



(12) **BREVET DE INVENȚIE**

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

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28/07/2023** BOPI nr. **7/2023**

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

(73) Titular:

- **COPE S.A., SAT MANOAI A DN 15, COMUNA COSTISA, NT, RO;**
- **PHARMACORP INNOVATION S.R.L., SPLAIUL UNIRII NR. 313, ET. 2, CAM.6, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **AGSIRA S.R.L., STR. NICOLAE BĂLCESCU NR. 54, HALA NR. 2 SAT IȘALNIȚA, COMUNA IȘALNIȚA, 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. GRĂDIȘTEA NR.3, BL.A 9, SC.A, ET.1, AP.4, SECTOR 4, BUCUREȘTI, 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. IANÇULUI NR. 68, SECTOR 2, BUCUREȘTI, 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;**
- **CÎRÎC ALEXANDRU, STR. GLADIOLELOR NR. 10, BL. 5, ET. 6, AP. 50, SAT ROȘU, COMUNA CHIAJNA, IF, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

- RO 122013 B1; RO 112117 B1;**
- CN 1817143 A**

(54) **PRODUSE DE PANIFICAȚIE ȘI BIOMASĂ DE DROJDIE DE BERE ÎMBOGĂȚITE ÎN SELENIU ORGANIC, ȘI PROCEDEE DE OBȚINERE PRIN VALORIFICAREA DROJDIEI UZATE DIN INDUSTRIA BERII**



RO 132631 B1

1 Invenția se referă la un bioprodus utilizat în panificație, un procedeu de obținere a
bioprodusului, produse de panificație pe bază de bioprodus și procedeu de obținere a
3 acestor produse, având aplicații în domeniul biotehnologiei alimentare, respectiv în industria
alimentară.

5 Conceptul general al invenției 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
7 din procesul de fabricare a berii, în scopul de a produce o drojdie de bere îmbogățită în sele-
niu, ce va fi uscată și utilizată în industria de panificație pentru a obține produse funcționale,
9 biofortificate în seleniu.

11 Domeniul de aplicare al invenției este cel destinat realizării produselor funcționale
pentru persoane cu carență în seleniu, contribuind la dezvoltarea pieței de produse
alimentare funcționale, pentru o dietă sănătoasă.

13 Prezentarea stadiului tehnicii

15 În zilele noastre consumatorii europeni au devenit tot mai preocupați de o alimentație
sănătoasă care vizează îmbunătățirea calității vieții pe termen lung, principalele lor cereri
fiind formulate cu privire la nutrienții alimentari și funcționalitatea acestora (Euromonitor
17 International, 2014). Oferta alimentară s-a aliniat în funcție de evoluția preferințelor
consumatorilor și astfel s-a dezvoltat piața produselor alimentare funcționale. Industria de
19 panificație a început să dezvolte o gamă largă de produse fortificate, precum sunt produsele
îmbogățite cu minerale, îmbogățite cu vitamine etc. Fortificarea alimentelor este de obicei
21 considerată ca o adăugare deliberată a unuia sau mai multor micronutrienți în anumite
produse alimentare, astfel încât să crească aportul acestor micronutrienți, pentru a corecta
23 sau a preveni o deficiență demonstrată, respectiv pentru un efect fiziologic cert sau să ofere
un beneficiu de sănătate. Potențialele beneficii ale alimentelor fortificate cu micronutrienți
25 sunt influențate de factori precum, nivelul de fortificare, biodisponibilitatea micronutrientului
adăugați și cantitatea de alimente fortificate ingerate (Ghid OMS).

27 Seleniul are un rol bine determinat în organismul uman, fiind implicat în producerea
unor selenoproteine, compuși cu puternic caracter antioxidant, care ajută organismul să
29 prevină efectele radicalilor liberi; astfel, seleniul contribuie la protejarea ADN-ului, a pro-
teinelor și a lipidelor împotriva degradării oxidative. În calitate de antioxidant biologic, seleniul
31 previne lezarea și distrugerea celulelor, stimulează producția de anticorpi proprii orga-
nismului, și are un efect hepatoprotector important, prin implicarea în funcțiile de detoxifiere
33 hepatică; previne declinul mental și reduce riscul apariției unor forme de cancer și incidența
anumitor boli cardiovasculare. Seleniul influențează pozitiv (stimulează) fertilitatea masculină
35 și are capacitatea de a reduce din toxicitatea unor metale precum mercur, cadmiu și plumb
în organism. Carența de seleniu conduce la dezvoltarea bolilor de inimă (sindromul Keshan),
37 afecțiunilor articular-osoase (boala Kashin-Beck), hipertiroidismului, retardului psihic și la
slăbirea sistemului imunitar. Pe de altă parte, abuzul de seleniu crește riscul de diabet zaha-
39 rat 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,
41 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
43 (WHO/FAO, 2004).

45 Aportul de seleniu în alimentația tradițională, prin consumul de produse alimentare
ce reprezintă surse naturale de seleniu (de exemplu: algele marine, fructele de mare, pește,
carne roșie, carne de pui, ficat și rinichi) este variabil la nivel mondial, studiile clinice din
47 ultimii 10 ani demonstrând că europenii prezintă carențe în seleniu, ceea ce impune
consumul de produse alimentare bogate sau îmbogățite în seleniu. Consumul zilnic de
49 referință de seleniu (adulți), valoarea nutrițională de referință (VNR) este de 55 µg/zi seleniu
(Regulament UE 1169/2011).

