

Raport științific și tehnic

privind desfășurarea proiectului

Cultivare controlata cu ajutorul luminii a germenilor si microgreens vegetali cu continut fenolic ridicat (Phenolight)

Cod proiect PN-III-P2-2.1-PED-2021-4380

Contract de finanțare nr. PED638

Din cadrul Programului 1 - Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare,
Autoritate contractantă: Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, a
Cercetării, Dezvoltării și Inovării (UEFISCDI)
Contractor: Universitatea „Ștefan cel Mare” din Suceava

Director proiect: Dr. Lobiuc Andrei

Etapă de realizare nr. III

01.01.2024 – 30.06.2024

Rezumat executiv

In perioada aferenta etapei a III-a, 01 01 2024 – 30 06 2024, in cadrul proiectului PN-III-P2-2.1-PED-2021-4380 s-au realizat activitati care sa permita maturizarea tehnologiei propuse, de la nivel TRL3 la nivel TRL4.

Astfel, in prima parte a etapei, prin coordonare intre parteneri, s-a elaborat documentatia necesara pentru implinirea modelului de cultivare selectat in etapele anterioare, la scara mai larga. S-au luat in calcul intrarile si iesirile unei tehnologii de cultivare si, prin analiza de tip Life Cycle Assessment, s-a preconizat nivelul de productie la care tehnologia devine fezabila. Pe o astfel de calibrare, s-au calculat necesarul de materiale, energie si activitati necesare cultivarii cu succes a microplantelor de quinoa si de busuioc. In acelasi timp, s-a elaborat documentatia aferenta tehnologiei, care a inclus protocoalele propriu-zise de cultivare, dar si fluxurile de lucru, monitorizarea calitatii si abordarea riscurilor.

Prin transfer de echipamente si tehnologie la partenerul institutional, s-au cultivat microplante cu parametrii de crestere selectati si calculati anterior, la care s-a reluat testarea principalilor parametri morfologici si biochimici, pentru a asigura validitatea modelului. Rezultatele au indicat cresteri intre 142% si 186% pentru acizi fenolici cum ar fi acidul ferulic si cel rosmarinic, ceea ce confirma atat validitatea modelului la scara mai larga, cat si eficienta fertilizarii combinate cu spectru luminos modulata.

Astfel, dupa parcurgerea proiectului, conceptul de tehnologie propus pe baza cercetarilor anterioare si formulat pentru nivel de laborator (TRL 3) au fost scalate cu succes la nivel de tehnologie validata in conditii de cultivare pe scara larga (TRL 4), validare realizata inclusiv din punct de vedere matematic si statistic.

Prin rezultatele obtinute, proiectul contribuie la dezvoltarea cercetarii nationale, atat la nivel fundamental, cat si biotehnic, aplicat. Totodata, metodologia dezvoltata in cadrul proiectului poate servi pentru cresterea valorii economice a produselor de tip microplante, cu aplicabilitate in industria alimentara, in cea farmaceutica si in cea cosmetica, prin acizii fenolici a caror sinteza poate fi stimulata.

Denumire Etapa: Validarea modelelor tehnologice

Rezultate Etapa:

- 1 protocol cultivare si elicitare nivel scalat – Anexa la RST
- 1 cerere de brevet – cererea A00377/28.06.2024, depusa la Oficiul de Stat pentru Inventii si marci
- 1 articol in jurnal indexat Web of Knowledge - Teliban, G.-C.; Pavăl, N.-E.; Mihalache, G.; Burducea, M.; Stoleru, V.; Lobiuc, A. *Design Modulated Light on Physiological and Molecular Processes in Phenolic Compounds Production of Ocimum basilicum L.* Preprints 2024, 2024062029. <https://doi.org/10.20944/preprints202406.2029.v1>, trimis catre publicare in jurnalul indexat Web of Knowledge Horticulturae, cu identificatorul horticulturae-3102725

Pe parcursul acestei etape s-au realizat urmatoarele activitati:

3.1. Dezvoltare conceptuala sistem scalat – indeplinit 100%

Elaborare documentatie scalare sistem cultivare si elicitare:

