

II. RAPORTARE ȘTIINȚIFICĂ

FAZA DE EXECUȚIE NR. II

CU TITLUL:

„Experimentarea modelului conceptual ca model demonstrativ eficient pentru a obține produse biodegradabile sub forma cutiilor de ambalaj și a ghivecelor de plantare a arborilor, precum și a corpurilor de fructificare ale ciupercilor”

Avizat,

COORDONATOR

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE
AGRONOMICE ȘI MEDICINA
VETERINARĂ București

Reprezentant Legal

Rector

Prof. univ.dr. Sorin Mihai Cîmpeanu

Director de Proiect

Prof. univ. dr. Razvan Ionut Leodorescu



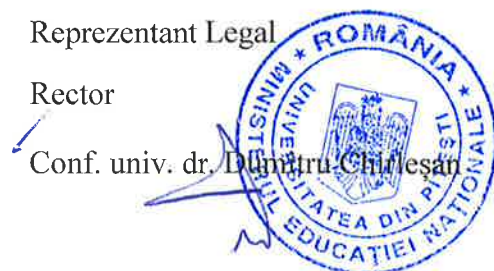
PARTENER P1

UNIVERSITATEA DIN PITEȘTI

Reprezentant Legal

Rector

Conf. univ. dr. Dumitru Chirleşan



Responsabil de proiect

Prof. univ. dr. Marian Petre

Rezumatul etapei

În conformitate cu planul de realizare a proiectului pentru cea de-a doua etapă, au fost testate și validate funcțional trei tipuri de matrițe matrițe de creștere a ciupercilor, având forma caracteristică suporturilor pentru ambalaje și a unor tipuri de ghivece utilizate pentru plantarea arborilor. Matrițele confecționate din inox au avut formă paralelipipedică sau tronconică și fiind compuse din câte două vase de mărimi diferite, poziționate concentric, unul în interiorul celuilalt, fiind prevăzute cu sisteme de detașare a părților componente, acest fapt fiind impus de necesitatea detașării acestor la finalul ciclurilor de creștere a ciupercilor în interiorul acestor vase metalice.

Pentru testarea modelului demonstrativ al biotehnologiei de producere a suporturilor biodegradabile din deșeuri lignocelulozice și a corpurilor de fructificare prin cultivarea controlată a speciilor de ciuperci comestibile și medicinale *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, au fost preparate mai multe compoziții de substraturi de cultivare, rezultate prin combinarea unor diverse tipuri de deșeuri provenite de la diferite specii lemnoase. Astfel, s-au stabilit 10 combinații diferite de substraturi de cultivare rezultate din amestecul în proporții egale a deșeurilor lemnoase provenite de la următoarele specii de arbori: fag, plop, salcie, la care s-a adăugat corzi tăiate de viță de vie.

Atât suporturile sub formă de ghivece compuse din miceliu crescut pe deșeurile lemnoase, cât și corpurile de fructificație au fost obținute în cursul ciclurilor biologice de creștere a ciupercilor menționate.

Descrierea științifică și tehnică, cu punerea în evidență a rezultatelor fazei și gradul de realizare a obiectivelor

Scopul principal al acestui proiect a fost acela de a realiza o valorificare optimă a deșeurilor lignocelulozice provenite din silvicultură, industria prelucrării lemnului, pomicultură, viticultură, grădini publice și spații verzi ale orașelor, prin aplicarea biotehnologiilor bazate pe biocoversia lor completă prin creșterea controlată a unor specii de ciuperci comestibile și medicinale.

Obiectivele generale ale prezentului proiect au fost axate pe:

1 - creșterea beneficiilor economice în silvicultură și agricultură prin implementarea unor modele funcționale pentru valorificarea ecologică și reciclarea completă a deșeurilor lignocelulozice prin utilizarea unor specii de ciuperci selecționate pentru a fi utilizate ca instrumente biologice de producere a unor materiale biodegradabile, precum și a unor alimente ecologice;

2 - bioprotecția mediului forestier și agricol prin dezvoltarea de noi modele biotehnologice de bioreciclare inovatoare a deșeurilor lignocelulozice prin creșterea controlată a ciupercilor comestibile și medicinale, cu impact semnificativ asupra productivității și sustenabilității agriculturii și industriei alimentare.