RO 132631 B1

Ținând 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. 1
3

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. 5
7
9

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 grâului, materie primă în morărit. 11

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.) îmbogățite cu seleniu. Conform Rayman et al (2004), drojdia îmbogățită cu seleniu este mai puțin toxică decât sursele anorganice de seleniu. 13
15

Un exemplu de produs obținut printr-un procedeu de îmbogățire 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 tulpină specifică de *Saccharomyces cerevisiae* selectată pentru capacitatea sa de a asimila o cantitate mare de seleniu în selenometionină. 17
19
21
23

În prezent se cunosc procedee de obținere de biomasă de drojdie seleniată care utilizează tulpini de drojdii adaptate prin alte procedee. 25

Produsul cu denumirea comercială Sel-Plex 2000 (FAD-2009-29) este o drojdie îmbogățită cu seleniu sub formă inactivă (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM 1-3060), conținând 2000-2400 mg seleniu total/kg, cu un maximum 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 tulpină 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. 27
29
31
33

Produsul legat de aplicarea FAD-2010-44 și cu denumirea comercială Selexmax 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 maximum 2% din seleniu anorganic rezidual (EFSA Journal 2012; 10(7):. 2778). 35
37

În conformitate cu informațiile furnizate de către majoritatea aplicanților, produsul de drojdie uscată finală a fost pe bază 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 aplicanți 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. Proporția rămasă este suma speciilor minore. 39
41
43
45
47

RO 132631 B1

1 **RO122013 B1** dezvăluie un procedeu de obținere a unui biopreparat de drojdie
2 seleniată din culturi de *Saccharomyces cerevisiae* descris de următoarele etape: prepararea
3 unei culturi de întreținere, a unei culturi de preinocul, a unor culturi de inocul 1 și 2 și reali-
4 zarea biopreparatului cu un conținut final de seleniu de maxim 3000ppm din care seleniu
5 anorganic <50ppm.

6 **RO112117 B1** descrie un procedeu de obținere a biomasei comestibile de drojdii cu
7 un conținut de seleniu organic.

8 **CN1817143 A** descrie un aluat îmbogățit cu seleniu organic. Etapele constau în
9 amestecarea făinii de grâu, a selenitului de sodiu, drojdiei de brutărie, zahărului, ameliorăto-
10 rului și a apei pentru a forma un aluat care apoi se lasă la o temperatură de 25...40°C
11 umiditate relativă 50...95%, cultivată timp de 2...4 ore, în timp ce drojdia se absoarbe, se
12 reproduce și se extinde în aluatul care conține selenitul de sodiu, care este biotransformată
13 în 300-800 micrograme de seleniu elementar la 1000 de grame de aluat bogat în seleniu.
14 Pâinea bogată în seleniu organic este constituită din aluat bogat în seleniu organic, făină
15 de grâu, apă, zahăr, drojdie de brutărie, ameliorator, lapte praf, xilitol, sare comestibilă, ou
16 întreg, ulei vegetal, condimente, fosfat acid de calciu, sulfat de fier, sulfat de zinc, Vitamina
17 A, Vitamina D, Vitamina E. Acestea se amestecă uniform până când glutenul este complet
18 expandat. După segmentare, modelare, fermentare secundară, coacere se realizează pâine
19 bogată în seleniu organic. Fiecare 1000 de grame de produs finit conține 100...500 micro-
20 grame de seleniu organic.

21 Brevetul **RO116770** se referă la un procedeu de obținere a biomasei de drojdie
22 îmbogățită cu compuși organici ai seleniului, care constă în cultivarea drojdiilor pe un mediu
23 în care sursa de sulf este reprezentată de un derivat al acidului tiazolidin-4-carboxilic, sursa
24 de seleniu este reprezentată de selenit de sodiu chelatat în plasmolizat de drojdie, iar
25 acumularea de sulf și de seleniu în biomasă este facilitată de alternarea ciclurilor de dezvoltare
26 aerobă și anaerobă.

27 Brevetul **RO118840** conține un procedeu de obținere a comprimatelor de drojdie
28 îmbogățite cu seleniu, prin prepararea unei suspensii din drojdie de panificație care se
29 dezvoltă pe un mediu lichid, cu: peptonă, zaharoză 3%, la un pH 6 ajustat cu NaOH 0,1 N
30 și soluția cu sarea microelementului de seleniu (IV) din 0,20...0,80 mg selenit de sodiu cu
31 concentrația de Se 0,125...0,500 mM; soluția cu sarea de seleniu (IV) se adaugă mediului
32 lichid la începutul fermentației în timpul 0, se multiplică celulele de drojdie, se centrifughează,
33 sedimentul se spală, se usucă, se liofilizează, se inactivează și din drojdia obținută se
34 prepară comprimate prin tehnici cunoscute.

35 Brevetul **RO122013** se referă la un procedeu de obținere a unui biopreparat de
36 drojdie seleniată, din culturi de *Saccharomyces cerevisiae*, constituit din următoarele faze:
37 a) prepararea unei culturi de întreținere, dintr-o tulpină pură de *Saccharomyces cerevisiae*;
38 b) prepararea unei culturi de preinocul, pornind de la cultura de întreținere; c) prepararea
39 unei culturi de inocul 1, pornind de la cultura de preinocul; d) prepararea unei culturi de
40 inocul 2, pornind de la cultura de inocul 1; e) realizarea biopreparatului prin fermentarea unui
41 mediu de cultură însămânțat cu inoculul 2, separarea biomasei de drojdie și prelucrarea
42 acesteia.

43 Problema tehnică pe care își propune să o rezolve prezenta invenție se referă la
44 obținerea unor produse de panificație îmbogățite în seleniu, precum și valorificarea drojdiei
45 rezultate din procesul de producere a berii. Conceptul general al invenției este de a utiliza
46 biomasă de drojdie de bere, și anume biomasă de drojdie îmbogățită cu seleniu organic în
47 amestec cu biomasă de drojdie rezultată din procesul de fabricare a berii, în scopul de a
48 produce o drojdie de bere îmbogățită cu seleniu, ce va fi uscată și utilizată în industria de
49 panificație pentru a obține produse funcționale, biofortificate în seleniu.

RO 132631 B1

Soluția oferită de această invenție se referă la un procedeu de obținere a produselor de panificație biofortificate fabricate din făină albă de grâu, afânători biochimici, apă, sare și opțional 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 folosită pentru obținerea drojdiei active îmbogățite în seleniu organic utilizează compuși anorganici de selenit de sodiu. Spre deosebire de alte produse, aceasta are cel mai mare conținut de seleniu organic (97-99,9%) și elimină dezavantajul utilizării de drojdii cu un conținut mai scăzut de 97-99,9% seleniu organic. Totodată, conform EFSA, are un conținut de selenit și selenat sub 1% din totalul de seleniu incorporat.

