



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00958**

(22) Data de depozit: **05/12/2016**

(41) Data publicării cererii:
29/06/2018 BOPI nr. **6/2018**

(71) Solicitant:

- COPE S.A., SAT MANOAIA DN 15, COMUNA COSTISA, NT, RO;
- PHARMACORP INNOVATION S.R.L., SPLAIUL UNIRII NR. 313, ET. 2, CAM.6, SECTOR 3, BUCUREŞTI, B, RO;
- UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREŞTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.313, SECTOR 6, BUCUREŞTI, B, RO;
- AGSIRA S.R.L., STR. NICOLAE BĂLCESCU NR. 54, HALA NR. 2 SAT ISALNIȚA, COMUNA ISALNIȚA, DJ, RO

(72) Inventatori:

- SÎRBU ALEXANDRINA, STR. CALEA LUI TRAIAN NR. 284D, RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO;
- BĂRBULESCU IULIANA DIANA, ALEEA MACULUI, BL. FA22, SC. A, ET. 2, AP. 5, SLATINA, OT, RO;

• BEGEA MIHAELA, STR. GRĂDIŞTEA NR.3, BL.A 9, SC.A, ET.1, AP.4, SECTOR 4, BUCUREŞTI, B, RO;

• RADIAN NICOLAE NEGRILA, STR. AMARADIA NR. 81, SC. 1, AP. 4, CRAIOVA, DJ, RO;

• MACOVEI MIHAELA, STR. 1 DECEMBRIE 1918 NR. 57, BL. B15, SC.B, AP. 31, PIATRA NEAMȚ, NT, RO;

• MARINESCU SIMONA-IOANA, ȘOS. IANCULUI NR. 68, SECTOR 2, BUCUREŞTI, B, RO;

• ARGHIRE CAMELIA, BD. 9 MAI NR. 19, BL. B10, SC.B, ET. 4, AP. 40, PIATRA NEAMȚ, NT, RO;

• HOROI LĂCRĂMIOARA, STR. ION IONESCU DE LA BRAD NR. 69, BL. 69, SC. B, ET. 2, AP. 6, PIATRA NEAMȚ, NT, RO;

• CÎRIC ALEXANDRU, STR. GLADIOLELOR NR. 10, BL. 5, ET. 6, AP. 50, SAT ROŞU, COMUNA CHIAJNA, IF, RO

(54) **PRODUSE DE PANIFICAȚIE ȘI BIOMASĂ DE DROJDIE DE BERE ÎMBOGĂȚITE ÎN SELENIU ORGANIC**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la procedee de obținere a unor produse de panificație și biomasă de drojdie de bere îmbogățite în seleniu organic. Procedeele conform inventiei constau în următoarele faze:

1. obținerea bioingredientului pe bază de drojdie de bere îmbogățit în seleniu organic maximum 99,9%, concentrația de selenit și selenat <1% din seleniu total, ca materie primă pentru panificație, prin prepararea culturii de întreținere, preinocul și inocul a drojdiei *S cerevisiae* DBVPG 38 P, însămânțarea mediului de fermentație cu inocul lichid, separarea și purificarea biomasei, optional uscare, care se amestecă cu

drojdie uzată de bere în diferite rapoarte, urmată de uscare prin liofilizare/atomizare, și

2. obținerea produselor de panificație îmbogățite în seleniu organic prin metoda directă, folosind făină albă de grâu având conținutul de gluten umed peste 30%, apă, sare, optional alte ingrediente, în calitate de afânător biochimic fiind utilizat bioingredientul obținut la punctul 1, în amestec cu drojdie de panificație.

Revendicări: 22

Figuri: 2

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



Descrierea inventiei

PRODUSE DE PANIFICATIE SI BIOMASA ÎMBOGĂTITE CU SELENIU ORGANIC SI PROCEDEE DE OBTINERE, PRIN VALORIZAREA DROJDIEI UZATE DIN INDUSTRIA BERII

Domeniul tehnic la care se referă inventia este: Biotehnologii alimentare. Industria alimentară

Domeniul de aplicare al inventiei este cel destinat realizării produselor functionale pentru persoane cu carentă în seleniu, contribuind la dezvoltarea pietei de produse alimentare functionale, pentru o dietă sănătoasă.

Prezentarea stadiului tehnicii:

În zilele noastre consumatorii europeni au devenit tot mai preocupati de o alimentatie sănătoasă care vizează îmbunătătirea calității vietii pe termen lung, principalele lor cereri fiind formulate cu privire la nutrientii alimentari și functionalitatea acestora (Euromonitor International, 2014). Oferta alimentară s-a aliniat în funcție de evolutia preferintelor consumatorilor și astfel s-a dezvoltat piata produselor alimentare functionale. Industria de panificatie a început să dezvolte o gamă largă de produse fortificate, precum sunt produsele îmbogătite cu minerale, îmbogătite cu vitamine etc. Fortificarea alimentelor este de obicei considerată ca o adăugare deliberată a unuia sau mai multor micronutrenti în anumite produse alimentare, astfel încât să crească aportul acestor micronutrenti, pentru a corecta sau a preveni o deficiență demonstrată, respectiv pentru un efect fiziologic cert sau să ofere un beneficiu de sanatate. Potentialele beneficii ale alimentelor fortificate cu micronutrenti sunt influențate de factori precum, nivelul de fortificare, biodisponibilitatea micronutrientului adăugat și cantitatea de alimente fortificate ingerate (Ghid OMS).

Seleniul are un rol bine determinat în organismul uman, fiind implicat în producerea unor selenoproteine, compuși cu puternic caracter antioxidant, care ajută organismul să prevină efectele radicalilor liberi; astfel, seleniul contribuie la protejarea ADN-ului, a proteinelor și a lipidelor împotriva degradării oxidative. În calitate de antioxidant biologic, seleniul previne lezarea și distrugerea celulelor, stimulează productia de anticorpi proprii organismului, și are un efect hepatoprotector important, prin implicarea în funcțiile de detoxifiere hepatică; previne declinul mental și reduce riscul apariției unor forme de cancer și incidența anumitor boli cardiovasculare. Seleniul influențează pozitiv (stimulează) fertilitatea masculină și are capacitatea de a reduce din toxicitatea unor metale precum mercur, cadmiu și plumb în organism. Carentă de seleniu conduce la dezvoltarea bolilor de inimă (sindromul Keshan), afectiunilor articular-osoase (boala Kashin-Beck), hipertiroidismului, retardului psihic și la slăbirea sistemului imunitar. Pe de altă parte, abuzul de seleniu crește riscul de diabet zaharat de tipul 2, iar concentrații mari de seleniu (>100 µg/dL) pot duce la afecțiunea numită selenoză. Pentru a evita intoxicarea cu seleniu, s-au stabilit doze zilnice recomandate, intervalul de variație cantitativă fiind dependent de sursa citată: 20...50-60 µg Se/ zi, în funcție de sex și de vârstă (EFSA, 2008), respectiv 25-40 µg Se/ zi, în funcție de sex și de vârstă (WHO/FAO, 2004).

Aportul de seleniu în alimentația tradițională, prin consumul de produse alimentare ce reprezintă surse naturale de seleniu (de ex. algele marine, fructele de mare, pestă, carne rosie, carne de pui, ficat și rinichi) este variabil la nivel mondial, studiile clinice din ultimii 10 ani demonstrând că europenii prezintă carentă în seleniu,

ceea ce impune consumul de produse alimentare bogate sau îmbogățite în seleniu. Consumul zilnic de referinta de seleniu (adulti), valoarea nutritionala de referinta (VNR) este de 55 μ g / zi seleniu (Regulament UE 1169/2011)

Tinând cont de faptul că prin alimentație coeficientul de utilizare digestivă a seleniului este de 30-70%, iar afecțiunile grave ale sistemului digestiv pot să scadă absorbția seleniului, s-a considerat că seleniul, cantitativ, poate fi preluat prin nutriție din alimente într-o cantitate majorată, raportată la doza recomandată.