Obiectivele fazei de execuție au fost următoarele:

1 - valorificarea deșeurilor lignocelulozice prin bioreciclarea completă a acestora sub formă de substraturi brute pentru cultivarea unor specii de ciuperci pentru a produce materiale ecologice, precum și alimente organice din corpurile de fructificație ale acestor ciuperci;

2 – testarea și validarea modelului demonstrativ al biotehnologiei de laborator utilizate pentru conversia completă a deșeurilor lignocelulozice din industria lemnului și din activități agricole pentru a obține produse biodegradabile și corpuri de fructificare ale ciupercilor, utilizabile în industria alimentară

3 – diseminarea pe scară largă a rezultatelor

Pentru testarea cultivării intensive a speciilor de ciuperci și producerea corpurilor de fructificare ale ciupercilor aparținând speciilor *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, prin utilizarea modelului demonstrativ, s-au efectuat experimente de cultivare pe substraturi constituite din deșeuri lignocelulozice provenite din prelucrarea industrială a lemnului, precum și din activități agricole. Astfel, s-au preparat mai multe variante compoziționale ale substraturilor de cultivare a ciupercilor menționate care au fost plasate în trei tipuri de matrițe

special destinate obținerii de suporturi biodegradabile, prin creșterea miceliului acestor ciuperci în condiții strict controlate ale factorilor de temperatură, umiditate și aerare, cu menținerea condițiilor de asepsie pentru evitarea oricărei contaminări microbiene a acestora (Fig. 1).