Prin aplicarea procedeelelor biotehnologice menționate se urmărește obținerea unor produse noi, cu acțiune antioxidantă biologică, care prin consum alimentar contribuie la menținerea stării de sănătate și evitarea carențelor 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 numeroși oameni. Consumul recomandat de pâine ar fi de circa 2-4 felii de pâine fortificată zilnic. Pe de altă parte, procedeu 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. Soluția tehnică constă în:

1. Obținerea materialului biologic, *Saccharomyces cerevisiae*, tulpină izolată din drojdie de bere lichidă, identificată cu nr DBVPG 38P și utilizată pentru obținerea de biomasă îmbogățită cu seleniu organic.

2. Obținerea biomasei de drojdie îmbogățită cu seleniu organic prin valorificarea drojdiei rezultate din procesul de producere a berii, urmată de uscare, în vederea folosirii în calitate de bioingredient (materie primă) în panificație (procedeul se bazează pe utilizarea produsului obținut prin procedeu microbiologic 1).

3. Obținerea de produse de panificație îmbogățite cu seleniu organic, utilizând ca materie primă biomasă de drojdie îmbogățită 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 procedeu biotehnologic 2).

1. Obținerea materialului biologic, *Saccharomyces cerevisiae*, tulpină izolată din drojdie de bere lichidă și utilizată pentru obținerea de bioasă îmbogățită în seleniu organic:

1.1. Obținerea culturii stoc de întreținere - reprezintă cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P.

Cultura de întreținere se obține din însămânțarea mediului (malț extract 2% și peptonă 0,3%, agar 2,5-3%) în plăci cu 1 ml de cultura *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG38P. Se selectează și se formează cultura stoc de întreținere.

1.2. Obținerea preinocului de laborator: din cultura stoc se însămânțează cultura preinocul pe mediu înclinat pe bază de (extract de drojdie, peptonă, zaharoza, agar agar) și se incubează la 30°C pentru 40-48 h.

1.3. Cultura inocul lichid se prepară din ½ tuburi de cultură preinocul, prin însămânțarea a 150 ml mediu lichid pe bază de zaharoză/zahăr alimentar, peptonă și extract de drojdie, ce conține 10^7 - 10^9 celule/ml, cu substanță uscată de aproximativ 2 g, și care prezintă culoare gălbuie.

RO 132631 B1

1 1.4. Realizarea drojdiei îmbogățite în seleniu organic: Fermentația propriu-zisă se
realizează prin însămânțarea în raport de 9-12% (v/v) inocul lichid a mediului de fermentație
3 ce prezintă următorul conținut: 5-7 g% melasă, extract de drojdie (0,5-0,7 %), săruri de K^+ ,
 NH_4^+ , Mg_2^+ , biotina, selenit de sodiu (soluție 10% realizată separat -dizolvată prin agitare, cu
5 un pH inițial de 8-10 după dizolvare și corectat cu soluție acidă până la 5,2-5,3) și adăugat
treptat începând de la 8 h/12 h/14 h/16 h de cultivare în trei porții la un pH al mediului
7 fermentat la fel ca cel al soluției de selenit, împreună cu soluția de zahăr alimentar/melasă,
extract de malț neameiat lichid steril și se corectează cu seringă soluție de NaOH 40% în
9 condiții sterile utilizând filtre sterile. Parametrii de cultivare urmăriți pe parcursul fermentației
sunt prezentați: pH 4,2-5,5; debit de aer 0,5-0,7-0,1-1,2 l/l aer/min, turația 250-500 rpm,
11 temperatura 29-30°C timp de 21-23 h.

Prelucrarea mediului final fermentat

13 1.5. Separarea mediului de fermentat final se scoate din bioreactor în condiții de
maximă sterilitate, în flacoane sterilizate în prealabil în autoclava la 121°C, și apoi la rece
15 este scos cu ajutorul unei pompe peristaltice din fermentator, după care urmează separarea
la rece utilizând o centrifugă 4 X 400 ml, obținându-se o cremă de drojdie îmbogățită în
17 selenium.

19 1.6. Purificarea: spălare cu soluții de tampon EDTA SI Na_2HPO_4 și succesiv cu apă
distilată sterilă la 350-4500 rpm timp de 5-10 min fiecare etapă.

21 1.7. Uscarea prin liofilizare/atomizare în trepte timp de 48 h. Pulberea finală are o
viabilitate ridicată celulară 103-106 și un conținut de seleniu de la 1500-2900 ppm total,
seleniu organic 97-99,9% și selenit și selenat urme, în procent < 1% din seleniul total, lipsit
23 de contaminare microbiană.

25 2. Procedeele de obținere 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) și a drojdiei de bere rezultate
27 din industria berii, urmată de uscare (prin liofilizare sau atomizare).

29 În urma amestecului s-au obținut cantități de seleniu total care au variat între 30 ppm
până la 500; 1000 ppm. Concentrația de selenit și selenat obținută a fost < 1% din seleniu
total. Concentrația de seleniu organic a fost de maximum 99,9%.

31 3. Procedeele de obținere a pâinii și altor produse de panificație îmbogățite cu seleniu
se referă la fabricarea produselor folosind ca materii prime următoarele: făină albă de grâu,
33 afânători biochimici, apă, sare și, opțional, alte ingrediente.

35 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
37 10 mm. Înainte de utilizare se determină însușirile fizico-chimice și reologice (prin farinogra-
fie, cu alveograf sau cu mixolab) și se stabilește capacitatea de hidratare, în funcție de care
39 se calculează cantitatea necesară de apă potabilă pentru a fi folosită în procesul tehnologic.

41 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).