Pentru a efectua o evaluare cuprinzătoare a ciclului de viață (LCA) pentru un proces de producție de microplante a plantelor folosind lumina modulata și pompe de irigare automate, s-a urmat metodologia LCA, care implică de obicei patru faze principale: definirea scopului și a domeniului de aplicare, analiza inventarului, impactul, evaluare și interpretare. Analiza a fost realizata cu ajutorul suitei de modelare a ciclului de viata si a sustenabilitatii OpenLCA - <https://www.openlca.org/openlca/>

1. Definirea scopului și domeniului de aplicare

- Scop: Evaluarea impactului asupra mediului asociat cu producția de microverzi într-un cadru interior, folosind lămpi LED Osram Phytofy și pompe de irigare automate.
- Domeniu de aplicare: Evaluarea va acoperi întregul ciclu de viață al procesului de producție microverde, inclusiv producția de semințe, substratul de creștere, utilizarea apei și a nutrienților, consumul de energie (iluminat LED și pompe de irigare), ambalare și transport.

2. Analiza inventarului

Această fază a implicat colectarea datelor și proceduri de calcul pentru a cuantifica intrările și ieșirile relevante ale sistemului.

Datele de inventar:

- Materiale:
 - Seminte (tip si cantitate)
 - Mediu de creștere (tip și cantitate)
- Energie:
 - Consumul de energie electrică al lămpilor LED Osram Phytofy
 - Consumul de energie electrică al pompelor automate de irigare
- Apă:
 - Utilizarea apei pentru irigare

- Nutrienți:
 - Tipul și cantitatea de nutrienți utilizați
- Ambalare:
 - Tipul și cantitatea materialelor de ambalare
- Transport:
 - Distanța și modul de transport pentru produsul final

3. Evaluarea impactului

Această fază a evaluat potențialele impacturi asupra mediului asociate cu intrările și ieșirile identificate în analiza inventarului.

Categoriile de impact:

- Potențial de încălzire globală (GWP)
- Potențialul de eutrofizare
- Potențial de acidificare
- Potențialul de creare a ozonului fotochimic
- Epuizarea resurselor
- Toxicitate umană

4. Interpretare

Rezultatele evaluării impactului sunt interpretate pentru a trage concluzii și a oferi recomandări pentru îmbunătățirea performanței de mediu a procesului de producție microplante:

- Impactul primar asupra mediului în procesul de producție microverde este asociat cu consumul de energie electrică pentru iluminatul LED și irigarea, materialele de ambalare și transport.
- Cea mai mare contribuție la potențialul de încălzire globală vine din electricitatea utilizată pentru iluminat și irigare.

Măsuri de implementat:

- Eficiență energetică: Utilizarea de sisteme de iluminat LED mai eficiente din punct de vedere energetic și optimizarea programelor de irigare pentru a reduce consumul de energie.
- Energie regenerabilă: Luați în considerare utilizarea surselor de energie regenerabilă, cum ar fi panourile solare, pentru a compensa consumul de energie electrică.
- Conservarea apei: Implementarea sistemelor de reciclare a apei pentru a minimiza utilizarea apei.
- Aprovizionare locală: identificarea de sursă de materii prime la nivel local pentru a reduce distanțele de transport și emisiile asociate.

De asemenea, s-a realizat analiza cost-beneficiu pentru producția de microplante:

Analiza de calcul a profitabilității pentru *Ocimum basilicum*:

Cost Total producție: $4.6+3.6+0.184+202.52+50.22+2.07=263.194$ EUR
 $4.6 + 3.6 + 0.184 + 202.52 + 50.22 + 2.07 = 263.194$

Preț de vânzare de 20 EUR/kg și o producție de 20 kg: $20 \text{ EUR/kg} \times 20 \text{ kg} = 400 \text{ EUR}$

Profit Net: 400 EUR–263.194 EUR=136.806 EUR

Analiza de calcul a profitabilitatii pentru Quinoa chenopodium:

Cost Total: 4.6+3+0.184+202.52+25.11+2.07=237.484 EUR

Preț de vânzare de 18 EUR/kg și o producție de 20 kg: 18/kg×20kg= 360 EUR

Profit Net: 360 EUR–237.484 EUR=122.516 EUR

Analiza arată că producția de microplante este viabilă din punct de vedere economic, cu un profit net cuprins între 122 - 136 EUR, la o producție de minim 20 kg de microplante. Impactul asupra mediului este semnificativ, mai ales în termeni de potențial de încălzire globală și epuizare a resurselor.