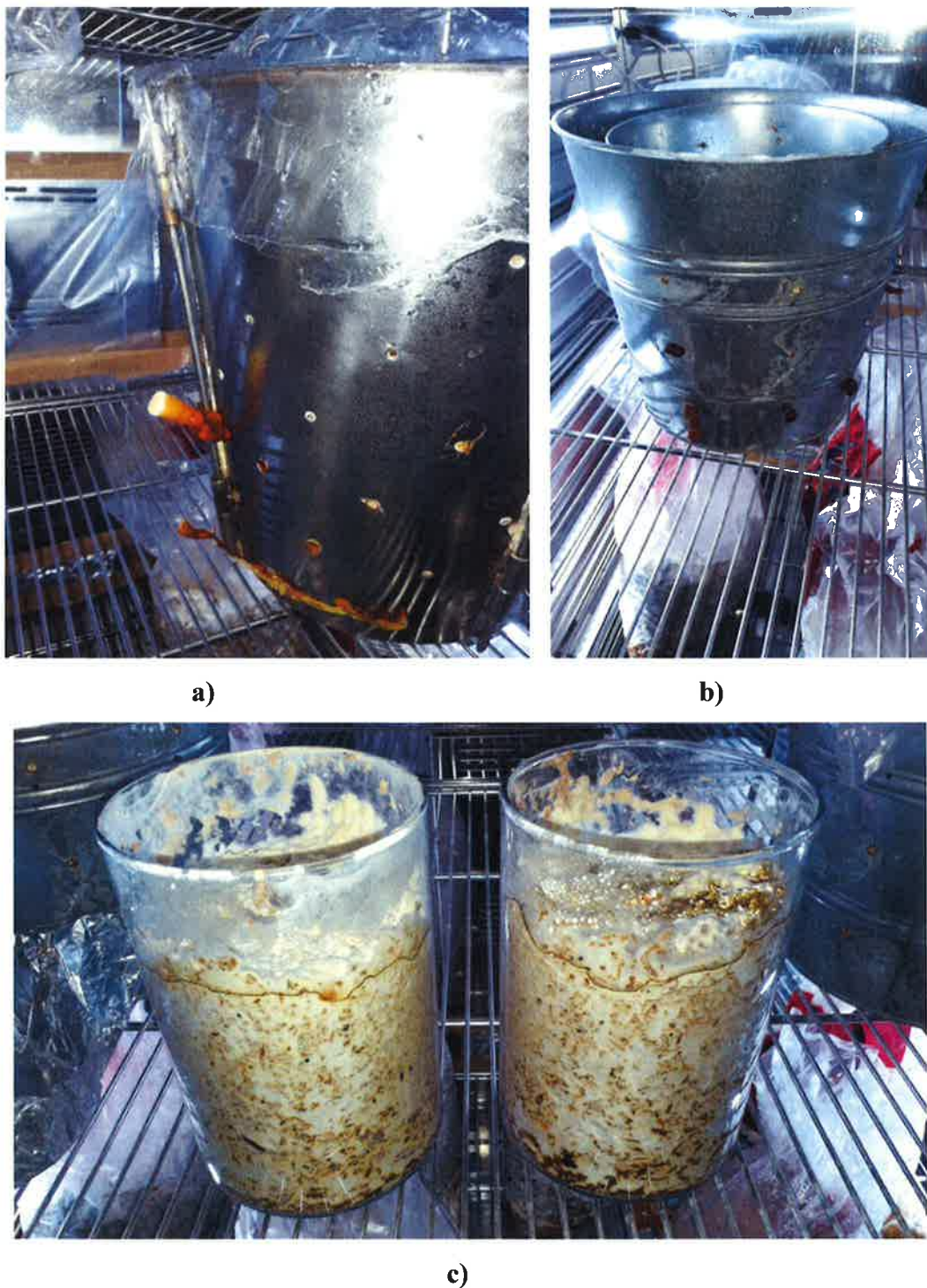


Fig. 1 - Matrițe din inox a), tablă galvanizată b) și sticlă c), destinate cultivării ciupercilor din speciile *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, pe substraturi din deșeuri lignocelulozice, în camere climatice

În spațiul interior dintre aceste matrițe concentrice s-au introdus trei tipuri de variante compoziționale formate din amestecul deșeurilor lignocelulozice rezultate prin tocarea lemnului aparținând unor specii arboricole de foioase, și anume fag, salcie, plop, precum și a corzilor de viță de vie, sub formă Variantele compoziționale care au fost stabilite pentru a fi testate sub forma unor amestecuri destinate creșterii miceliului speciilor de ciuperci menționate sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Variante compoziționale ale substraturilor de cultivare a ciupercilor

Varianta 1	Varianta 2	Varianta 3
fag 30%, salcie 30%, plop 30%, corzi viță de vie 10%	fag 25%, salcie 25%, plop 25%, corzi viță de vie 25%	fag 20%, salcie 20%, plop 20%, corzi viță de vie 40%

Pentru realizarea creșterii controlate a ciupercilor pe substraturi din deșeuri lignocelulozice, în vederea obținerii de suporturi biodegradabile pentru plantarea în sol a diferite specii vegetale, precum și producerea de corpuri de fructificare ale speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, aceste deșeuri organice au fost hidratate cu o soluție nutritivă, compusă din: melasă 30%, tărațe de grâu 10%, extract de malț 10%, carbonat de calciu 3%, iar restul până la 100% apă de robinet, valoarea finală a indicelui pH fiind între 6...6,5, apoi au fost introduse în matrițele cu formă de ghiveci, acoperite cu folie de polietilenă termorezistentă, iar, în cele din urmă sterilizate cu abur sub presiune la 123 °C, timp de 60 de minute, înainte de inocularea cu miceliu crescut în prelabil în medii nutritive lichide în condiții aseptice.