43 Se poate folosi drojdie de panificație sub formă comprimată, lichidă sau uscată,
ținând cont coeficientul de echivalență cantitativă (raportat la substanță uscată). Cantitatea
45 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
47 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%

RO 132631 B1

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.	1
Se folosește apă potabilă cu temperatura 25...30°C și sare comestibilă iodată, care respectă cerințele de calitate standard. De asemenea, se pot utiliza alte ingrediente: enzime (pentru corectarea/ajustarea calității făinii); ulei de floarea soarelui, lapte praf și zahăr, pentru produse de franzelărie.	3
Procedeele de obținere a produselor de panificație fortificate cuprind următoarele faze tehnologice:	5
- 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 opțională și prepararea soluției de sare, cu o porțiune din cantitatea de apă tehnologică prevăzută în rețetă;	7
- 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 fermentare durează de la 50 până la 150 min, la o temperatură a aluatului $t = 30...31^{\circ}\text{C}$, prin asigurarea microclimatului corespunzător ($t = 28...32^{\circ}\text{C}$; $\varphi_{\text{aer}} = 75...80\%$) (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);	9
- 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 compoziția și masa produsului. Parametrii recomandați pentru asigurarea microclimatului (spațiului de fermentare) sunt: temperatura aerului $t = 27...35^{\circ}\text{C}$ și umiditatea relativă a aerului $\varphi_{\text{aer}} = 65...85\%$. Temperatura bucății de aluat la sfârșitul fermentației finale este aproximativ 31...32°C;	11
- coacerea bucăților de aluat se realizează în cuptoare 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 $t = 200...230^{\circ}\text{C}$, timp de coacere până la 30 min (variabil între 5 și 30 min), în funcție de masa și de forma produsului;	13
- pregătirea pentru comercializare, prin răcire și, opțional, preambalare. Răcirea produselor se face în primele 1-2 h de la scoaterea lor din cuptor, în condițiile păstrării pâinii în vederea depozitării (parametrii aerului din depozit $\varphi_{\text{aer}} = 18...20^{\circ}\text{C}$, $\varphi_{\text{aer}} = 65...75\%$). La etichetare se va ține cont de Reg. UE nr. 1924/2016 privind mențiunile nutriționale și de sănătate înscrise pe produsele alimentare.	15
	17
	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47

RO 132631 B1

1 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
3 mase nominale de circa 250-350 g, obținute prin coacere în cuptoare discontinue, cu vatră
fixă.

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

7 Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

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

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

13 - amestecul drojdie de bere îmbogățită în seleniu organic cu drojdie rezultată din
procesul tehnologic de fabricare a berii poate fi realizat atât în formă solidă (biomasa uscată),
15 cât și în formă lichidă (biomasă umedă);

17 - un conținut de seleniu organic de 99,9% din seleniu total încorporat în biomasa de
drojdie activă;

19 - conținut de selenit și selenat este mai mic de 1% raportat de seleniu total;

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

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

25 - oferirea unei alternative pentru aportul de seleniu în alimentația umană prin inter-
mediul consumului de produse alimentare fortificate cu seleniu, pentru acoperirea necesaru-
lui zilnic de seleniu sau pentru evitarea carențelor în seleniu;

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

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

31 Prezentarea figurilor:

33 - fig. 1, reprezintă schema fluxului tehnologic la fabricarea pâinii îmbogățite cu seleniu
(schema de operații);

35 - fig. 2, reprezintă fluxul de obținere de biomasa de drojdie îmbogățită în seleniu ce
utilizează drojdia rezultată de la fabricarea berii.

Prezentarea unor modalități de realizare a invenției prin exemplificare:

37 1. Se prezintă în continuare două exemple de preparare a bioprodusului pe bază de
drojdie îmbogățită în seleniu organic sub formă activă.

39 **Exemplul 1**

41 Au fost izolate colonii de drojdii din lapte de bere și tulpina a fost identificată prin
secvențiere ADN. Coloniile izolate au servit formării de culturi stoc de întreținere și apoi au
fost utilizate pentru obținerea de cultură preinocul pentru o nouă fermentație.

43 Cultura de întreținere - reprezintă cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*
DBVPG 38P.

45 Cultura de întreținere se obține din însămânțarea mediului (malț extract 2% și
peptonă 0,3%, agar 2,5-3%) în plăci cu 1 ml de cultură *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG
47 38P. Se selectează și se formează cultura stoc de întreținere.

RO 132631 B1

- Obținerea preinoculului și a inoculului de drojdii: 1
- preinoculul (cultură statică), tulpina identificată anterior, se obțin dintr-o cultură de întreținere care se însămânțează pe mediu înclinat (tuburi cu YMSP - agar 3%) și incubare la temperatura de 30°C timp de 48 h. Cultura preinocul se analizează din punct de vedere al purității și gradului de creștere al microorganismului. Cultura pură corespunzătoare, bine dezvoltată, de culoare alb-gălbuie, adaptată la seleniu, este utilizată la prepararea inoculului lichid; 3
 - cultura inocul, înainte de însămânțare, 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 aproximativ 4,2, miros caracteristic, culoare bej-gălbuie; 5
 - fermentația propriu zisă: Cultivarea în sistem submers în bioreactor: cultura inocul: 100 ml-150 ml/ml flacon a fost folosită pentru însămânțarea bioreactorului care prezintă următoarea compoziție de mediu de cultură: soluția de melasă 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 fermentației de selenit de sodiu soluție (soluție 2,5%, 7%, 10%), soluție sterilă de zaharoză/melasă; soluție de biotină, soluție sterilă de extract de malț nehomeiat; 7
 - dacă situația o impune se adaugă aseptice antispumant 1-2 picături; 9
 - după inocularea mediului de cultură, fermentatorul se aduce în parametri biotehnologici de lucru, și anume: 11
 - temperatură - 29-30°C; 13
 - agitare (inițial) - 200 rpm cu creștere graduală la 500 rpm; 15
 - debit de aer (inițial) - 0,5-0,7-1 L aer/L mediu; 17
 - pH: 4,2-5,2 corectat cu NaOH (soluție 40%) cu seringă cu filtre sterile. 19
- Prelucrarea mediului fermentat: 21
- separarea biomasei de drojdie seleniată din mediu de cultură fermentat -realizată prin centrifugare; 23
 - purificarea biomasei de drojdie îmbogățită în seleniu organic prin atomizare sau liofilizare. S-au preparat: soluție EDTA și soluție tampon Na₂HPO₄ pentru purificarea biomasei obținându-se o cremă de biomasă de drojdie activă; 25
 - uscarea biomasei de drojdie îmbogățită în seleniu organic prin atomizare sau liofilizare. Este preferată liofilizarea deoarece se obține o viabilitate > 10⁴ a biomasei finale; 27
 - uscarea a fost realizată prin liofilizare și s-a obținut drojdie seleniată uscată activă. 29