Totodată, s-a elaborat ***Tehnologia de cultivare a microplantelor de busuioc și quinoa cu continut fenolic ridicat***. Pentru elaborare, prin consultare continuă cu partenerii P1 și P2, s-au analizat și s-au introdus în tehnologia de cultivare elaborată, următoarele aspecte tehnologice:

1. Protocolul de cultivare – s-au revizuit procedurile existente:

- Analiza metodelor de semănare, iluminare, irigare și recoltare utilizate la scară mică.
- Identificarea factorilor esențiali pentru succesul cultivării: compoziția spectrală a luminii, numărul de semințe/ghiveci și numărul de ghivece/sursa de iluminare

2. Planificarea Scalării

2.1 Definierea Obiectivelor

- Stabilirea obiectivelor de producție: cantitate minim 400 plantule/unitate de iluminare sau minim 70 de recipiente de cultivare pentru o suprafață de 300 cm².
- Determinarea resurselor necesare (spațiu, echipamente)

2.2 Selecția Spațiului de Cultivare

- Alegerea unei locații adecvate care să permită controlul mediului (fitotron sau echivalent).
- Configurarea infrastructurii pentru suport logistic și operațional.

3. Realizarea diagramei de flux pentru organizarea activităților

4. Managementul Resurselor

- S-a analizat modul de achiziționare de semințe de calitate superioară în cantități mari, cu analize inițiale, privind germinatia semintelor
- S-a stabilit selectarea substratului optim pentru scalarea producției (sol cu caracteristici fizico-chimice definite) și a compoziției soluției fertilizante.

5. Asigurarea Calității

- Implementarea unui program de control al calității care să includă testarea periodică a produselor pentru conformitatea cu standardele de siguranță și calitate.
- Documentarea și gestionarea non-conformităților și luarea de măsuri corective.

6. Analiza de tip Life Cycle Assessment pentru tehnologia de cultivare a microplantelor de busuioc și de quinoa

Prin elaborarea unei tehnologii de cultivare, bazată pe un protocol scalat de cultivare a microplantelor de la nivel de laborator la nivel de producție prin standardizarea procedurilor, monitorizarea atentă a mediului și asigurarea calității, este posibilă realizarea unei producții eficiente și sustenabile, care să răspundă cerințelor pieței.