Conform Reg. CE nr. 1925/2006 seleniul, ca mineral, poate fi adăugat în produsele alimentare sub formă de drojdie îmbogățită cu seleniu, selenat de sodiu, selenit acid de sodiu și selenit de sodiu. În conformitate cu Reg. UE 1169/2011 și Reg. CE 1924/2006 produsele alimentare "bogate în seleniu" conțin cel puțin de două ori valoarea cerută pentru mențiunea „sursă de Se” ca mențiune nutrițională, dacă nu există alte mențiuni de sănătate specifice.

În ceea ce privește fortificarea produselor de panificație cu seleniu, a fost lansată pe piață pâinea îmbogățită cu seleniu, dar aceasta s-a obținut prin biofortificarea agronomică a graului, materie primă în morărit.

Alte căi de îmbogățire a pâinii în seleniu sunt suplimentarea cu seleniu organic sau anorganic sau utilizarea de culturi de microorganisme (drojdii, bacterii lactice etc.) imbogatite cu seleniu. Conform Rayman et al (2004), drojdia îmbogățită cu seleniu este mai puțin toxică decât sursele anorganice de seleniu.

Un exemplu de produs obținut printr-un procedeu de imbogatire a drojdiei cu seleniu pentru a fi utilizat pentru aplicații alimentare inovatoare este Lalmin™, realizat de Lallemand. Lalmin™ Se (aprobat de EFSA) este o drojdie cu celulă întreagă inactivată, care conține niveluri ridicate de seleniu organic legat ca L(+)-selenometionina, o formă ușor disponibilă pentru organism. Lalmin® Se1000 Se este produs dintr-o tulipină specifică de *Saccharomyces cerevisiae* selectată pentru capacitatea sa de a asimila o cantitate mare de seleniu în selenometionină.

În prezent se cunosc procedee de obtinere de biomasa de drojdie seleniata care utilizează tulpieni de drojdii adaptate prin alte procedee.

Produsul cu denumirea comercială Sel-Plex 2000 (FAD-2009-29) este o drojdie îmbogățită cu seleniu sub forma inactivă (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060), conținând 2000-2400 mg seleniu total / kg, cu un maxim de 3% din seleniu anorganic rezidual . Sel-Plex @ este o drojdie (non-viabilă) de panificație uscată, *Saccharomyces cerevisiae* CNCM 1-3060, cultivată într-un mediu de fermentație îmbogățit cu seleniu. Tulpina *S. cerevisiae* CNCM-1-3060 a fost selectată dintr-un program de screening pentru capacitatea sa de a acumula seleniu în cantități mari și în formă organică; această tulipină este depozitată în Institutul Pasteur identitatea și puritatea acestuia sunt garantate printr-un număr de metode, (Ness et al., 1993). July 2,2010 Sel-Plex GRAS Amendment-FINAL06.ALLT004.02

Produsul legat de aplicarea FAD-2010-44 și cu denumirea comercială Selemex 1000 și 2000 este o drojdie îmbogățită cu seleniu inactivă (*Saccharomyces cerevisiae* NCYC R646) care conține un minim de 1000 și 2000 mg seleniu total / kg, respectiv, cu un maxim de 2% din seleniu anorganic rezidual (EFSA Journal 2012; 10 (7): 2778).

În conformitate cu informațiile furnizate de către majoritatea aplicanților, produsul de drojdie uscată finală a fost pe baza de drojdie sub formă de pulbere îmbogățită cu seleniu ce prezintă un conținut de seleniu mediu (Se) de aproximativ 2 mg Se / g. Conținuturile raportate de diferiți aplicați se stabilesc în intervalul 1.0-2.4 mg Se / g. Caracteristicile detaliate ale produsului au fost furnizate majorității ca produse individuale, inclusiv conținutul de apă (5-7%), proteine (în mod normal, în

intervalul 40-50%, dar, într-un caz 28%), glucide (11-48%), grăsimi (2-8%) și cenușă reziduală (5-10%). Seleniu anorganic (IV) este în mod normal găsit la mai puțin de 1% din total, confirmând că, practic, toate formele de seleniu prezente sunt legate organic. Proportia rămasă este suma speciilor minore.

Brevetul RO 00116770 se referă la un procedeu de obținere a biomasei de drojdie îmbogățită cu compuși organici ai seleniului, care constă în cultivarea drojdiilor pe un mediu în care sursa de sulf este reprezentată de un derivat al acidului tiazolidin-4-carboxilic, sursa de seleniu este reprezentată de selenit de sodiu chelatat în plasmolizat de drojdie, iar acumularea de sulf și de seleniu în biomasă este facilitată de alternarea ciclurilor de dezvoltare aerobă și anaerobă.

Brevetul RO 00118840 conține un procedeu de obținere a comprimatelor de drojdie îmbogățite cu seleniu, prin prepararea unei suspensii din drojdie de panificație care se dezvoltă pe un mediu lichid, cu: peptonă, zaharoză 3%, la un pH 6 ajustat cu NaOH 0,1 N și soluția cu sareea microelementului de seleniu (IV) din 0,20...0,80 mg selenit de sodiu cu concentrația de Se 0,125...0,500 mM; soluția cu sareea de seleniu (IV) se adaugă mediului lichid la începutul fermentației în timpul 0, se multiplică celulele de drojdie, se centrifughează, sedimentul se spală, se usucă, se liofilizează, se inactivizează și din drojdia obținută se prepară comprimate prin tehnici cunoscute.

Brevetul RO 00122013 se referă la un procedeu de obținere a unui biopreparat de drojdie seleniată, din culturi de *Saccharomyces cerevisiae*, constituit din următoarele faze: a) prepararea unei culturi de întreținere, dintr-o tulpină pură de *Saccharomyces cerevisiae*; b) prepararea unei culturi de preinocul, pornind de la cultura de întreținere; c) prepararea unei culturi de inocul 1, pornind de la cultura de preinocul; d) prepararea unei culturi de inocul 2, pornind de la cultura de inocul 1; e) realizarea biopreparatului prin fermentarea unui mediu de cultură însămânțat cu inocul 2, separarea biomasei de drojdie și prelucrarea acesteia.

Prezentarea problemei tehnice: Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor produse de panificație îmbogățite cu seleniu prin adăugarea de drojdie de bere biofortificată în seleniu organic și, totodata, prin valorificarea drojdiei rezultate din procesul de producere a berii. Aceasta reprezintă un grup de inventii, iar conceptul general al inventiei este de a utiliza biomasă de drojdie de bere, și anume biomasă de drojdie îmbogățită cu seleniu organic în amestec cu biomasă de drojdie rezultată din procesul de fabricare a berii, în scopul de a produce o drojdie de bere îmbogățită cu seleniu, ce va fi uscată și utilizată în industria de panificație pentru a obține produse funcționale, biofortificate în seleniu.

Problema tehnică rezolvată prin această inventie se referă la un procedeu de obținere a produselor de panificație biofortificate fabricate din făină albă de grâu, afânători biochimici, apă, sare și optional alte ingrediente, în calitate de afânători biochimici utilizându-se drojdie de panificație în amestec cu biomasă de drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic, obținută printr-un procedeu microbiologic nou.

Valorificarea drojdiei uzate de bere folosita pentru obtinerea drojdiei active imbogatite in seleniu organic utilizeaza compusi anorganici de selenit de sodiu. Spre deosebire de alte produse, aceasta are cel mai mare continut de seleniu organic (97-99.9%) si elimina dezavantajul utilizarii de drojdi cu un continut mai scazut de 97-99.9% seleniu organic. Totodata, conform EFSA, are un continut de selenit si selenat sub 1 % din totalul de seleniu incorporat.

Prin aplicarea procedeelor biotecnologice menționate se urmărește obținerea unor produse noi, cu acțiune antioxidantă biologică, care prin consum alimentar contribuie la menținerea stării de sănătate și evitarea carentelor de seleniu.

Produsele inovatoare biofortificate în seleniu sunt sigure în consum, iar caracteristicile senzoriale sunt competitive/ asemănătoare cu cele ale produselor obișnuite.

Aceste produse îmbogățite cu seleniu organic sunt o alternativă viabilă pentru suplimentele alimentare de seleniu folosite în prezent de numerosi oameni. Consumul recomandat de pâine ar fi de circa 2-4 felii de paine fortificata zilnic. Pe de altă parte, procedeul microbiologic propus permite și o valorificare superioară a drojdiei de bere - subprodus din industria berii, cu un impact pozitiv asupra dezvoltării durabile.