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	37
13	5,4	-	4,52	-	
14	5,2	5,5	4,45	7	39
14,30	5,2	-	5,06	-	
15,30	5,03	5,5	4,97	6,5	41
16,30	5	-	4,95	-	
19	4,92	4,5	4,89	6	43
22,20	4,84	4,7	4,87	5,8	
22,30	-	-	-	-	45
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	47

RO 132631 B1

1 Exemplul 2

3 Au fost izolate colonii de drojdii din lapte de bere și tulpina a fost identificată prin
5 secvențiere ADN. Coloniile izolate, au servit formării de culturi stoc de întreținere și apoi au
7 fost utilizate pentru obținerea de cultură preinocul pentru o nouă fermentație.

9 Cultura de întreținere - reprezintă cultura de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*
11 DBVPG38P.

13 Cultura de întreținere se obține din însămânțarea mediului (malț extract 2% și
15 peptonă 0,3%, agar 2,5-3%) în plăci cu 1 ml de cultură *Saccharomyces cerevisiae*
17 DBVPG38P. Se selectează și se formează cultura stoc de întreținere.

19 *Obținerea preinoculului și a inoculului de drojdii*

21 Preinoculul (cultură statică), tulpina identificată anterior, se obține dintr-o cultură de
23 întreținere care se însămânțează pe mediu înclinat (tuburi cu YMSP - agar 3%) și incubare
25 la temperatura de 30°C timp de 48 h. Cultura preinocul se analizează din punct de vedere
27 al purității și gradului de creștere al microorganismului. Cultura pură corespunzătoare, bine
29 dezvoltată, de culoare alb-gălbuie, adaptată la seleniu, este utilizată la prepararea inoculului
31 lichid.

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

41 Fermentația propriu-zisă: Cultivarea submersă în sistem submers în bioreactor:
43 cultura inocul: 100-150 ml/ml flacon a fost folosită pentru însămânțarea bioreactorului care
45 prezintă următoarea compoziție de mediu de cultură: soluția de melasă 200 g, 0,5-0,1 g%
47 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,05 g% KCl; 0,04 MgSO_4 ; extract de drojdie 0,5-0,7 g%, (Vutil = 41) cu adaos
49 pe parcursul fermentației de selenit de sodiu soluție (soluție 2,5%, 7%, 10%), soluție sterilă
51 de zaharoză/melasă; soluție de biotină, soluție sterilă de extract de malț nehomeiat.

53 Dacă situația o impune se adaugă aseptice antispumant 1-2 picături.

55 După inocularea mediului de cultură, fermentatorul se aduce în parametri biotehnolo-
57 gici de lucru, și anume:

- 59 - temperatură - 29°C-30°C;
- 61 - agitare (inițial) - 200 rpm cu creștere graduală la 500 rpm;
- 63 - debit de aer (inițial) - 0,5-0,7-1 L aer/L mediu;
- 65 - pH : 4,0-5,2 corectat cu NaOH (soluție 40%) cu seringă cu filtre sterile.

67 *Prelucrarea mediului fermentat*

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

73 Purificarea biomasei de drojdie îmbogățită în seleniu organic prin atomizare sau liofili-
75 zare. S-au preparat: soluție EDTA și soluție tampon Na_2HPO_4 pentru purificarea biomasei
77 obținându-se o cremă de biomasă de drojdie activă.

79 Uscarea biomasei de drojdie îmbogățită în seleniu organic prin atomizare sau
81 liofilizare.

83 Este preferată liofilizarea deoarece se obține o viabilitate > 10^4 a biomasei finale.
85 Uscarea a fost realizată prin liofilizare și s-a obținut drojdie seleniată uscată activă.

RO 132631 B1

Durata de cultivare	pH 1	s.u. 1	pH 2	s.u. 2	
0	6,5	6,8	6,46	6,8	1
11	5,6	4	5,5	4	3
13,20	5,2	4,2	4,77	4,5	
14,20	5,24	5,5	5,27	6	5
15,20	5,2	4,5	5,2	5	
16,30	5,09	5,5	4,96	6	7
17,30	5,3	5,3	5,3	5,5	
19,00	5,11	4,3	5,25	4,3	9
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	11
2111	99,90%	Selenit	Selenat	34 ml	

Bioprodusul de drojdie seleniată activă, obținut conform invenției, are următoarele caracteristici:

- conținut de seleniu total 150-2950 mg/kg;
- conținut în seleniu organic de maximum 99,9%;
- conținut de selenit și selenat < 1% din seleniu total;
- umiditatea 4-6%.

2. Se prezintă exemple de valorificare a drojdiei rezultate din procesul de producere a berii pentru obținerea de biomasă de drojdie activă îmbogățită în seleniu organic:

Exemplul 1

Amestecuri solid-solid - biomasa de drojdie îmbogățită în seleniu organic conform primului procedeu prezentat anterior și drojdia uzată de la fabricarea berii

DBR2 = drojdie de bere uzată liofilizată - 160 g.

DMM1 - drojdie îmbogățită în seleniu organic cultivate pe melasă ca sursă de carbon principală.