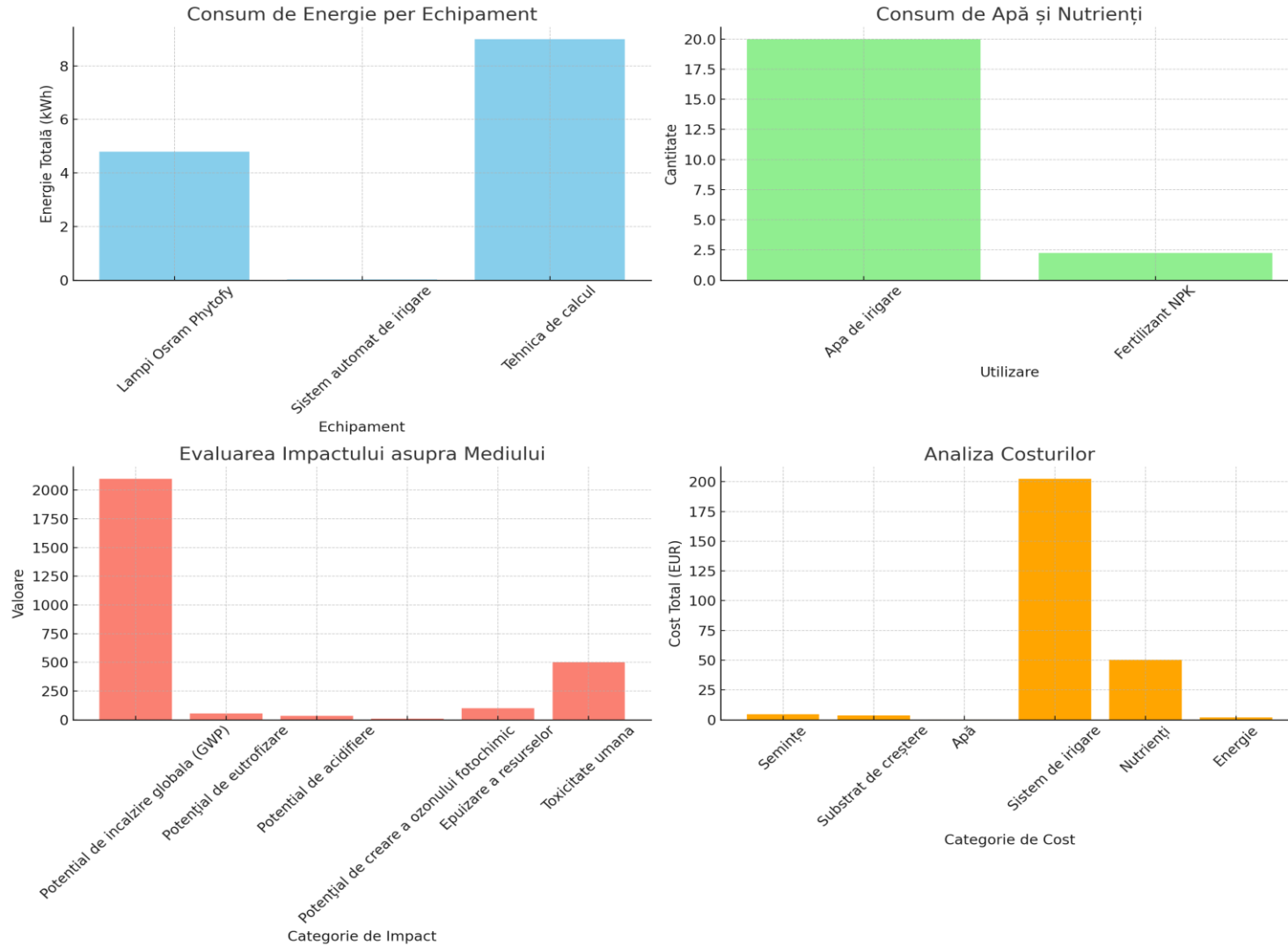


Fig. 25 Analiza cost-beneficiu pentru productia de microplante de *Ocimum basilicum*