Invenția se referă la un grup unitar de produse și de procedee noi, prin care să se obțină produse alimentare biofortificate cu seleniu organic, cu aplicabilitate industrială în panificație. Problema tehnică pe care o rezolvă această inventie respectă următorii pași:

1. Obținerea materialului biologic, *Saccharomyces cerevisiae*, tulipă izolată din drojdie de bere lichidă, identificata cu nr DBVPG 38P și utilizata pentru obtinerea de bioamasa imbogatita cu seleniu organic
2. Obținerea biomasei de drojdie imbogatita cu seleniu organic prin valorificarea drojdiei rezultate din procesul de producere a berii, urmată de uscare, în vederea folosirii în calitate de bioingrediant (materie primă) în panificație (procedeul se bazează pe utilizarea produsului obținut prin procedeul microbiologic 1)
3. Obtinerea de produse de panificatie imbogatite cu seleniu organic, utilizând ca materie primă biomasă de drojdie imbogatita cu seleniu organic, prin valorificarea drojdiei rezultate din procesul de producere a berii sub formă de drojdie seleniată (procedeul se bazează pe utilizarea produsului obținut prin procedeul biotecnologic 2)

(1) **Obținerea materialului biologic**, *Saccharomyces cerevisiae*, tulipă izolată din drojdie de bere lichidă și utiliza pentru obtinerea de bioamasa imbogatita in seleniu organic:

1.1.Obtinerea culturii stoc de intretinere –reprezinta cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P

Cultura de intretinere se obtine din insamantarea mediului (malt extract 2 % si peptona 0.3%, agar 2.5-3 %) in placi cu 1 ml de cultura *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P.Se selecteaza si se formeaza cultura stoc de intretinere.

1.2.Obtinerea preinocului de laborator: din cultura stoc se insamanteaza cultura preinocul pe mediu inclinat pe baza de (extract de drojdie, peptona, zaharoza, agar agar) si se incubeaza la 30°C pentru 40-48 h.

1.3.Cultura inocul lichid se prepara din ½ tuburi de cultura preinocul, prin insamantarea a 150 ml mediu lichid pe baza de zaharoza/zahar alimentar, peptona si extract de drojdie, ce contine 10^7 - 10^9 celule/ml, cu subtanta uscata de aprox 2g, si care prezinta culoare galbuie.

1.4.Realizarea drojdiei imbogatite in seleniu organic: Fementatia propriu-zisa se realizeaza prin insamantarea in raport de 9-12 % (v/v) inocul lichid a mediului de fermentatie ce prezinta urmatorul continut: 5-7 g% melasa, extract de drojdie (0.5-0.7 %), saruri de K⁺, NH₄⁺, Mg²⁺, biotina, selenit de sodiu (solutie 10 % realizata separat – dizolvata prin agitare, cu un pH initial de 8-10 dupa dizolvare si corectat cu solutie acida pana la 5.2-5.3) si adaugat treptat incepand de la 8h/12h/14h/16 h de cultivare in trei portii la un pH al mediului fermentat la fel ca cel al solutiei de selenit, impreuna cu solutia de zahar alimentar/melasa, extract de malt nehameritat lichid steril si se corecteaza cu seringa solutie de NaOH 40 % in conditii sterile utilizand filtre

sterile. Parametrii de cultivare urmariti pe parcursul fermentatiei sunt prezentati: pH 4.2-5.5; debit de aer 0.5-0.7-0.1-1.2 l/l aer/min, turatia 250-500 rpm, temperatura 29-30°C timp de 21-23h.

Prelucrarea mediului final fermentat

1.5. Separarea mediului de fermentat final se scoate din bioreactor in conditii de maxima sterilitate, in flacoane sterilizate in prealabil in autoclava la 121°C, si apoi la rece este scos cu ajutorul unei pompe peristaltice din fermentator, dupa care urmeaza separarea la rece utilizand o centrifuga 4 X 400 ml, obtinandu-se o crema de drojdie imbogatita in selenium.

1.6. Purificarea: spalare cu solutii de tampon EDTA Si Na₂HP0₄ si successiv cu apa distilata sterila la 350-4500 rpm timp de 5-10 min fiecare etapa.

1.7. Uscarea prin liofilizare/atomizare in trepte timp de 48 h. Pulberea finala are o viabilitate ridicata celulara 10³-10⁶ si un continut de seleniu de la 1500-2900 ppm total, seleniu organic 97- 99,9 % si selenit si selanat urme, in procent < 1 % din seleniul total, lipsit de contaminare microbiana.

(2). **Procedeul de obtinere a drojdiei de bere seleniate** constă în valorificarea drojdiei uzate de bere, prin amestecarea în raport de 1/12; 1/10; 1/7; 1/5/1/4; 1/3; 1/2; 1/1; 1/0.1, a biomasei de drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic (1) si a drojdiei de bere rezultate din industria berii, urmată de uscare (prin liofilizare sau atomizare).

In urma amestecului s-au obtinut cantitati de seleniu total care au variat intre 30 ppm pana la 500; 1000 ppm. Concentratia de selenit si selenat obtinuta a fost <1 % din seleniu total. Concentratia de seleniu organic a fost de maxim 99.9 %.

(3). **Procedeul de obtinere a pâinii și altor produse de panificație îmbogățite cu seleniu** se referă la fabricarea produselor folosind ca materii prime următoarele: făină albă de grâu, afânători biochimici, apă, sare și, optional, alte ingrediente.

Se utilizează făină albă de grâu, cu caracteristici de calitate corespunzătoare făinurilor bune până la medii, având un conținut în cenușă de la 0,48 % la 0,65 %, cu un conținut de gluten umed (Gu) peste 30 % și un indice de deformare gluten (ID) până la 10 mm. Înainte de utilizare se determină însușirile fizico-chimice și reologice (prin farinografie, cu alveograf sau cu rinxolab) și se stabilește capacitatea de hidratare, în funcție de care se calculează cantitatea necesară de apă potabilă pentru a fi folosită în procesul tehnologic.

În calitate de afânători biochimici se utilizează drojdie de panificație în amestec cu biomasă de drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic, obținută printr-un procedeu biotehnologic nou (v. procedeele 1 și 2).

Se poate folosi drojdie de panificație sub formă comprimată, lichidă sau uscată, ținând cont coefficientul de echivalență cantitativă (raportat la substanță uscată). Cantitatea de drojdie de bere seleniată este determinată în funcție de tipul biomasei de drojdie de bere îmbogățită cu seleniu, cu referire la conținutul în seleniu (300-1000 mg/kg) și cantitatea de seleniu conținută de produsul de panificație în conformitate cu valoarea nutrițională de referință VNR și recomandările EFSA (EFSA Journal 2014;12(11):3890). Se adaugă 2...3% drojdie de panificație (comprimată) și 0,1...2% drojdie de bere seleniată. Drojdia de bere îmbogățită cu seleniu organic, ca bioingredient în panificație, este dozată la un nivel cantitativ corespunzător, astfel încât să asigure cerințele privind mențiunile de sănătate, inclusiv de siguranță a alimentului, precum și cerințele tehnologice, cu referire la comportamentul reologic al aluatului în timpul procesului de fabricare, pentru a obține pâine cu caracteristici senzoriale adecvate.

Se folosește apă potabilă cu temperatura 25...30°C și sare comestibilă iodată,

care respectă cerințele de calitate standard. De asemenea, se pot fi utiliza alte ingrediente: enzime (pentru corectarea/ ajustarea calității făinii); ulei de floarea soarelui, lapte praf și zahăr, pentru produse de frânzelărie.