Amestec MDDM1 = DMM1 (20) + DBR (240G) = amestec solid-solid raport 1 la 14 drojdie liofilizată îmbogățită în seleniu organic finală - 260 g.

Amestec MDDM2 = DMM2 (20) + DBR (200G) = amestec solid-solid raport 1 la 10 biomasa de drojdie liofilizată finală îmbogățită în seleniu organic - 225 g.

Concentrația în seleniu total din amestec a fost următoarea:

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

Acumularea unei cantități mai mari de biomasă de drojdie este corelată cu o viteză mai mare de consum a substratului (sursa de zahăr). Concentrația de seleniți și selenati a fost < 1%.

Caracterizarea microbiologică pentru probele de mai sus:

- mucegaiuri < 10 ufc/g;
- b. coliforme < 10 ufc/g;
- *Bacillus cereus* < 10 ufc/g.

RO 132631 B1

1

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

3

5

7

Proba 4 = 20 DS + 125 DBR = amestec solid solid = 145 g de biomasa de drojdie îmbogățită în seleniu organic ce utilizează drojdia uzată de bere

9

Probe	Concentrația de Se total ppm	Concentrația de seleniu organic
Proba 4 după amestec 4 amestec (raport ¼)	149	97,7
Pâine - Proba 4	0,3	

11

13

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

15

Concentrația de seleniu înainte de amestec din biomasa de drojdie: 1500-2900 seleniu total. După amestec s-au obținut următoarele probe:

17

Probe	Se total (mg Se/kg)	Conținut în seleniu organic
DS1-A	374	99,9%
DS2-A	474	99,9%
DS3-A	364	99,9%
DS4-A	519	99,9%

19

21

23

Pentru probe realizate tot în amestec solid-solid DS5; DS6; DS7; DS8;

25

Raport 1/1; 1/2 și 1/01. pt DS 5;DS6; DS7; și DS 8 Raport a fost 1/1

Exemplul 2 - Amestec lichid-lichid:

27

P4 Martor a fost amestecată cu drojdie umedă uzată de bere = Amestec lichid-lichid și după liofilizare s-a obținut 120-130 g. Raport 1 la A

29

Probe de drojdie	Se total (ppm)	Concentrația de seleniu organic (%)
Proba 3	341	99,1
Proba 1	507	99,4
Proba 4	398	97,7

31

33

35

- mucegaiuri < 10 ufc/g

- coliformi < 10 ufc/g

37

- *Bacillus cereus* < 10 ufc/g

Uscarea biomasei

39

Uscarea drojdiilor prin liofilizare a constat din două operații: înghețarea probelor în etape succesive și sublimarea gheții cu ajutorul vidului înaintat.

RO 132631 B1

Pentru uscarea drojdiilor s-a folosit un liofilizator Delta LSC 2-24. Biomasa de drojdie a fost turnată în cutii Petri cu diametrul de 14,7 cm și înălțimea de 1,0 cm. Acestea au fost introduse pe rafturile liofilizatorului, răcite în prealabil la -40°C timp de 1 h și jumătate. Liofilizarea s-a făcut timp de 48 h, în 11 etape.

Atât temperatura de pe rafturile liofilizatorului, cât și cea din probă, este măsurată de senzori de temperatură.

Caracterizare microbiologică:

- 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 mm, indice de cădere FN = 339 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 temperatura 28°C .

Se prepară aluatul prin metoda directă, prin frământare rapidă, timp de 4 min la viteza I-a 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 temperatura 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 circa 1 min. Aluatul obținut se divizează în bucăți de 0,34 kg, se premodelează și se modelează în forma dorită (format lung), apoi bucățile de aluat se supun operației de fermentare finală timp de 35 min, în condiții de microclimat adecvat ($t = 27...35^{\circ}\text{C}$ și $\varphi_{\text{aer}} = 65...85\%$). Temperatura bucății 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 h de la scoaterea lor din cuptor. După răcire, pe baza analizelor de laborator, pâinile au avut volum = 301 cmc/100 g, aciditate miez 2,1. Pierderile la coacere au fost 8,8%.

Exemplul 2

Se obține pâine albă îmbogățită 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 îmbogățită 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 mm, indice de cădere FN = 319 sec; s-a determinat comportarea reologică la mixolabul Chopin; capacitatea de hidratare CH = 59,1%.

RO 132631 B1

1 Se utilizează următoarea rețetă de fabricație:

3	Ingrediente/materii prime		
	Făină albă de grâu tip 600 (14% u) - 100 kg		
5	Drojdie de bere seleniată (DBS) 1 kg		
	Drojdie de panificație (DP) - Comprimată 2 kg		
7	Apă 59,1 L		
	Sare 1,5 kg		
9	Regim tehnologic, cu prepararea aluatului într-o singură fază		
	Frământare, malaxor cu braț spiralat		
11	Timp frământare	min	10-12
	Temperatură aluat	°C	29-30
13	Fermentare, în cuve - dospitor		
	Timp fermentare	min	150
15	Temperatură fermentare (microclimat)	°C	30
	Temperatură aluat (fermentat)	°C	30
17	Aciditate aluat	grade	3,5
	Refrământare, malaxor		
19	Nr./timp refr. (120 rpm)	Nr./min	2/1
21	Momentul refrământării (de la începutul fermentării)	min	60, 120
	Divizare		
23	Mărimea bucăților de aluat - dimensiuni variate	g	520 g
	Modelare		
25	Tip (R - rotund, A - alungit, împletit) - forme variate	-	R, A, împletit
27	Fermentare finală		
	Timp fermentare finală	min	50
29	Temperatură fermentare (microclimat)	°C	30-31
	Coacere, cuptor discontinuu		
31	Timp coacere	min	20
	Temperatură coacere	°C	230
33	Vapori/abur		Da, la începutul coacerii
	Răcire		
35	Timp	ore	1-2
	La temperatura mediului ambiant		

37
39 După răcire, pe baza analizelor de laborator, pâinile de formă alungită au avut volum = 369 cmc/100 g, aciditate miez 2,1. Pierderile la coacere au fost 8,8%.