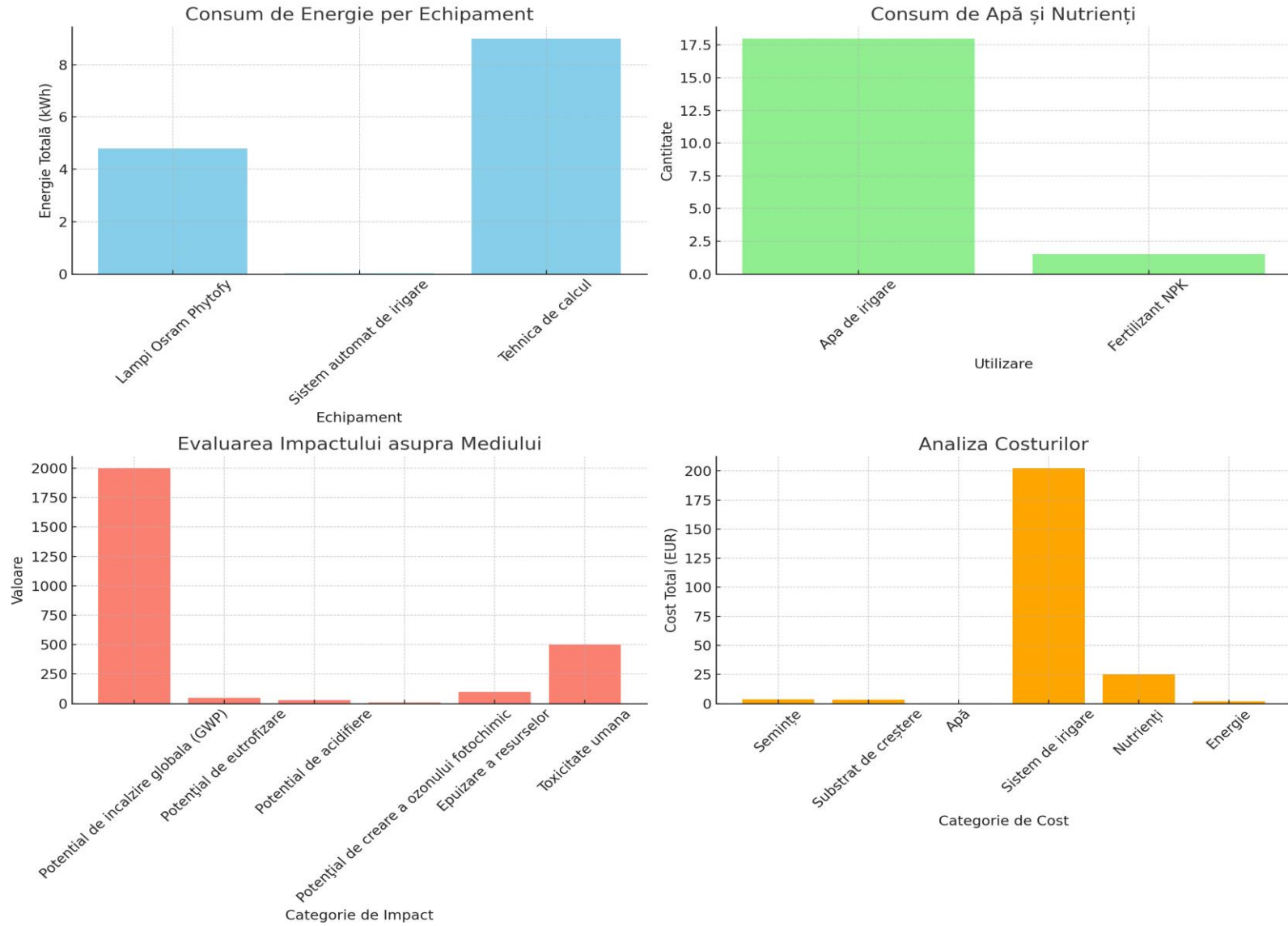


Fig. 26 Analiza cost-beneficiu pentru productia de microplante de *Quinoa chenopodium*

3.2. Implementare sistem scalat, Colectare date de viabilitate, morfometrice si biochimice, Analiza statistica date – indeplinit 100%: pentru a standardiza cultivarea microplantulelor de busuioc si de quinoa la nivel de productie, s-au analizat o serie de elemente care sa permita obtinerea unui sistem performant, din punct de vedere al obtinerii de microplante cu continut ridicat de compusi fenolici, cu potential economic. In acest sens, s-a realizat cultivarea unor serii de microplante de busuioc si quinoa la partenerul P1 (Fig. 1-4), in paralel cu realizarea unor analize morfometrice si biochimice.

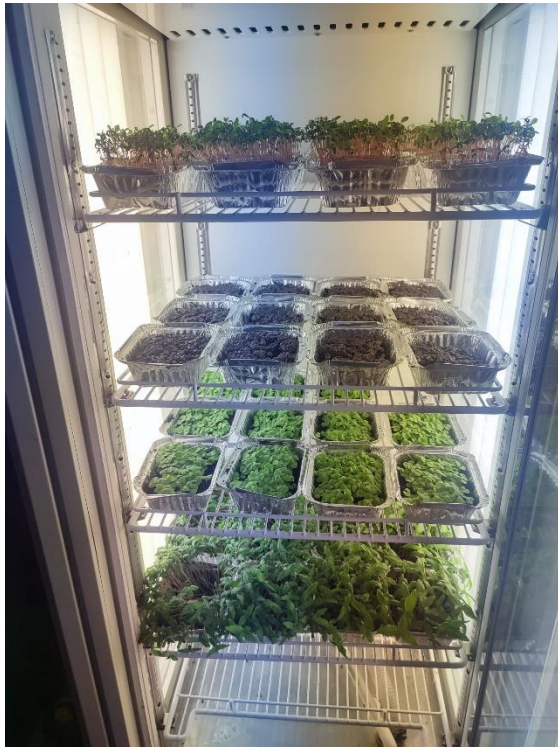


Fig. 1. Microplante de quinoa cultivate in camera de crestere, partener P1



Fig. 2. Microplante de quinoa cultivate in camera de crestere, partener P1



Fig. 3. Microplante de quinoa, cultivate in fitotron, partener P1



Fig. 4. Microplante de quinoa, cultivate in fitotron, partener P1



Fig. 5. Microplante de busuioc cultivate in fitotron, sub lumina alba, cu irigare, partener P1