Consecutiv acestei operațiuni, vasele încărcate cu deșeurile lignocelulozice sterilizate și inoculate cu miceliu lichid se introduc în camere de incubare la temperatura constantă de 23 °C, în interiorul cărora se mențin pentru o perioadă de 4 până la 7 săptămâni, în funcție de specia cultivată, după care se înlătură sacii termorezistenți și se asigură condițiile de umiditate corespunzătoare (98-99% UR) pentru dezvoltarea miceliului, precum și formarea carpoforilor (corpurilor de fructificare) aparținând speciilor de ciuperci cultivate.

În final, s-au colectat carpoforii (corpurile de fructificare) aparținând speciilor de ciuperci cultivate, iar apoi se detașează prin dezasamblare părțile componente ale vaselor tronconice, astfel încât structura din material lignocelulozic impregnat cu miceliul ciupercilor cultivate să se păstreze în forma intactă de la inițierea procesului de cultivare.

Selecciónarea biotehnologiei optime de producere a noilor produse biodegradabile și caracterizarea fizică, chimică și microbiologică a produselor finale la sfârșitul ciclurilor de cultivare a ciupercilor

În cursul experimentelor efectuate în această fază a proiectului au fost testate 3 variante biotehnologice de cultivare a ciupercilor *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, în vederea selecționării biotehnologiei optime de producere a noilor produse biodegradabile în funcție de calitățile suportului biodegradabil final și de cantitatea totală de carpofori colectați la finalul ciclurilor de cultivare.

Astfel, s-a constatat că varianta optimă din punctul de vedere al calităților suportului biodegradabil final, sub forma ghivecelor de plantare a fost cea în care s-a utilizat specia *Ganoderma lucidum*, în timp ce în privința cantității de carpofori colectați la finalul ciclurilor de cultivare, specia *Pleurotus ostreatus* s-a dovedit a fi cea mai productivă.

Din punct de vedere fizic, suporturile biodegradabile obținute prezintă un anumit grad de rezistență la solicitări mecanice, în sensul menținerii aspectului și formei în cursul manipulării acestora în scopul asigurării suportului material pentru plantele ce urmează a fi introduse în sol prin intermediul acestor suporturi a căror degradare în sol sub acțiunea microbiotei și microfaunei telurice va permite dezvoltarea liberă a plantelor respective.

Compoziția chimică a suporturi biodegradabile de tip ghiveci este aproape identică cu cea a deșeurilor lignocelulozice din care s-au format prin penetrarea acestora de către hifele miceliene și înglobarea lor în masa miceliană a speciilor de ciuperci utilizate în procesul biotehnologic aferent obținerii acestor suporturi. Analiza chimică a acestor deșeuri preponderent lemnoase a înregistrat următoarele rezultate:

Substanță uscată	45,5%
Azot total	14,1 %
Celuloză brută	20,7 %
Lipide	5,6 %
Cenușă	10,1 %
Compuși fenolici	14,5 %

Sub aspectul calității microbiologice a acestor suporturi, se constată o dezvoltare uniformă a masei de hife miceliene a speciilor de ciuperci utilizate pe întreaga suprafață, precum și în interiorul acestor suporturi, fără nicio contaminare microbiologică.