RO 132631 B1

Revendicări

1. Bioprodus utilizat în panificație, **caracterizat prin aceea că**, este constituit din biomasă activă de drojdie *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG 38P având proprietatea de a capta seleniu total în concentrații de la 1500-2950 mg/kg, cu concentrații <1 ppm selenit și selenat de sodiu în biomasă, și drojdie rezultată din procesul de producere a berii, având un conținut de seleniu organic între 99,7...99.9%.
2. Bioprodus utilizat în panificație conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, poate fi obținut prin amestec sub formă lichidă-lichidă din biomasă umedă cu biomasă umedă și uscat ulterior prin liofilizare sau solid-solid din biomasă uscată activă de drojdie îmbogățită în seleniu organic cu biomasă uscată activă de drojdie uzată de bere.
3. Bioprodus conform revendicării 2 obținut prin amestecul sub formă lichidă-lichidă, **caracterizat prin aceea că**, este purificat prin spălări succesive cu tampon EDTA disodic și fosfat disodic și 4...5 spălări cu apă distilată sterilă, urmată de uscarea prin liofilizare sau atomizare, și prezintă un conținut de selenit și selenat < 1% din seleniul total.
4. Bioprodus conform revendicării 2 obținut prin amestecul sub formă solid-solid, **caracterizat prin aceea că**, prezintă un conținut de seleniu total între 30...1000 ppm.
5. Procedeu de obținere a unui bioprodus pe bază de biomasă de drojdie *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG 38P îmbogățită în seleniu organic, **caracterizat prin aceea că**, este constituit din următoarele faze:
- prepararea culturii de întreținere 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 bază de biomasă de drojdie de *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG 38P îmbogățite în seleniu organic prin însămânțarea mediului de fermentație cu inocul lichid, separarea biomasei, purificarea prin spălări repetate cu tampon EDTA, fosfat disodic și cu apă distilată sterilă și uscarea prin liofilizare obținând un produs uscat activ îmbogățit în seleniu organic.
6. Procedeu de obținere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG38P îmbogățită în seleniu organic, conform revendicării 5, **caracterizat prin aceea că**, cultura de întreținere se prepară din cultura de *S. cerevisiae* DBVPG 38P prin însămânțarea unui mediu înclinat pe bază de zaharoză, extract de drojdie, malț, agar-agar și incubare la 30°C.
7. Procedeu de obținere a unui bioprodus de drojdie îmbogățită în seleniu organic conform revendicării 5, **caracterizat prin aceea că**, cultura preinocul se prepară din cultura stoc de întreținere de *S. cerevisiae* DBVPG 38P prin însămânțarea unui mediu înclinat pe bază de zaharoză, extract de drojdie, malț, agar-agar și incubare la 30°C.
8. Procedeu de obținere a unui bioprodus de drojdie îmbogățită în seleniu organic conform revendicării 5, **caracterizat prin aceea că**, cultura inocul lichid se prepară prin însămânțarea a 150 ml cu o cultură preinocul de *S. cerevisiae* DBVPG 38P pe bază de zahăr alimentar/zaharoză, extract de drojdie, peptonă și incubare la 30°C pentru 17...21 h cu agitare 140...240 rpm, greutate celulară, UFC/M > 10⁸ substanța uscată 1...3g% și pH final de 4...4,2.
9. Procedeu de obținere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG38P îmbogățită în seleniu organic conform revendicării 5, **caracterizat prin aceea că**, mediul de fermentație pe bază de melasă, săruri de K, fosfat mono-amoniacal, sulfat de

RO 132631 B1

1 magneziu, biotină și cu adaos de selenit de sodiu și de soluție sterilă de zaharoză/zahăr;
extract de malț neameiat pe parcursul fermentației este însămânțat în raport de 1% cu
3 inoculul lichid dezvoltat cu cultură de de *S. cerevisiae* DBVPG 38P.

5 10. Procedeu de obținere a unui bioprodus de drojdie *Sacharomyces cerevisiae*
DBVPG38P activă îmbogățită în seleniu organic conform revendicării 5, **caracterizat prin**
7 **aceea că**, mediul fermentat este eliminat cu pompa peristaltică la rece și ținut la rece, după
care se realizează purificarea biomasei cu soluții tampon de EDTA disodic și fosfat disodic,
apă distilată sterilă, urmând uscarea prin liofilizare/atomizare.

9 11. Produse de panificație obținute din aluaturi afânate biochimic cu adaos de
biomasa de drojdie *Sacharomyces cerevisiae* DBVPG38P imbogatita cu seleniu organic și
11 drojdie rezultată din procesul de producere a berii conform revendicărilor 1, 2, 3, 4 și 5,
caracterizate prin aceea că, au concentrații de 0,10...0,23 mg Se/kg produs finit, doza de
13 drojdie de bere seleniată fiind variabilă între 0,1% și 2% raportată la cantitatea de făină,
dependentă de caracteristicile biomasei de drojdie de bere îmbogățite cu seleniu organic.

15 12. Procedeu de obținere a unor produse de panificație obținute din aluaturi afânate
biochimic cu adaos de bioprodus conform revendicărilor 1, 2, 3, 4 și 11 cuprinzând fazele
17 tehnologice de pregătire a materiilor prime, preparare a aluatului, prelucrarea aluatului,
coacere și pregătire pentru comercializare, **caracterizat prin aceea că**, la obținerea aluatului
19 se utilizează în calitate de afânători biochimici un amestec sub formă solidă, pulverulentă
sau lichidă, în funcție de bioprodusele utilizate, de drojdie de panificație cu biomasă de
21 drojdie de bere îmbogățită în seleniu organic, prin metoda directă, fără activarea prealabilă
a drojdiei, și se folosește făină albă de grâu cu conținut de gluten umed (Gu) peste 30% și
23 cu un indice de deformare gluten (ID) până la 10 mm, caracteristicile reologice fiind
corespunzătoare făinurilor cu un potențial foarte bun până la mediu pentru panificație.