Procedeul de obținere a produselor de panificație fortificate cuprinde următoarele faze tehnologice:

- a) pregătirea materiilor prime, cu referire la condiționarea făinii (prin cernere, dacă este cazul), a drojdiei pentru panificație (mărunțirea drojdiei, dacă este sub formă comprimată), a sării alimentare și dozarea tuturor ingredientelor. Nu este obligatorie transformarea drojdiei în suspensie. De asemenea, este optională și prepararea soluției de sare, cu o porțiune din cantitatea de apă tehnologică prevăzută în rețetă.
- b) prepararea aluatului, care constă în frământarea și în fermentarea aluatului. Se folosește metoda monofazică, directă. Frământarea se face cu malaxor cu braț spiral, prin amestecarea ingredientelor (sarea se introduce ultima) și una de frământare propriu-zisă (lentă sau rapidă). Timpul (total) de frământare este până la 8...11 min., în funcție de calitatea făinii. Operația de fermentarea durează de la 50 până la 150 min., la o temperatură a aluatului $t=30\ldots31^{\circ}\text{C}$, prin asigurarea microclimatului corespunzător ($t = 28\ldots32^{\circ}\text{C}$; $\varphi_{\text{aer}} = 75\ldots80\%$) (până la o aciditate a semifabricatului de 3,5 °aciditate). La procesarea unei făini cu gluten puternic, cu o perioadă de fermentare mai lungă se poate aplica refrământarea aluatului (120 rpm) după 1 h, timp de circa 1 min. În funcție de tipul de drojdie seleniată folosită și cantitatea de drojdie de bere adăugată în rețeta de fabricație se poate modifica regimul tehnologic, cu referire la variația temperatură – timp (cu referire la reducerea timpului de fermentare).
- c) prelucrarea aluatului, care cuprinde operațiile de: divizare, premodelare (rotunjire) și modelare (în forma dorită - rotund, lung, împletit), fermentare finală. Aluatul se divizează în bucăți, ținând cont de pierderile tehnologice programate, astfel încât să se obțină produse finite cu masă nominală până la 0,5 kg (preferabil produse cu gramaj mai mic). Timpul de fermentare finală variază până la 60 min (de obicei 20...50 min.), în funcție de compozitia și masa produsului. Parametrii recomandați pentru asigurarea microclimatului (spațiului de fermentare) sunt: temperatura aerului $t = 27\ldots35^{\circ}\text{C}$ și umiditatea relativă a aerului $\varphi_{\text{aer}} = 65\ldots85\%$. Temperatura bucății de aluat la sfârșitul fermentației finale este aprox. 31...32°C.
- d) coacerea bucăților de aluat se realizează în cupoare de coacere, cu funcționare discontinuă sau continuă. Se asigură o atmosferă umedă în prima parte a coacerii, prin aburire. Regimul tehnologic la coacere este: temperatură $t = 200\ldots230^{\circ}\text{C}$, timp de coacere până la 30 min (variabil între 5 și 30 min), în funcție de masa și de forma produsului.
- e) pregătirea pentru comercializare, prin răcire și, optional, preambalare. Răcirea produselor se face în primele 1-2 ore de la scoaterea lor din cupor, în condițiile păstrării pâinii în vederea depozitării (parametrii aerului din depozit $t_{\text{aer}} = 18\ldots20^{\circ}\text{C}$, $\varphi_{\text{aer}} = 65\ldots75\%$). La etichetare se va ține cont de Reg. UE nr. 1924/2016 privind mențiunile nutriționale și de sănătate înscrise pe produsele alimentare.

S-au calculat pierderile tehnologice și s-a observat o variație de până la 10% în ceea ce privește pierderile la fermentare și la coacere pentru pâinile îmbogățite cu seleniu, cu mase nominale de cca. 250-350 g, obținute prin coacere în cupoare discrete, cu vatră fixă.

Prin acest procedeu se pot fabrica pâine și alte produse de frânzelărie, simple sau cu adaoș (lapte, zahăr), cu mase nominale preferabil sub 0,600 kg.

Prin aplicarea inventiei se obțin următoarele **avantaje**:

- obținerea de bioingrediente – biomasă de drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic cu aplicabilitate industrială în panificație, pentru largirea bazei de materii prime aferente acestei subramuri industriale;

- valorificarea superioară a drojdiei de bere ca subprodus rezultat din procesul tehnologic de fabricare a berii;

- amestecul drojdie de bere imbogatita in seleniu organic cu drojdie rezultata din procesul tehnologic de fabricare a berii poate fi realizat atat in forma solida (biomasa uscata), cat si in forma lichida (biomasa umeda);

- un continut de seleniu organic de 99.9 % din seleniu total incorporat in biomasa de drojdie de activa;

- continut de selenit si selenat este mai mic de 1 % raportat de seleniu total;

- obținerea de produse de panificație funcționale, prin valorificarea unor făinuri albe de grâu cu potențial bun până la mediu spre bun pentru panificație;

- obținerea de produse de panificație fortificate cu seleniu organic, cu însușiri nutritive mai bune decât produsele convenționale și cu caracteristici senzoriale (textură, aspect exterior și.a.) asemănătoare produselor de panificație obișnuite;

- ofearea unei alternative pentru aportul de seleniu în alimentația umană prin intermediul consumului de produse alimentare fortificate cu seleniu, pentru acoperirea necesarului zilnic de seleniu sau pentru evitarea carentelor în seleniu;

- diversificarea sortimentală a produselor de panificație, prin dezvoltarea pieței alimentare de nișă.

În consecință, grupul unitar de soluții inventive conferă valoare adăugată din punct de vedere tehnologic, economic, ecologic și social.

Prezentarea figurilor:

Figura 1 reprezintă schema fluxului tehnologic la fabricarea pâinii îmbogățite cu seleniu (schema de operații)

Figura 2 reprezintă fluxul de obtinere de biomasa de drojdie imbogatita in seleniu ce utilizeaza drojdia rezultata de la fabricarea berii.

Prezentarea unor modalități de realizare a inventiei prin exemplificare:

1. Se prezinta in continuare doua exemple de preparare a bioprodusului pe baza de drojdie imbogatita in seleniu organic sub forma activa:

Exemplu 1:

Au fost izolate colonii de drojdii din lapte de bere si tulipa a fost identificata prin secentiere ADN. Coloniile izolate au servit formarii de culturi stoc de intretinere si apoi au fost utilizate pentru obtinerea de cultura preinocul pentru o noua fermentatie.

Cultura de intretinere – reprezinta cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG 38P.

Cultura de intretinere se obtine din insamantarea mediului (malt extract 2 % si peptona 0.3%, agar 2.5-3 %) in placi cu 1 ml de cultura *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG 38P.Se selecteaza si se formeaza cultura stoc de intretinere.

Obținerea preinoculului și a inoculului de drojdii;

-Preinoculul (cultură statică), tulipa identificata anterior, se obtine dintr-o cultură de întreținere care se însămanțează pe mediu înclinat (tuburi cu YMSP –agar 3%) și incubare la temperatura de 30°C timp de 48 ore. Cultura preinocul se analizează din punct de vedere al puritatei și gradului de creștere al microorganismului. Cultura pură corespunzătoare, bine dezvoltată, de culoare alb-galbuie, adaptata la seleniu, este utilizată la prepararea inoculului lichid.

-Cultura inocul, înainte de însămantare, se analizează privind puritatea (microscopic) și prin modul de dezvoltare al drojdiei (prin determinarea conținutului în biomasă umedă); Cultura trebuie să fie pură, bine dezvoltată (greutate celulară umedă WCW > 30-40 g/l), pH aprox 4,2, miros caracteristic, culoare bej – gălbui.

-Fermentația propriu zisă: Cultivarea în sistem submers în bioreactor: cultura inocul: 100ml -150 ml/ml flacon a fost folosita pentru insamantarea bioreactorului care prezinta urmatoarea componitie de mediu de cultura: solutia de melasa 200 g, 0.5- 0,1 g% NH₄H₂PO₄; 0.05 g% KCl; 0,04 MgSO₄; extract de drojdie 0.5- 0.7 g%, cu adaos pe parcursul fermentatiei de selenit de sodiu solutie (soluție 2.5%, 7%, 10%), solutie sterilă de zaharoză/melasa; solutie de biotina, solutie sterilă de extract de malt nehameriat.

-Dacă situația o impune se adaugă aseptic antispumant 1-2 picaturi.

