / peliculei de Kombucha / granulei de kefir, prelevarea a două treimi din cele 15 grame de biofilm umed format pentru prelucrare în vederea obținerii biopolimerului, celuloză sau dextran, și utilizarea restului de 5 grame biofilm pentru reluarea ciclului de producție.

Prezenta invenție prezintă următoarele avantaje:

- Stimulează producerea de biopolimer specific biofilmului consorțiilor de bacterii și drojdii datorită unor noi echilibre între diferitele populații microbiene, induse de introducerea extractului antioxidant;
- Asigură producerea unor băuturi fermentate de tip Kombucha sau kefir de apă cu o activitate antioxidantă crescută, datorită suplimentării cu extracte polifenolice antioxidante.

În continuare se prezintă exemple de realizare a invenției, care ilustrează invenția fără a o limita.

*Exemplu 1.* Se prepară într-un flacon de sticlă brună de 1 litru 500 ml infuzie de frunze de ceai negru (*Camelia sinensis*). Peste 2,5 grame de frunze de ceai se adaugă 500 ml apă clocotindă. Se adaugă 40 grame de zahăr, se răcește la temperatura camerei. Se inoculează cu 25 grame masă umedă de peliculă Kombucha și se adaugă 5 ml de extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, din frunze de cătină care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml. Se acoperă flaconul de

sticlă cu un tifon și se cultivă timp de 10 zile la temperatura unei camere climatizate, la  $23^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . După 10 zile se recoltează aseptice biofilmul/ pelicula de Kombucha / granula de kefir. Se prelevează 50 grame din cele 75 grame de biofilm format pentru prelucrare în vederea obținerii celulozei și se utilizează restul de 25 grame biofilm pentru reluarea ciclului de producție.

Se lucrează față de o variantă experimentală în care nu se introduce extractul polifenolic antioxidant. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 53,7% mai mare.

*Exemplul 2.* Se lucrează ca în Exemplul 1, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml din frunze de gutui. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 56,3% mai mare.

*Exemplul 3.* Se lucrează ca în Exemplul 1, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml din tescovină de struguri. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 48,4% mai mare.

*Exemplul 4.* Se lucrează ca în Exemplul 1, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml din tescovină de mere. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 51,8% mai mare.

*Exemplul 5.* Se lucrează ca în Exemplul 1, cu diferența că se folosește kefir de apă, iar cultivarea se face pentru 3 zile. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 52,4% mai mare.

*Exemplul 6.* Se lucrează ca în Exemplul 5, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml din frunze de gutui. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 51,2% mai mare.

*Exemplul 7.* Se lucrează ca în Exemplul 5, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul

DPPH, normalizată la 2 mg/ml din tescovină de struguri. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 49,4% mai mare.

*Exemplul 8.* Se lucrează ca în Exemplul 5, cu diferența că se folosește extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml din tescovină de mere. În varianta tratată cu extract polifenolic acumularea de peliculă este cu 54,1% mai mare.

### Fișă bibliografică

- Abitbol, T., A. Rivkin, Y. Cao, Y. Nevo, E. Abraham, T. Ben-Shalom, S. Lapidot and O. Shoseyov (2016). "Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications." Current Opinion in Biotechnology **39**: 76-88.
- Bharimalla, A. K., S. P. Deshmukh, N. Vigneshwaran, P. G. Patil and V. Prasad (2017). "Nanocellulose-Polymer Composites for Applications in Food Packaging: Current Status, Future Prospects and Challenges." Polymer-Plastics Technology and Engineering **56**(8): 805-823.
- Costa, S., P. Pingel, S. Janietz and A. Nogueira (2016). "Inverted organic solar cells using nanocellulose as substrate." Journal of Applied Polymer Science **133**(28).
- De France, K. J., T. Hoare and E. D. Cranston (2017). "Review of Hydrogels and Aerogels Containing Nanocellulose." Chemistry of Materials **29**(11): 4609-4631.
- Dima, S.-O., D.-M. Panaitescu, C. Orban, M. Ghiurea, S.-M. Doncea, R. C. Fierascu, C. L. Nistor, E. Alexandrescu, C.-A. Nicolae, B. Trică, A. Moraru and F. Oancea (2017). "Bacterial Nanocellulose from Side-Streams of Kombucha Beverages Production: Preparation and Physical-Chemical Properties." Polymers **9**(8): 374.
- Du, X., Z. Zhang, W. Liu and Y. L. Deng (2017). "Nanocellulose-based conductive materials and their emerging applications in energy devices - A review." Nano Energy **35**: 299-320.
- Fels, L., F. Jakob, R. F. Vogel and D. Wefers (2018). "Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir." Carbohydrate polymers **189**: 296-303.
- Gaspar, D., S. N. Fernandes, A. G. de Oliveira, J. G. Fernandes, P. Grey, R. V. Pontes, L. Pereira, R. Martins, M. H. Godinho and E. Fortunato (2014). "Nanocrystalline cellulose applied simultaneously as the gate dielectric and the substrate in flexible field effect transistors." Nanotechnology **25**(9): 11.
- Gomez, C., A. Serpa, J. Velasquez-Cock, P. Ganan, C. Castro, L. Velez and R. Zuluaga (2016). "Vegetable nanocellulose in food science: A review." Food Hydrocolloids **57**: 178-186.
- Gregory, D. A., L. Tripathi, A. T. R. Fricker, E. Asare, I. Orlando, V. Raghavendran and I. Roy (2021). "Bacterial cellulose: A smart biomaterial with diverse applications." Materials Science & Engineering R-Reports **145**.
- Hoeng, F., A. Denneulin and J. Bras (2016). "Use of nanocellulose in printed electronics: a review." Nanoscale **8**(27): 13131-13154.
- Hokkanen, S., A. Bhatnagar and M. Sillanpaa (2016). "A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity." Water Research **91**: 156-173.
- Hubbe, M. A., A. Ferrer, P. Tyagi, Y. Y. Yin, C. Salas, L. Pal and O. J. Rojas (2017). "Nanocellulose in Thin Films, Coatings, and Plies for Packaging Applications: A Review." Bioresources **12**(1): 2143-2233.
- Khorasani, A. and S. Shojaosadati (2016). "Bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposites as prebiotics against drying and gastrointestinal condition." International Journal of Biological Macromolecules **83**: 9-18.
- Kim, H. J., E. C. Yim, J. H. Kim, S. J. Kim, J. Y. Park and I. K. Oh (2017). "Bacterial Nano-Cellulose Triboelectric Nanogenerator." Nano Energy **33**: 130-137.
- Liu, H. Z., B. Y. Geng, Y. F. Chen and H. Y. Wang (2017). "Review on the Aerogel-Type Oil Sorbents Derived from Nanocellulose." Acs Sustainable Chemistry & Engineering **5**(1): 49-66.