Fig. 6. Microplante de busuioc cultivate in camera de crestere, sub lumina modulata, cu irigare, partener P1



Fig. 7. Microplante de quinoa, cultivate in fitotron, partener P1



Fig. 8. Microplante de quinoa, cultivate in fitotron, partener P1



Fig 9. Microplante de quinoa cultivate in fitotron, partener P1

Fig. 10. Microplante de busuioc cultivate in fitotron, partener P1

Pentru a optimiza productia pentru quinoa, s-a considerat si influenta genetica a soiurilor, cultivandu-se 3 soiuri: Titicaca, Vikinga si Puno. S-a urmarit cresterea acestora pe o perioada de 14 zile si s-a evaluat viabilitatea - dimensiunea, ca lungime si suprafata foliara, culoare si continut de apa.

Lungimea microplantelor a fost măsurată cu o riglă. S-au realizat 3 experimente, cu fiecare soi in parte, si, pentru fiecare varianta experimentală au fost măsurate câte 45 de plante, respectiv câte 15 plante din fiecare repetiție.

Biomasa proaspătă a fost determinată cu o balanță analitică cu 3 zecimale, cântărindu-se toate plantele din tăviță, iar rezultatele au fost exprimate în grame per 100 plante.

Conținutul de apă a fost determinat după uscarea în etuvă a plantelor la 50°C, până la greutate constantă (timp de 48 de ore) și este exprimată în procente (%).

Suprafața frunzelor a fost determinată pentru toate plantele din tăviță, iar rezultatele au fost raportate in cm² la 100 plante. Aparatul folosit pentru determinarea suprafeței foliare a fost LI-3100C area meter, LI-COR, (Lincoln, NE, USA). Parametrii de culoare ai microplantulelor de quinoa au fost determinati cu aparatul MiniScan XE Plus produs de HunterLab, Reston, VA, SUA. Parametrii studiați au fost L, a și b – luminozitate, culoare rosu/verde si culoare galben/albastru.

Tabel 1. Lungimile medii pe experiment a microplantelor de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1

Soi	lumina	Experiment	lungime medie	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15
Titicaca	lumina alba	Exp 1	7.8	8.0	8.5	8.3	8.5	7.9	7.3	9.2	8.0	5.6	8.5	5.5	9.3	8.2	6.0	7.5
Titicaca	lumina alba	Exp 2	8.7	9.0	9.5	7.0	8.0	7.9	8.2	8.7	9.0	9.2	9.0	9.3	10.0	9.4	8.0	7.9
Titicaca	lumina alba	Exp 3	8.9	8.7	8.0	8.0	9.5	7.5	9.2	8.5	10.0	9.5	8.0	9.7	9.3	9.5	9.6	8.4
Titicaca	lumina modulata	Exp 1	8.6	9.1	8.6	7.0	8.5	10.0	9.1	9.0	8.4	7.4	8.6	8.8	8.5	8.3	9.5	7.5
Titicaca	lumina modulata	Exp 2	6.8	7.5	5.0	6.0	7.5	6.5	7.3	7.5	7.0	4.3	6.5	8.0	8.0	5.7	7.4	7.5
Titicaca	lumina modulata	Exp 3	7.2	8.0	6.5	9.0	6.5	7.0	7.5	6.4	9.4	7.4	6.7	6.5	8.5	7.0	5.5	5.7
Vikinga	lumina alba	Exp 1	7.5	7.8	8.3	6.4	6.4	6.4	8.0	7.5	7.8	8.0	7.5	7.6	7.9	6.7	7.5	8.0
Vikinga	lumina alba	Exp 2	7.4	8.5	7.9	8.6	7.9	8.5	7.5	7.4	7.5	6.5	7.0	4.5	7.0	7.5	7.0	8.0
Vikinga	lumina alba	Exp 3	8.0	9.8	8.0	8.0	9.5	9.5	7.0	7.0	6.7	8.5	8.0	6.7	7.0	6.6	9.0	8.5
Vikinga	lumina modulata	Exp 1	7.0	7.5	4.6	6.7	7.0	6.7	7.6	7.0	7.4	7.0	7.8	8.0	7.0	5.5	7.9	7.4
Vikinga	lumina modulata	Exp 2	7.0	5.5	6.4	5.5	7.4	7.3	7.0	5.2	6.5	8.0	7.0	8.2	8.3	8.0	7.0	7.5
Vikinga	lumina modulata	Exp 3	6.8	7.0	4.3	6.5	6.4	4.5	6.5	8.5	7.0	8.5	8.0	6.5	8.2	6.3	6.5	7.4
Puno	lumina alba	Exp 1	7.4	6.5	6.0	6.5	7.5	7.0	6.5	7.5	8.5	8.0	8.5	8.3	8.5	7.3	7.5	7.0
Puno	lumina alba	Exp 2	7.8	7.5	7.5	8.0	8.5	9.0	7.5	8.5	7.5	8.6	8.5	7.5	7.0	6.5	7.0	7.5
Puno	lumina alba	Exp 3	6.6	6.3	6.5	6.3	6.4	6.6	6.5	7.0	7.5	7.6	6.0	6.5	7.2	5.5	6.5	6.4
Puno	lumina modulata	Exp 1	7.8	8.7	5.6	7.2	7.8	9.0	8.8	8.5	6.4	8.4	8.0	8.4	9.0	7.6	5.4	8.0
Puno	lumina modulata	Exp 2	6.9	8.5	8.0	7.5	4.5	7.5	6.5	7.0	6.5	6.4	5.2	7.3	7.5	8.0	6.5	6.0
Puno	lumina modulata	Exp 3	7.9	8.0	6.0	7.5	7.5	8.0	8.2	8.5	8.6	7.5	8.3	8.5	9.0	6.8	8.6	8.0