(51) Int.Cl.

A21D 2/00 (2006.01);

A21D 13/06 (2006.01);

A23L 7/10 (2016.01)

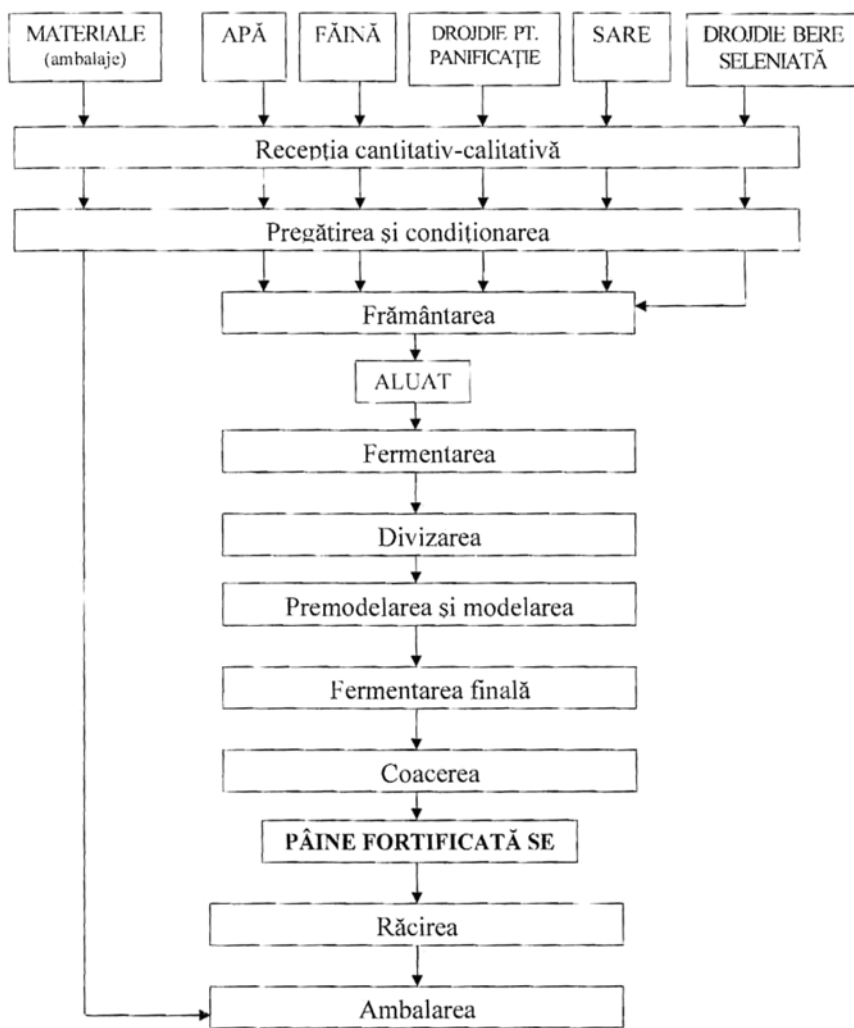


Fig. 1

(51) Int.Cl.

A21D 2/00 (2006.01),

A21D 13/06 (2006.01),

A23L 7/10 (2016.01)

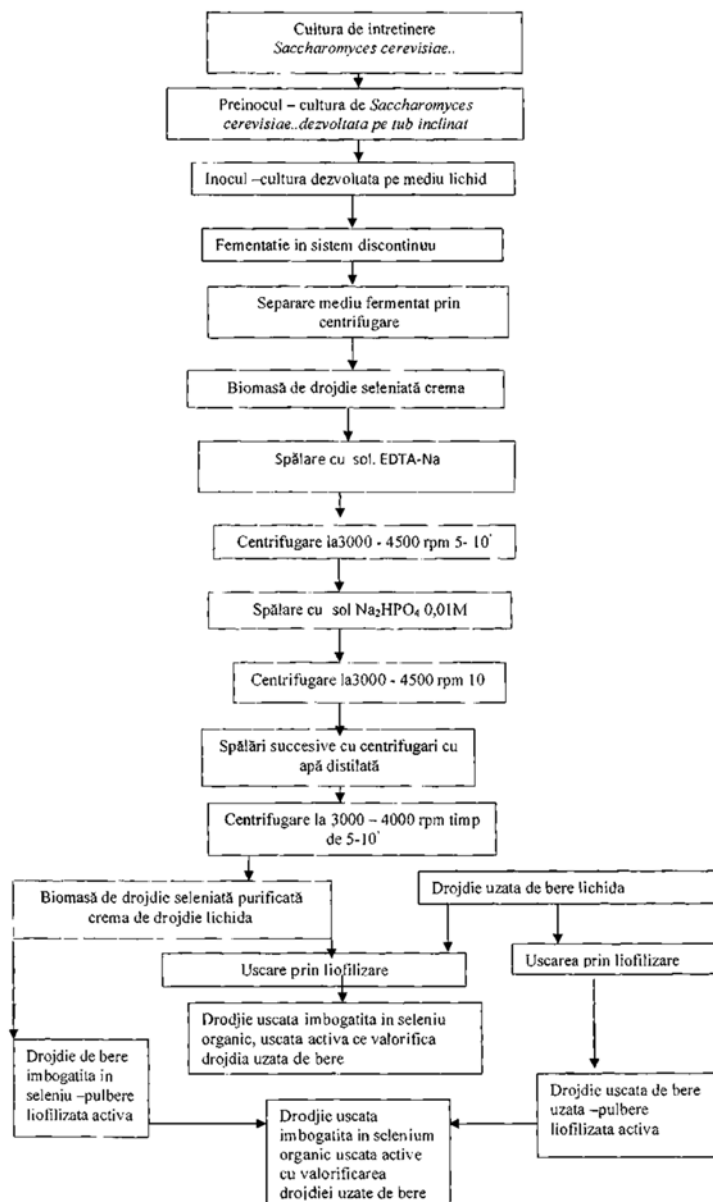


Fig. 2