Validarea modelului demonstrativ pentru obținerea noilor produse biodegradabile

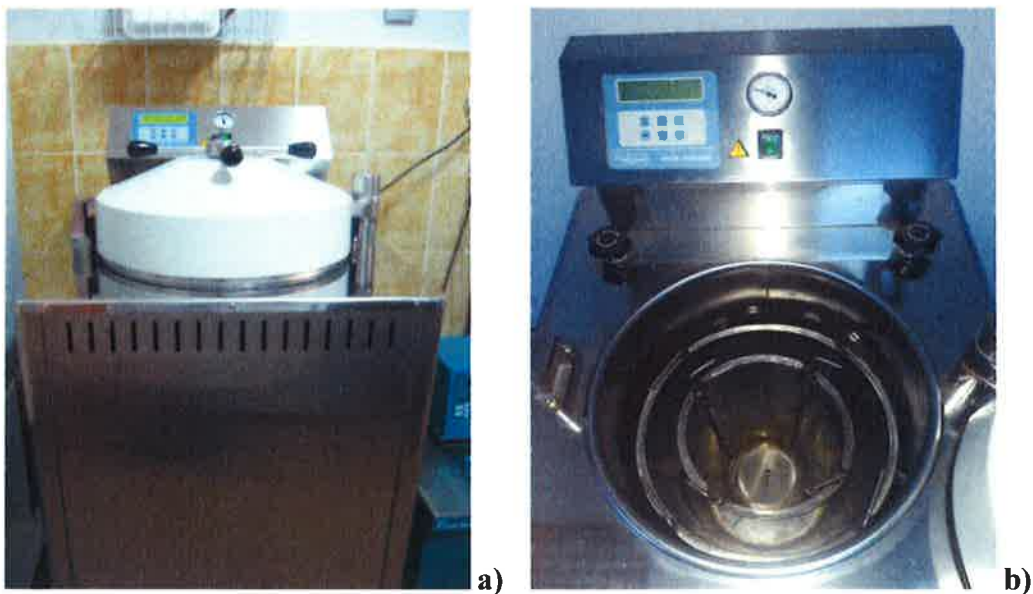
În vederea validării modelului demonstrativ de obținere a noilor produse biodegradabile sub formă de ghivece destinate plantării speciilor vegetale arboricole, s-au efectuat experimente de confirmare a ratei de creștere a miceliului speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus* în matrițe confecționate din tablă de inox (Fig. 2).



Fig. 2 Matriță confecționată din tablă de inox sub forma de vase concentrice, încărcate în spațiul delimitat de acestea, cu deșeurile lemnoase

Matrițele confecționate din inox au formă tronconică și sunt compuse din câte două vase de mărimi diferite, poziționate concentric, unul în interiorul celuilalt, fiind prevăzute cu sisteme de detașare a părților componente, acest fapt fiind impus de necesitatea dezasamblării acestora la finalul ciclurilor de creștere a ciupercilor.

Matrițele încărcate cu variantele compoziționale formate din deșeurile lemnoase au fost sterilizate cu abur sub presiune, la temperatura de 123° C, timp de 1 oră, într-o autoclavă cu o capacitate corespunzătoare (Fig. 3).



**Fig. 3 - Autoclavă de laborator a), destinată sterilizării cu abur sub presiune
a matrițelor din inox b)**

Apoi, după răcire, substraturile de cultivare formate din deșeurile lemnoase sterilizate au fost inoculate aseptice cu miceliul obținut prin creștere în mediul lichid din culturi pure ale speciilor de ciuperci *G. lucidum* și *P. ostreatus*.

Consecutiv acestei operațiuni, vasele încărcate cu deșeurile lemnoase sterilizate și inoculate au fost introduse în camere de incubare de tip Memmert, la temperatura constantă de 23 °C, în interiorul cărora s-au menținut pentru o perioadă de 4 până la 7 săptămâni, în funcție de specia inoculată (Fig. 4).