-După inocularea mediului de cultură, fermentatorul se aduce în parametri biotehnologici de lucru, și anume:

- ✓ temperatură – 29°C-30°C
- ✓ agitare (initial) – 200 rpm cu creștere graduală la 500 rpm
- ✓ debit de aer (initial) – 0.5-0.7-1 l aer/l mediu
- ✓ pH : 4.2 – 5.2 corectat cu NaOH (soluție 40%) cu seringă cu filtre sterile

Prelucrarea mediului fermentat:

-Separarea biomasei de drojdie seleniată din mediu de cultură fermentat – realizată prin centrifugare.

-Purificarea biomasei de drojdie imbogătită în seleniu organic prin atomizare sau liofilizare. S-au preparat: soluție EDTA și soluție tampon Na₂HPO₄ pentru purificarea biomasei obținându-se o crema de biomasa de drojdie activă.

-Uscarea biomasei de drojdie imbogătită în seleniu organic prin atomizare sau liofilizare

Este preferată liofilizarea deoarece de obține o viabilitate > 10⁴ a biomasei finale.

-Uscarea a fost realizată prin liofilizare și s-a obținut drojdie seleniata uscată activă.

Durata de cultivare	pH 1	s.u 1	pH 2	s.u 2
0	6.3	7.3	6.32	7.33
12	5.45	3.5	4.63	4.5
13	5.4	-	4.52	-
14	5.2	5.5	4.45	7
14.30	5.2	-	5.06	-
15.30	5.03	5.5	4.97	6.5
16.30	5	-	4.95	-
19	4.92	4.5	4.89	6
22.20	4.84	4.7	4.87	5.8
22.30	-	-	-	-
DS1-Se total (mg Se/kg),	ORGANIC	Na ₂ SeO ₃	Na ₂ SeO ₄	Adaos selenit total
2653	99.90%	urme	urme	30.05 ml

Exemplu 2:

Au fost izolate colonii de drojdii din lapte de bere și tulipina a fost identificată prin secvențiere ADN. Coloniile izolate au servit formării de culturi stoc de întreținere și

apoi au fost utilizate pentru obtinerea de cultura preinocul pentru o noua fermentatie.

Cultura de intretinere – reprezinta cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P.

Cultura de intretinere se obtine din insamantarea mediului (malt extract 2 % si peptona 0.3%, agar 2.5-3 %) in placi cu 1 ml de cultura *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P. Se selecteaza si se formeaza cultura stoc de intretinere.

Obtinerea preinoculului si a inoculului de drojdii;

Preinoculul (cultură statică), tulipa identificata anterior, se obtine dintr-o cultură de întreținere care se însămanțează pe mediu înclinat (tuburi cu YMSP –agar 3%) și incubare la temperatura de 30°C timp de 48 ore. Cultura preinocul se analizează din punct de vedere al purității și gradului de creștere al microorganismului. Cultura pură corespunzătoare, bine dezvoltată, de culoare alb-galbuie, adaptata la seleniu, este utilizată la prepararea inoculului lichid.

-Cultura inocul, înainte de însămantare, se analizează privind puritatea (microscopic) și prin modul de dezvoltare al drojdiei (prin determinarea conținutului în biomasă umedă); Cultura trebuie să fie pură, bine dezvoltată (greutate celulară umedă WCW > 30-40 g/l), pH aprox 4,2, nriros caracteristic, culoare bej – galbuie.

-Fermentatia propriu zisa:Cultivarea submersă în sistem submers în bioreactor: cultura inocul: 100ml -150 ml/ml flacon a fost folosita pentru insamantarea bioreactorului care prezinta urmatoarea componetie de mediu de cultura: solutia de melasa 200 g,0.5- 0.1 g% NH₄H₂PO₄; 0.05 g% KCl; 0,04 MgSO₄; extract de drojdie 0.5- 0.7 g%, (Vutil = 4l) cu adaos pe parcursul fermentatiei de selenit de sodiu solutie (solutie 2.5%,7%, 10%), solutie sterilă de zaharoză/melasa; solutie de biotina, solutie sterilă de extract de malt nehameriat.

-Daca situatia o impune se adauga aseptic antispumant 1-2 picaturi.

După inocularea mediului de cultură, fermentatorul se aduce în parametri biotehnologici de lucru, și anume:

- ✓ temperatură – 29°C-30°C
- ✓ agitare (inițial) – 200 rpm cu creștere graduală la 500 rpm
- ✓ debit de aer (inițial) – 0.5-0.7-1 l aer/l mediu
- ✓ pH : 4,0 – 5,2 corectat cu NaOH (solutie 40%) cu seringa cu filtre sterile

Prelucrarea mediului fermentat

Separarea biomasei de drojdie seleniată din mediu de cultură fermentat – realizata prin centrifugare.

Purificarea biomasei de drojdie imbogatita in seleniu organic prin atomizare sau liofilizare. S-au preparat: solutie EDTA si solutie tampon Na₂HPO₄ pentru purificarea biomasei obtinandu-se o crema de biomasa de drojdie activa.

Uscarea biomasei de drojdie imbogatita in seleniu organic prin atomizare sau liofilizare

Este preferata liofilizarea deoarece se obtine o viabilitate > 10⁴ a biomasei finale. - Uscarea a fost realizata prin liofilizare si s-a obtinut drojdie seleniata uscata activa

Durata de cultivare	pH 1	su 1	pH 2	su 2
0	6.5	6.8	6.46	6.8
11	5.6	4	5.5	4
13.20	5.2	4.2	4.77	4.5
14.20	5.24	5.5	5.27	6
15.20	5.2	4.5	5.2	5
16.30	05.09	5.5	4.96	6
17.30	5.3	5.3	5.3	5.5

19.00	5.11	4.3	5.25	4.3
22.45	5.8	5.7	5.7	5.5
DS2 Se mg/kg	ORGANIC	Na ₂ SeO ₃	Na ₂ SeO ₄	Adaos selenit de sodiu
2111	99.90%	SELENIT	SELENAT	34 ml

Bioprodusul de drojdie seleniata activa, obtinut conform inventiei, are urmatoarele caracteristici:

- continut de seleniu total 150-2950 mg/kg
- continut in seleniu organic de maxim 99.9 %
- continut de selenit si selenat < 1% din seleniu total
- umiditatea 4-6 %

2. Se prezinta exemple de valorificare a drojdiei rezultate din procesul de producere a berii pentru obtinerea de biomasa de drojdie activa imbogatita in seleniu organic:

Exemplu 1: Amestecuri solid - solid – biomasa de drojdie imbogatita in seleniu organic conform primului procedeu prezentat anterior si drojdia uzata de la fabricarea berii

DBR2 = drojdie de bere uzata liofilizata – 160g

DMM1- drojdie imbogatita in selenium organic cultivate pe melasa ca sursa de carbon principala

-Amestec MDDM1 = DMM1 (20) + DBR (240G) = amestec solid - solid raport 1 la 14 drojdie liofilizata imbogatita in selenium organic finala – 260g

-Amestec MDDM2 = DMM2 (20) +DBR (200G) = amestec solid - solid raport 1 la 10 biomasa de drojdie liofilizata finala imbogatita in selenium organic– 225g

Concentratia in seleniu total din amestec a fost urmatoarea:

- pentru proba MDDM1 = 30ppm - pentru proba MDDM2 = 111ppm

Acumularea unei cantitati mai mari de biomasă de drojdie este corelată cu o viteză mai mare de consum a substratului (sursa de zahar).