Tabel 2. Lungimile medii pe varianta experimentală a microplantelor de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1

Soi x lumina	S x M	soi	mediu
Titicaca x lumina alba	8.44	7.97	7.77
Titicaca x lumina modulata	7.50	7.28	7.32
Vikinga x lumina alba	7.62	7.39	
Vikinga x lumina modulata	6.93		
Puno x lumina alba	7.26		
Puno x lumina modulata	7.53		

Tabel 3. Caracteristicile morfometrice si de culoare la microplante de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1

Soi	lumina	Experiment	Nr plante	greutate verde (g)	Suprafol LAI (cm ²)	Culoare
Titicaca	lumina alba	Exp 1	253	13.858	138.283	16-20
Titicaca	lumina alba	Exp 2	224	8.301	159.736	21-25
Titicaca	lumina alba	Exp 3	212	8.179	183.369	46-50
Titicaca	lumina modulata	Exp 1	210	7.863	156.658	36-40
Titicaca	lumina modulata	Exp 2	202	7.705	144.736	41-45
Titicaca	lumina modulata	Exp 3	172	5.369	119.897	61-65
Vikinga	lumina alba	Exp 1	160	14.439	154.363	1-5
Vikinga	lumina alba	Exp 2	157	15.260	173.378	6-10
Vikinga	lumina alba	Exp 3	155	11.747	92.826	11-15
Vikinga	lumina modulata	Exp 1	180	8.364	140.932	26-30
Vikinga	lumina modulata	Exp 2	182	8.532	183.857	31-35
Vikinga	lumina modulata	Exp 3	160	5.033	103.934	51-60
Puno	lumina alba	Exp 1	197	7.110	140.358	61-65
Puno	lumina alba	Exp 2	199	7.048	159.463	66-70
Puno	lumina alba	Exp 3	175	6.451	121.546	71-75
Puno	lumina modulata	Exp 1	190	7.179	161.432	76-80
Puno	lumina modulata	Exp 2	187	7.170	158.216	81-85
Puno	lumina modulata	Exp 3	181	4.820	114.258	86-90

Tabel 4. Caracteristicile morfometrice la microplante de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1 – influenta soiului

Soi	Masa medie / 100 pl	LAI/ 100 PL
Titicaca	3.9536	71.4035
Vikinga	6.4672	85.1785
Puno	3.5188	75.5887

Tabel 5. Caracteristicile morfometrice la microplante de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1 – influenta luminii

Lumina	Masa medie / 100 pl	LAI/ 100 PL
lumina alba	5.5779	77.7882
lumina modulata	3.7151	76.9923

Tabel 6. Caracteristicile morfometrice la microplante de quinoa cultivate in sistem de productie la partener P1 – influenta soi x lumina