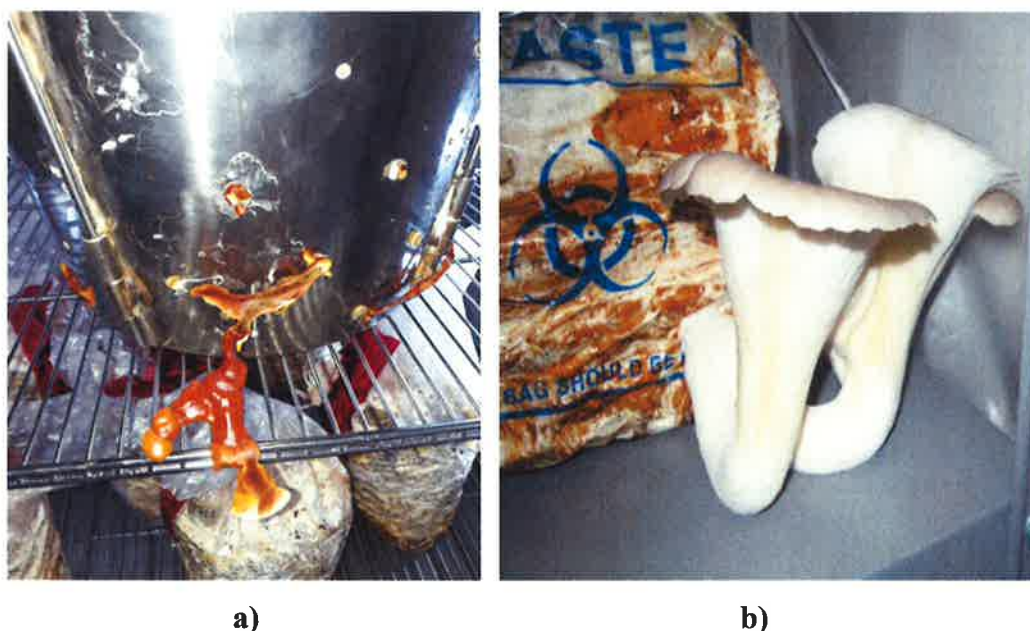


**Fig. 4 - Vas încărcat cu deșeurile lemnoase sterilizate și inoculate,
aflat în perioada de incubare**

Aceste vase s-au menținut timp de 4-7 săptămâni, în funcție de specia cultivată, la temperatura constantă de 23 °C, după care s-au desfăcut sacii termorezistenți și s-au asigurat condițiile de temperatură la 21 °C și umiditate corespunzătoare (98-99% UR) pentru formarea și apoi colectarea carpoforilor speciilor de ciuperci cultivate.

Validarea corpurilor de fructificare ale ciupercilor aparținând speciilor *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*, prin utilizarea modelului demonstrativ

Pe parcursul unor perioade de timp cuprinse între 30 și 60 de zile, au fost colectate corpurile de fructificare aparținând speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus* (Fig. 5 a și b).



**Fig. 5 - Carpofori (corpuri de fructificare) aparținând speciilor de ciuperci:
G. lucidum a) și *P.ostreatus* b)**

Toate ciclurile biologice de cultivare a ciupercilor pe substraturile din deșeuri lignocelulozice au urmat un flux tehnologic controlat pentru a minimiza durata perioadei de cultivare și pentru a maximiza producția finală de corpuri de fructificare ale ciupercilor.

În acest sens, au fost înregistrate următoarele producții de carpofori pentru fiecare dintre speciile de ciuperci utilizate în experimente, respectiv, *Ganoderma lucidum* (Tabelul 2) și *Pleurotus ostreatus* (Tabelul 3).

Tabelul 2. Variația cantităților de carpofori ai speciei *G. lucidum*, crescuți pe trei tipuri de substraturi de cultivare

Perioada de colectare a carpoforilor	Producția medie de carpofori pe substratul S1 (g/5 kg substrat)	Producția medie de carpofori pe substratul S2 (g/5 kg substrat)	Producția medie de carpofori pe substratul S3 (g/5 kg substrat)
I	350	320	270
II	240	250	210
III	150	120	140

Tabelul 3. Variația cantităților de carpofori ai speciei *P. ostreatus*, crescuți pe trei tipuri de substraturi de cultivare

Perioada de colectare a carpoforilor	Producția medie de carpofori pe substratul S1 (g/5 kg substrat)	Producția medie de carpofori pe substratul S2 (g/5 kg substrat)	Producția medie de carpofori pe substratul S3 (g/5 kg substrat)
I	510	450	310
II	370	330	215
III	310	275	170

Se constată faptul că producția cea mai mare de carpofori (corpuri de fructificare) rezultați în urma ciclurilor de cultivare a fost înregistrată, atât în cazul speciei *Ganoderma lucidum*, cât și al speciei *Pleurotus ostreatus*, în condițiile utilizării variantei 1 de substrat nutritiv.