Concentratia de seleniti si selenati a fost < 1%

Caracterizarea microbiologica pentru probele de mai sus:

-mucegaiuri < 10 ufc/g

-b. coliforme < 10 ufc/g

-Bacillus cereus < 10 ufc/g

ELEMENT	Eșantion	MDDM 1	MDDM 2
Se	mg/kg	25.1- 30	100- 111
Se(IV)	mg/kg	<0.05	0.054
Se(VI)	mg/kg	<0.1	<0.1

Proba 4 = 20 DS+ 125 DBR = amestec solid solid=145 g de biomasa de drojdie imbogatita in seleniu organic ce utilizeaza drojdia uzata de bere

Probe	Concentratia de Se total ppm	Concentratia de seleniu organic
Proba 4 dupa amestec 4 amestec (raport ¼)	149	97.7
Paine –Proba 4	0.3	

S-au realizat amestecuri in raport de 1/2; 1/3; 1/4; 1/5; 1/7

Concentratia de seleniu inainte de amestec din biomasa de drojdie: 1500 -2900

seleniu total. Dupa amestec s-au obtinut urmatoarele probe:

Probe	Se total (mg Se/kg),	Continut in seleniu organic
DS1-A	374	99.9 %
DS2-A	474	99.9 %
DS3-A	364	99.9 %
DS4-A	519	99.9 %

Pentru probe realizate tot in amestec solid solid DS5; DS6; DS7; DS8; Raport 1/1; 1/2 si 1/01. pt DS 5; DS6; DS7; si DS 8 Raport a fost 1/1

Exemplu 2- Amestec lichid lichid:

P4 MARTOR a fost amestecata cu drojdie umeda uzata de bere = Amestec lichid lichid si dupa liofilizare s-a obtinut 120-130g. Raport 1 la 4

Probe de drojdie	Se total (ppm)	Concentratia de seleniu organic (%)
Proba 3	341	99.1
Proba 1	507	99.4
Proba 4	398	97.7

-mucegaiuri < 10 ufc/g

-coliformi < 10 ufc/g

-Bacillus cereus < 10 ufc/g

USCAREA BIOMASEI

Uscarea drojdiilor prin liofilizare a constat din doua operatii: inghetarea probelor in etape succesive si sublimarea ghetii cu ajutorul vidului inaintat.

Pentru uscarea drojdiilor s-a folosit un liofilizator Delta LSC 2-24. Biomasa de drojdie a fost turnata in cutii Petri cu diametrul de 14,7 cm si inaltimea de 1,0 cm. Acestea au fost introduse pe rafturile liofilizatorului, racite in prealabil la -40oC timp de o ora si jumata. Liofilizarea s-a facut timp de 48 de ore, in 11 etape.

Atat temperatura de pe rafturile liofilizatorului, cat si cea din proba, este masurata de senzori de temperatura.

Caracterizare microbiologica

- umiditate – 4,31 -4.72%

- mucegaiuri – absent

- bacterii coliforme – absent

- Bacillus cereus – absent

3. Se prezintă în continuare două exemple de preparare a produselor de panificație îmbogățite cu seleniu organic, în conformitate cu procedeul revendicat:

Exemplul 1. Se obține pâine albă îmbogățită cu seleniu organic cu gramaj de 0,300 kg/buc, din aluat cu drojdie de panificație (DP) comprimată 3% în amestec cu drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic (DBS) 0,1%, din făină albă de grâu selecționată.

S-a folosit în calitate de materie primă făinii albă de grâu cu următoarele caracteristici: umiditatea făinii $u = 14,5\%$, conținut în cenușă $c = 0,60\%$, conținut de gluten umed $Gu = 34,5\%$, indice de deformare gluten $ID = 8 \text{ mm}$, indice de cădere $FN = 339 \text{ sec}$; s-a determinat comportarea reologică la mixolabul Chopin; capacitatea de hidratare CH - conform curbei mixolab = 57,9% (rap. la $u = 14\%$).

Se stabilește rețeta de fabricație: Făină albă de grâu (tip 600)- 100 kg; drojdie de panificație (DP) comprimată 3 kg; drojdie de bere îmbogățită cu seleniu organic (DBS) 0,1 kg; apă 57,9 l; sare 1,5 kg. S-a folosit apă potabilă cu temperatură 28°C.

Se prepară aluatul prin metoda directă, prin frământare rapidă, timp de 4 min. la

viteza I și 6 min la viteza a II-a. Fermentarea aluatului se face vrac (în cuvă) în condițiile de microclimat corespunzător ($t = 30^{\circ}\text{C}$; $\varphi_{\text{aer}} = 75\%$), durata fermentării fiind 120 min. La sfârșitul fermentării aluatul a avut temperatură de 30°C și aciditatea aluatului a fost 1,6 grade aciditate. După 1 h de la începutul fermentării s-a făcut o refrământare a aluatului de cca. 1 min. Aluatul obținut se divizează în bucăți de 0,34 kg, se premodeleză și se modeleză în forma dorită (format lung), apoi bucățile de aluat se supun operației de fermentare finală timp de 35 min., în condiții de microclimat adecvat ($t = 27\dots 35^{\circ}\text{C}$ și $\varphi_{\text{aer}} = 65\dots 85\%$). Temperatura bucătii de aluat la sfârșitul fermentației finale a fost 31°C .

Se realizează coacerea bucăților de aluat se realizează în cuptoare de coacere, cu funcționare discontinuă, la temperatură $t = 230^{\circ}\text{C}$, timp de coacere 20 min, cu aburire în prima parte a coacerii.

Răcirea produselor se face în 1-2 ore de la scoaterea lor din cuptor. După răcire, pe baza analizelor de laborator, pâinile au avut volum = 301 cmc/100g, aciditate miez 2,1. Pierderile la coacere au fost 8,8%.

Exemplul 2. Se obține pâine albă îrn bogătită cu seleniu organic cu gramaj de 0,450 kg/buc, din aluat cu drojdie de panificație (DP) comprimată 2% în amestec cu drojdie de bere îrn bogătită cu seleniu organic (DBS) 1%, din făină albă de grâu.

S-a folosit în calitate de materie primă făină albă de grâu (tip 600) cu următoarele caracteristici: umiditatea făinii $u = 14,0\%$, conținut de gluten umed $Gu = 31,9\%$, indice de deformare gluten $ID = 7\text{ mm}$, indice de cădere $FN = 319\text{ sec}$; s-a determinat comportarea reologică la mixolabul Chopin; capacitatea de hidratare $CH = 59,1\%$.

Se utilizează următoarea rețetă de fabricație:

Ingrediente/ materii prime		
Făină albă de grâu tip 600 (14 % u)- 100 kg		
Drojdie de bere seleniată (DBS) 1kg		
Drojdie de panificație (DP) - Comprimată 2 kg		
Apă 59,1 l		
Sare 1,5 kg		
Regim tehnologic, cu prepararea aluatului într-o singură fază		
Frământare , malaxor cu brăt spiralat		
Timp frământare	min	10 -12
Temperatură aluat	°C	29-30
Fermentare , in cuve - dospitor		
Timp fermentare	min	150
Temperatură fermentare (microclimat)	°C	30
Temperatură aluat (fermentat)	°C	30
Aciditate aluat	grade	3,5
Refrämântare , malaxor		
Nr. / timp refr. (120 rpm)	Nr./min	2/1
Momentul refrämântării (de la începutul fermentării)	min	60, 120
Divizare		
Mărimea bucăților de aluat - dimensiuni variate	g	520 g
Modelare		
Tip (R-rotund, A- alungit, împletit) – forme variate	-	R, A, împletit

Fermentare finală		
Timp fermentare finală	min	50
Temperatură fermentare (microclimat)	°C	30-31
Coacere, cuptor discontinuu		
Timp coacere	min	20
Temperatură coacere	°C	230
Vapori /abur		Da, la inceputul coacerii
Răcire		
Timp	ore	1-2
La temperatura mediului ambiant		

După răcire, pe baza analizelor de laborator, pâinile de formă alungită au avut volum = 369 cmc/100g, aciditate miez 2,1. Pierderile la coacere au fost 8,8%.