- Lucena, M. D., I. F. D. Ramos, M. S. Geronço, R. de Araújo, F. L. da Silva, L. da Silva, R. W. R. de Sousa, P. M. P. Ferreira, J. A. Osajima, E. C. Silva, M. D. Rizzo, A. B. Ribeiro and M. P. da Costa (2022). "Biopolymer from Water Kefir as a Potential Clean-Label Ingredient for Health Applications: Evaluation of New Properties." Molecules **27**(12).
- Lynch, K. M., S. Wilkinson, L. Daenen and E. K. Arendt (2021). "An update on water kefir: Microbiology, composition and production." International Journal of Food Microbiology **345**: 109128.
- Mahfoudhi, N. and S. Boufi (2017). "Nanocellulose as a novel nanostructured adsorbent for environmental remediation: a review." Cellulose **24**(3): 1171-1197.
- Nicu, R., F. Ciolacu and D. E. Ciolacu (2021). "Advanced Functional Materials Based on Nanocellulose for Pharmaceutical/Medical Applications." Pharmaceutics **13**(8).
- Sabo, R., A. Yermakov, C. T. Law and R. Elhajjar (2016). "Nanocellulose-Enabled Electronics, Energy Harvesting Devices, Smart Materials and Sensors: A Review." Journal of Renewable Materials **4**(5): 297-312.
- Thomas, P., T. Duolikun, N. P. Rumjit, S. Moosavi, C. W. Lai, M. R. Bin Johan and L. B. Fen (2020). "Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects." Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials **110**: 103884.
- Tran, T., C. Grandvalet, F. Verdier, A. Martin, H. Alexandre and R. Tourdot-Maréchal (2020). "Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha." Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **19**(4): 2050-2070.
- Tran, T., C. Grandvalet, P. Winckler, F. Verdier, A. Martin, H. Alexandre and R. Tourdot-Maréchal (2021). "Shedding Light on the Formation and Structure of Kombucha Biofilm Using Two-Photon Fluorescence Microscopy." Frontiers in Microbiology **12**(2204).
- Villarreal-Soto, S. A., S. Beaufort, J. Bouajila, J. P. Souchard and P. Taillandier (2018). "Understanding kombucha tea fermentation: a review." Journal of food science **83**(3): 580-588.
- Voisin, H., L. Bergstrom, P. Liu and A. P. Mathew (2017). "Nanocellulose-Based Materials for Water Purification." Nanomaterials **7**(3): 19.
- Yoshikawa, M., K. Tharpa and S.-O. Dima (2016). "Molecularly Imprinted Membranes: Past, Present, and Future." Chemical Reviews **116**(19): 11500-11528.
- Zhu, H. L., W. Luo, P. N. Ciesielski, Z. Q. Fang, J. Y. Zhu, G. Henriksson, M. E. Himmel and L. B. Hu (2016). "Wood-Derived Materials for Green Electronics, Biological Devices, and Energy Applications." Chemical Reviews **116**(16): 9305-9374.

## Revendicări

1. Procedeu conform invenției **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: prepararea mediilor de cultură specifice pentru Kombucha sau kefir de apă, respectiv a unei infuzii de suspensii de frunze de ceai verde sau negru, 0,5 g în 100 ml de apă clotocotindă, îndulcită cu zaharoză, în cantitate de 8 g la 100 ml de infuzie, sau unei soluții de 7 g zahar la 100 ml apă, la care se adaugă o felie de lămâie; inocularea mediilor de cultură specifice infuziei îndulcite cu biofilm / peliculă de cultură de Kombucha, sau de biofilm/ granule de kefir de apă, 5 grame biofilm umed la 100 de grame mediu de cultură; adăugarea unui extract de polifenoli într-o soluție apoasă de etanol 25%, din frunze de cătină, frunze de gutui, tescovină de struguri, sau tescovină de mere, care are o activitate antioxidantă, exprimată ca IC50, respectiv concentrația care determină reducerea a 50% din radicalul DPPH, normalizată la 2 mg/ml, în raport de 1 ml la 100 ml cultură; cultivarea consorțiului SCOBY, Kombucha sau kefir de apă, timp de 10 zile sau, respectiv, de 3 zile la temperatura de  $23^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , recoltarea aseptică a biofilmului / peliculei de Kombucha / granulei de kefir, prelevarea a două treimi din cele 15 grame de biofilm umed format pentru prelucrare în vederea obținerii biopolimerului, celuloză sau dextran, și utilizarea restului de 5 grame biofilm pentru reluarea ciclului de producție.