Validarea biotehnologiei optime de obținere a noilor produse biodegradabile

Pe baza rezultatelor obținute în urma efectuării experimentelor menționate anterior, a fost validată biotehnologia optimă de obținere a produselor biodegradabile și a producerii de corpuri de fructificare, conform reprezentării schematice din fig. 6.

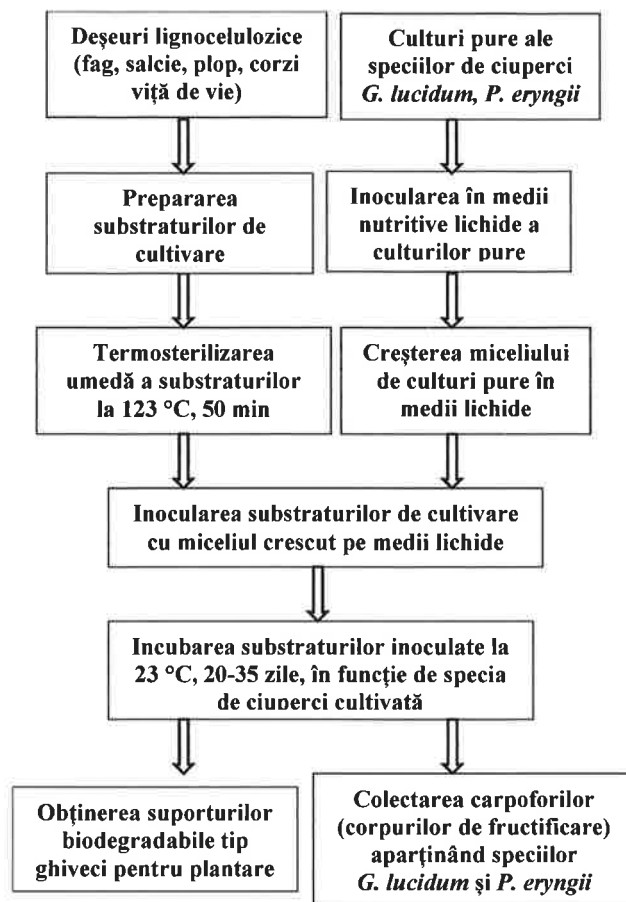


Fig. 6 - Reprezentarea schematică a biotehnologiei pentru conversia deșeurilor lignocelulozice în suporturi biodegradabile și corpuri de fructificare ale speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*

Produsele finale ale aplicării acestei biotehnologii pentru conversia deșeurilor lignocelulozice în suporturi biodegradabile și corpuri de fructificare ale speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus* au fost reprezentate de ghivecele pentru plantare (Fig. 7-8), realizate din compostul rezultat din creșterea miceliului ciupercilor în matrițele de inox, precum și de carpoforii acestor specii două specii, care s-au format în exteriorul matrițelor, ca o consecință a emergenței acestora prin orificiile practicate în carcasa matrițelor (Fig. 9-10).



Fig. 7 – a) Suport biodegradabil destinat plantării speciilor vegetale, obținut prin cultivarea speciie *Ganoderma lucidum* pe substratul 1. b) Matrițe din tablă galvanizată în care s-au format suporturi biodegradabile prin cultivarea speciei *Pleurotus ostreatus* pe aceeași variantă de substrat



Fig. 8 – Suporturi biodegradabile obținute prin cultivarea speciei *Pleurotus ostreatus*, pe varianta 2 de substrat



Fig. 9 - Corpuri de fructificare ale speciilor de ciuperci *Ganoderma lucidum*



Fig. 10 - Corpuri de fructificare ale speciilor de ciuperci *Pleurotus ostreatus*

Activități de diseminare a rezultatelor

Cerere internațională de brevet de invenție:

Petre, M., Teodorescu, R.I., Stănică, F., Tudor, V., Iovu-Adrian, B., 2018. Cerere internațională de brevet de invenție cu titlul: „Process for the obtaining of biodegradable supports from lignocellulosic wastes”

Cerere națională de brevet de invenție:

Petre, M., Teodorescu, R.I., Stănică, F., Tudor, V., Iovu-Adrian, B., 2018. Cerere de brevet de invenție OSIM Nr. A/00990/28.11.2018 cu titlul: „Procedeu de obținere a unor suporturi biodegradabile din deșeuri lignocelulozice”.