REVENDICĂRI

Produse de panificatie si biomasă de drojdie de bere imbogatite in seleniu organic si procedee de obtinere, prin valorificarea drojdiei uzate de bere caracterizate prin aceea ca utilizeaza un amestec obtinut cu tulpina de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P* pentru obtinerea biomasei imbogatite cu seleniu organic cu drojdia rezultata din procesul de producere a berii pentru a fi folosit ca bioingredient pentru obtinerea de produse de panificatie imbogatite cu seleniu organic

Revendicari:22

1. Bioprodus pe baza de biomasa activa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P* imbogatita in seleniu organic conform revendicarii 1 **caracterizat prin aceea ca** continutul de seleniu organic din biomasa de maxim 99.9 %;
2. Bioprodus de biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic ce valorifica drojdia rezultata din procesul de producere a berii conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca** are un continut ridicat in seleniu organic si poate fi utilizat in panificatie;
3. Bioprodus pe baza de biomasa de drojdie imbogatite in seleniu organic **caracterizat prin aceea ca** utilizeaza biomasa de drojdii *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P* care prezinta proprietatea de a capta seleniu total in concentratii de la 1500-2950 /kg.
4. Bioprodus pe baza de biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic **caracterizat prin aceea ca** utilizeaza biomasa de drojdii *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P* care prezinta concentratii <1 ppm selenit si selenat de sodiu in biomasa
5. Produse de parificatie afânante biochimic obtinute cu adaos de biomasă de drojdie imbogatita cu seleniu organic ce valorifica drojdia rezultata din procesul de producere a berii conform revendicarilor 2, 3 si 4 **caracterizata prin aceea ca** utilizeaza bioprodusul pe bază de biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita cu seleniu, având proprietatea de a fi imbogatita cu un conținut ridicat în seleniu organic și prezinta concentratii <1 ppm selenit si selenat de sodiu in biomasa
6. Procedeu de obtinere a unui bioprodus pe baza de biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P* imbogatita in seleniu organic **caracterizat prin aceea ca** este constituit din urmatoarele faze:
 - Prepararea culturii de intretinere a drojdiei *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P*
 - Prepararea culturii inocul lichid la nivel de flacoane agitate, pornind de la cultura de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG 38P*
 - Prepararea bioprodusului pe baza de biomasa de drojdii de *Sacharomyces cerevisiae*... imbogatite in seleniu organic prin insamantarea mediului de fermentatie cu inocul lichid, separarea biomasei, purificarea prin spalari repetate cu tampon EDTA, fosfat disodic si cu apa distilata sterilă si uscarea prin liofilizare obtinand un produs uscat activ imbogatit in seleniu organic;
7. Procedeu de obtinere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic, conform revendicarii 6 **caracterizat prin aceea ca**, cultura de intretinere se prepara din cultura de *S.cerevisiae DBVPG 38P* prin insamantarea unui mediu inclinat pe baza de zahar, extract de drojdie, malt, agar –agar si incubare la 30°C;
8. Procedeu de obtinere a unui bioprodus de drojdie imbogatita in seleniu organic conform revendicarii 6, **caracterizat prin aceea ca**, cultura preinocul se prepara din cultura stoc de intretienre de *S.cerevisiae DBVPG 38P* prin insamantarea unui mediu

inclinat pe baza de zaharoza, extract de drojdie, malt, agar –agar si incubare la 30°C;
 9. Procedeu de obtinere a unui bioprodus de drojdie imbogatita in seleniu organic conform revendicarii 6, **caracterizat prin aceea ca**, cultura inocul lichid se prepara prin insamantarea a 1 50 ml cu o cultura preinocul de *S.cerevisiae DBVPG 38P* pe baza de zahar alimentar/zaharoza, extract de drojdie, peptona si incubare la 30°C pentru 17-21 h cu agitare 140-240 rpm, greutate celulara, UFC/M > 10⁸ substanta uscata 1-3g% si pH final de 4-4.2;

10. Procedeu de obtinere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic conform revendicarii 6, **caracterizat prin aceea ca** mediul de fermentatie pe baza de melasa, saruri de K, fosfat monoamoniacial, sulfat de magneziu, biotina si cu adaos de selenit de sodiu si de solutie sterilă de zaharoza/ zahar; extract de malt nehameriat pe parcursul fermentatiei este insamantat in raport de 1 % cu inocul lichid dezvoltat cu cultura de *S.cerevisiae DBVPG 38P*

11. Procedeu de obtinere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* activa imbogatita in seleniu organic conform revendicarii 6, **caracterizat prin aceea ca** mediul fermentat este eliminat cu pompa peristaltica la rece si tinut la rece, dupa care se realizeaza purificarea biomasei cu solutii tampon de EDTA disodic si fosfat disodic , apa distilata sterilă, urmand uscarea prin liofilizare/atomizare.

12. Bioprodus pe baza de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic in amestesc cu drojdia uzata de bere conform revendicarii 2 **caracterizat prin aceea ca** poate fi obtinut prin amestec sub forma lichida-lichida (biomasa umeda cu biomasa umeda) uscat prin liofilizare si solid solid (biomasa uscata activa de drojdie imbogatita in seleu organic cu biomasa uscata activa de drojdie uzata de bere);

13. Bioprodus pe baza de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic in amestec cu drojdia uzata de bere conform revendicarii 2 **caracterizat prin aceea ca**, poate obtinut prin amestecul forma lichida-lichida si, purificat prin spalari succesive cu tampon EDTA disodic si fosfat disodic si 4-5 spalari cu apa distilata sterilă urmata de uscarea prin liofilizare si atomizare

14. Bioprodus pe baza de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic in amestesc cu drojdia uzata de bere conform revendicarii 2 **caracterizat prin aceea ca** poate obtinut prin amestec sub forma solid-solid (biomasa uscata activa de drojdie imbogatita in seleu organic cu biomasa uscata activa de drojdie uzata de bere) si care prezinta un continut de la 30 ppm; 300 ppm; pana la un seleniu total de maxim 1000 ppm.

15. Bioprodus pe baza de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic in amestesc cu drojdia rezultata din procesul de fabricare a berii conform revendicarii 2 **caracterizat prin aceea ca** poate obtinut in amestecul final cu un continut de seleniu organic > 99.7 % de pana la 99.9 % ce poate fi utilizat in panificatie

16. Bioprodus pe baza de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita in seleniu organic in amestesc cu drojdia rezultata din procesul de fabricare a berii conform revendicarii 2 **caracterizat prin aceea ca** in urma amestecului sub forma lichida-lichida si uscat prin liofilizare prezinta un continut de selenit si selenat < 1 % din seleniu total.

17. Produse de panificatie obtinute din aluaturi afanate biochimic cu adaos de biomasa de drojdie imbogatita cu seleniu organic ce utilizeaza biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* imbogatita cu seleniu ce valorifica drojdia

rezultata din procesul de producere a berii conform revendicarilor 12, 13, 14, 15 și 16 **caracterizata prin aceea ca are proprietatea de a fi imbogatita cu seleniu organic in concentratii de la 0,10...0,23 mg Se/kg produs finit;**

18. Procedeu de obtinere a unor produse de panificație obținute din aluaturi afânate biochimic cu adaoș de biomasă de drojdie *Sacharomyces cerevisiae DBVPG38P* îmbogățită cu seleniu organic, conform revendicărilor 5 și 17, și cuprinzând fazele tehnologice de pregătire a materiilor prime, preparare a aluatului, prelucrare a aluatului, coacere și pregătire pentru comercializare, **caracterizat prin aceea că la prepararea aluatului se utilizează în calitate de afânători biochimici un amestec de drojdie de panificație cu biomasă de drojdie bere îmbogățită cu seleniu organic.**

19. Produse de panificație îmbogățite cu seleniu organic conform revendicărilor 5 și 17, obținute prin procedeul tehnologic conform revendicării 18 **caracterizate prin aceea că au proprietatea de a fi îmbogățite cu seleniu în concentratii admisibile în raport cu mențiunile de sănătate și nutriționale prevăzute legislativ și valoarea nutrițională de referință recomandată, doza de drojdie de bere seleniată fiind variabilă între 0,1% și 2% (raportat la cantitatea de făină), dependent de caracteristicile biomasei de drojdie de bere îmbogățite cu seleniu organic, conform revendicărilor 2, 12, 13, 14, 15 și 16.**

20. Procedeu de obtinere a unor produse de panificație biofortificate cu seleniu, conform revendicării 18, **caracterizat prin aceea că** prepararea aluatului se realizează prin metoda directă (monofazică), fără activarea prealabilă a drojdiei.

21. Procedeu de obtinere a unor produse de panificație biofortificate cu seleniu, conform revendicării 18, ținând cont de materiile prime folosite, și anume bioprodusele de drojdie seleniată conform revendicărilor 12, 13 și 14, **caracterizat prin aceea că la pregătirea afânătorilor biochimici pentru prepararea aluatului se pot face amestecuri de drojdie de panificație cu drojdie de bere sub formă solidă/pulverulentă sau lichidă, în funcție de bioprodusele utilizate.**

22. Procedeu de obtinere a unor produse de panificație biofortificate cu seleniu, conform revendicării 18, **caracterizat prin aceea că** la prepararea aluatului se folosește făină albă de grâu de calitate bună (cu conținut de gluten umed (Gu) peste 30% și cu un indice de deformare gluten (ID) până la 10 mm, caracteristicile reologice putând fi corepunzătoare făinurilor cu un potențial bun până la mediu pentru panificație.