Soi x Lumina	Masa medie / 100 pl	LAI/ 100 PL
Titicaca X lumina alba	4.3471	70.8209
Titicaca X lumina modulata	3.5601	71.9860
Vikinga X lumina alba	8.7743	88.9322
Vikinga X lumina modulata	4.1601	81.4249
Puno X lumina alba	3.6124	73.6116
Puno X lumina modulata	3.4252	77.5659

Totodata, s-a analizat continutul de acizi fenolici la microplantele cultivate in regim de productie, pentru a evalua implementarea cu succes a scarii (Tab 7). S-a constatat ca regimul de lumina conduce la cresteri similare de acizi fenolici, inclusiv in sistem scalat, ceea ce indica fezabilitatea protocoalelor elaborate. Cresterea a fost cuprinsa intre 142%, la acid ferulic si 186%, la acid rosmarinic. In paralel, s-a realizat si analiza biochimica a activitatii antioxidante, unde, de asemenea, s-a constatat o pastrare a proportiilor acestei activitati intre microplante cultivate cu lumina modulata si cele cultivate cu lumina alba (Tab. 8).

Tabel 7. Concentratiile de acizi fenolici individual in microplantule de busuioc cultivate in regim de microproductie – partener P1 (valorile sunt redate in µg/g material planta uscata)

Soi	Regim	Tratament	Gallic acid	3,4-Dihydroxybenzoic acid	Vanillic acid	Caffeic acid	Coumaric acid	Ferulic acid	Rosmarinic acid
Rosu	fertilizant	BRUV	0.30	0.83	2.54	1.90	2.07	0.16	387.53
		White	0.36	0.77	2.57	10.53	1.78	0.10	272.61
	apa	BRUV	0.25	0.77	2.51	1.77	2.05	0.12	352.16
		White	0.31	0.61	2.42	4.84	1.65	0.10	265.58
Verde	fertilizant	BRUV	0.22	0.28	3.97	2.18	0.25	0.08	22.42
		White	0.19	0.28	2.42	1.28	0.35	0.01	13.02
	apa	BRUV	0.18	0.33	3.50	1.67	0.21	0.05	22.83
		White	0.27	0.32	3.02	1.37	0.36	0.02	12.57

Tabel 8. Procentajul activitatii antioxidante al extractelor de Ocimum basilicum cultivate sub lumina alba (LA) si lumina modulata (LC) – valori exprimate ca % inhibitie a DPPH

Experiment	BVLA	BRLA	BVLC	BRLC
Exp 1	51.03858	36.79525	54.30267	49.4362
Exp 2	48.66469	52.81899	64.68843	62.25519
Exp 3	50.14837	49.85163	62.90801	59.88131
Medie	49.95054	46.48863	60.63304	57.1909

Diseminarea rezultatelor – realizat 100%:

- Elaborarea si trimiterea cererii de brevet cu titlul „Metodă de obținere a microplantelor de Ocimum basilicum L. prin modularea spectrului luminos”, autori Lobiuc Andrei, Stoleru Vasile, Paval Naomi Eunicia, Gheorghită Roxana, Covasa Mihai, cerere inregistrata cu numarul A00377/28.06.2024
- S-a realizat o conferinta comuna, cu titlul *Cultivarea modulată a microplantulelor – metodologie, provocări, oportunități* sustinuta de membrii echipei de management si implementare de la Institutia coordonatoare si de la partenerul P1



Aspecte din timpul conferinței „Cultivarea modulată a microplantulelor – metodologie, provocări, oportunități”

- Diseminarea prin intermediul site-ului a inclus restructurarea acestuia și includerea de informații relevante, pentru publicul larg dar și pentru cercetători
- Trimiterea către publicare a lucrării Teliban, G.-C.; Pavăl, N.-E.; Mihalache, G.; Burducea, M.; Stoleru, V.; Lobiuc, A. Design Modulated Light on Physiological and Molecular Processes in Phenolic Compounds Production of *Ocimum basilicum* L.. Preprints 2024, 2024062029. <https://doi.org/10.20944/preprints202406.2029.v1>, în jurnalul indexat Web of Knowledge Horticulturae, cu identificatorul horticulturae-3102725

Director de proiect
Lobiuc Andrei