Articole publicate sau în curs de publicare:

Petre, M., Petre, V., 2018. Mushroom biotechnology for conversion of lignocellulosic wastes into fully biodegradable materials and organic food. Proceedings of the 25 European Biomass Conference, 14-17 May, Copenhagen, Denmark, p. 1075-1079

Teodorescu, R.I., Stănică, F., Teodorescu, R.F., Roșculete, C.A., Tudor, V., 2018. Bioconversion of lignocellulosic wastes into eco-friendly and useful products. The XXXth International Horticultural Congress, August 12-16, 2018 – Istanbul, Turkey, ISSN 0567-7572 print, ISSN 2406-6168 electronic, *in curs de publicare*

Teodorescu R.I., Stănică, F., Tudor, V., Bacau, C., Rosculete, C., Țone, V., Barbulescu, D., 2018. The valorizing of different woody wastes as natural substrates for intensive cultivation of mushrooms, Vol. „Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series” vol XLVIII nr.1/2018. ISSN 1841-8317, *in curs de publicare*

Participări la Conferințe:

- The 25 European Biomass Conference, 14-17 May, Copenhagen, Denmark
- The XXXth International Horticultural Congress, August 12-16, 2018 – Istanbul, Turkey
- Simpozionul științific anual – 2018 „Horticulture, food and environment - *Priorities and perspectives*” 25-26 Octombrie 2018, Craiova, România

Pagina web a proiectului: <https://www.usamv.ro/index.php/ro/456-ped-196-2017>

Livrabile

- Suporturi biodegradabile – ghivece de plantare produse prin creșterea miceliului de ciuperci *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus* pe substraturi compuse din deșeuri lignocelulozice de fag, salcie, plop și corzi de viță de vie
- Un raport tehnic și științific
- 3 matrițe de creștere a ciupercilor, 2 având forma ghivecelor de plantare
- Corpuri de fructificare ale ciupercilor *Ganoderma lucidum* și *Pleurotus ostreatus*
- O cerere de brevet național
- O cerere de brevet internațional
- 3 articole, dintre care unul publicat ISI și două BDI în curs de publicare
- 3 participări la conferințe
- 1 raport tehnic privind selecția biotehnologiei optime de obținere a noilor produse biodegradabile și a corpurilor de fructificare
- Platforma web întreținută

Concluzii

Produsele rezultate din aplicarea modelului biotehnic demonstrativ elaborate la nivel de laborator, sunt de două tipuri majore. Prima este reprezentată de suporturile biodegradabile, care pot fi utilizate ca: ghivece, fiind constituite din compostul rezultat din solidificarea miceliului de ciuperci care se dezvoltă în interiorul structurii deșeurilor lemnoase. Astfel, aceste materiale complet biodegradabile vor fi utilizate sub formă de containere funcționale în formă unor ghivece, care pot fi plantate chiar în câmp sau grădină. A doua categorie de produse finale se referă la corpurile de fructificare ale ciupercilor aparținând speciilor menționate, care reprezintă alimente 100% naturale, putând fi utilizate ca materii prime organice pentru producerea de suplimente alimentare.

Gradul de noutate al acestui proiect este unul înalt, în principal datorită ideii originale, care va fi aplicată pentru prima dată în România, respectiv, de a recicla o varietate de materiale organice fără valoare economică pentru a se obține simultan două produse valoroase, respectiv obiecte utile biodegradabile și alimente ecologice, prin aplicarea unei biotehnologii eficiente cu cheltuieli mici de energie, materii prime și forță de muncă, comparativ cu alte procedee aplicate în acest domeniu