1. DESEN

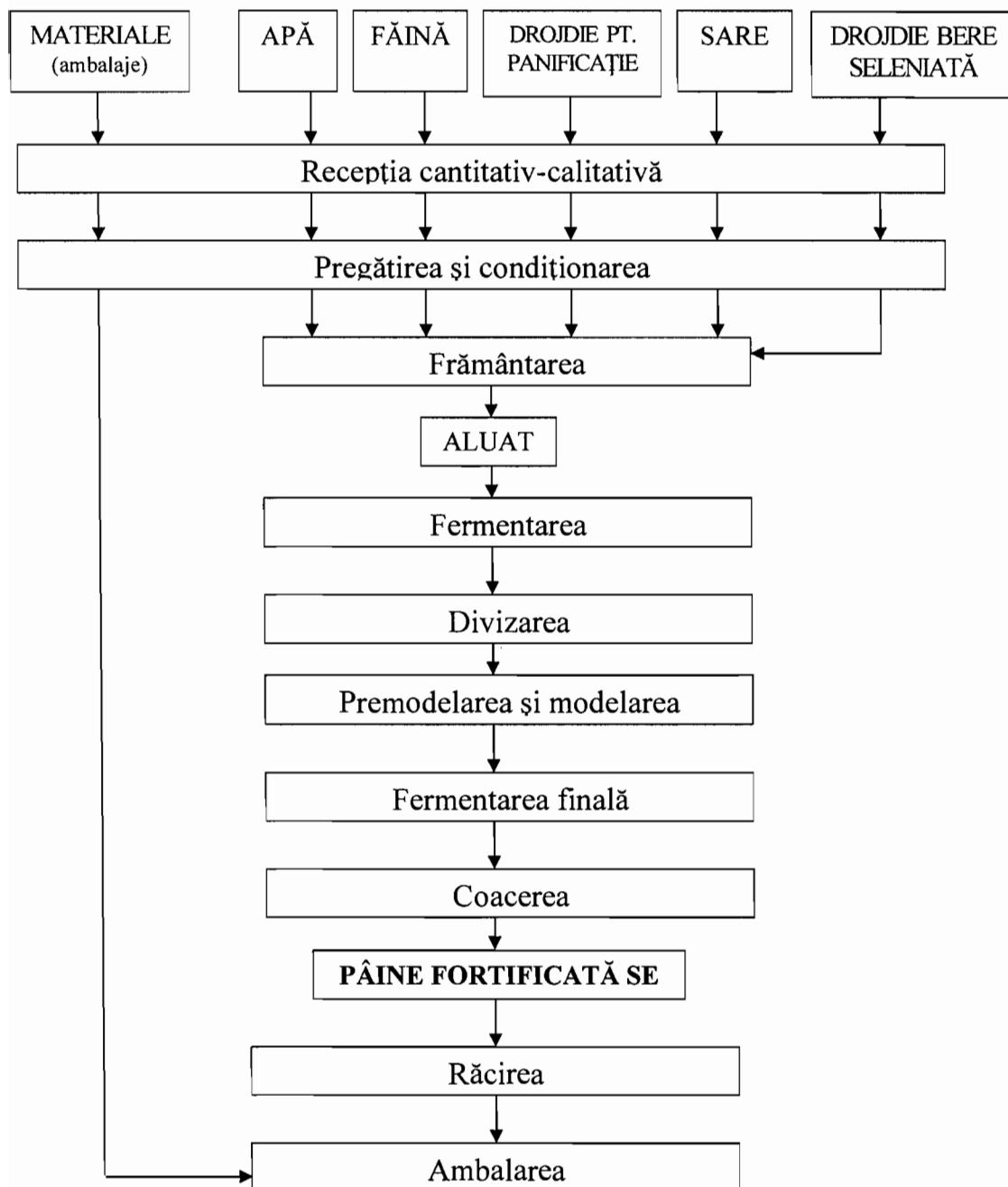


Figura 1.

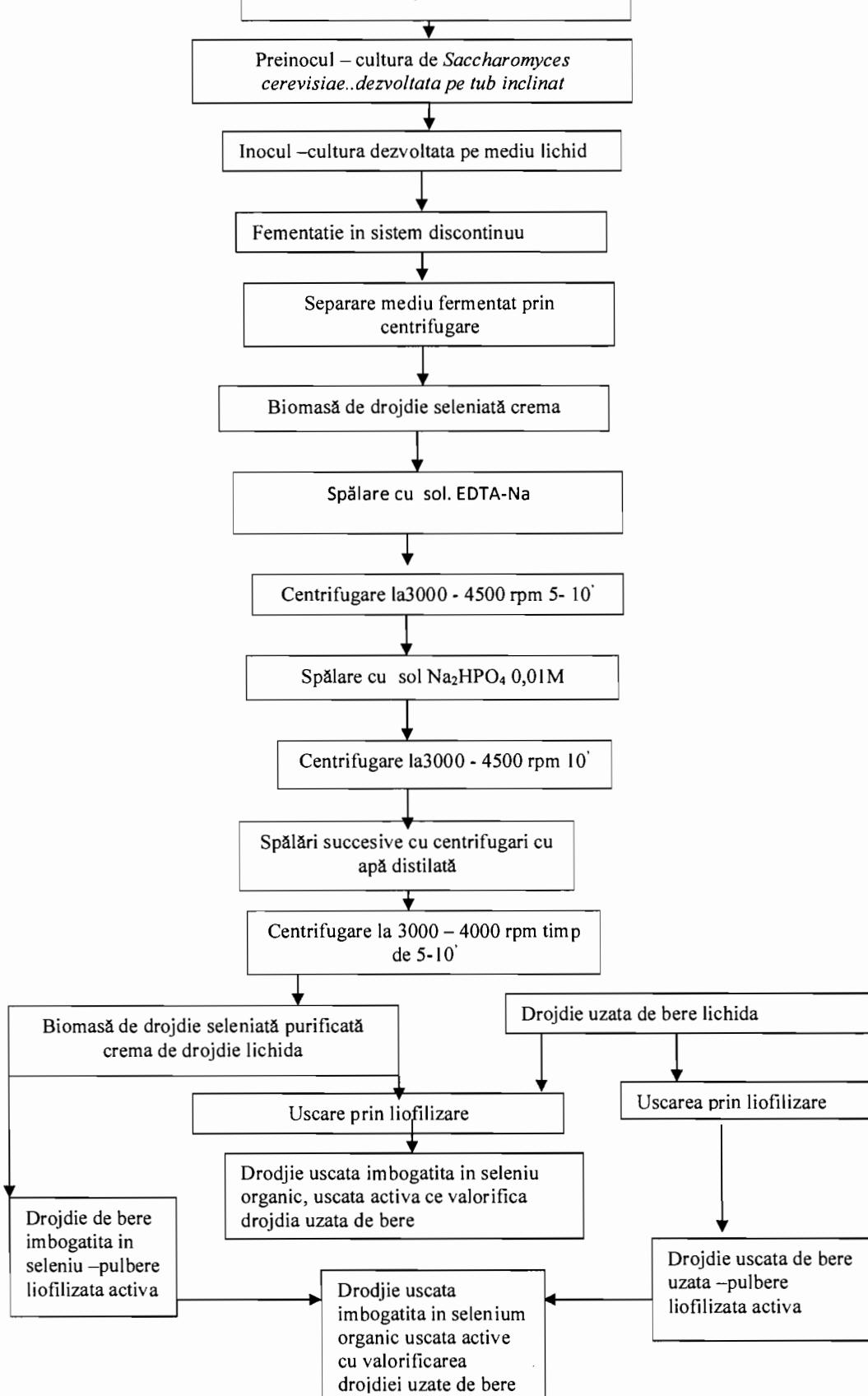


Figura 2.