



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00798

(22) Data de depozit: 07/12/2022

(41) Data publicării cererii:  
28/04/2023 BOPI nr. 4/2023

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

(72) Inventatori:  
• OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;

• CONSTANTINESCU-ARUXANDEI DIANA,  
ȘOS.MIHAI BRAVU NR.297, BL.15A, SC.A,  
AP.5, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;  
• TRITEAN NAOMI,  
STR. PERFECȚIONĂRII, NR.11, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• DEȘLIU-AVRAM MĂLINA, STR.GÂRLENI  
NR.4, BL. C85, SC.A, ET.6, AP.40,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR NANOEMULSII  
DE FERTILIZANȚI FOLIARI CU EFICACITATE  
ȘI STABILITATE RIDICATĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor nanoemulsii de fertilizanți foliari cu eficacitate și stabilitate ridicată. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: obținerea de pereți celulari de drojdie îmbogățită în manoproteine, prin pre-tratamentul enzimatic al unei suspensii de drojdie de bere cu endo- și exo(1,3)- $\beta$ -D-glucanaze și endo-chitinază, spargerea pereților celulari prin ultrasonare, separare prin centrifugare și uscare prin pulverizare, hidroliză cu endo- și exo-proteaze microbiene pentru obținerea de pereți de

drojdie melanoidizați care se supun la ultrasonare și uscare, amestecarea a 3...4 părți pereți celulari de drojdie melanoidizați cu 6...7 părți pereți celulari de drojdie îmbogățită în melanoidine și 90 părți fertilizant foliar NPK cu microelemente și omogenizare, rezultând un fertilizant foliar sub formă de nanoemulsie stabilă cu penetrabilitate ridicată în interiorul frunzei.

Revendicări: 2



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	2022 0798
Data depozit .....	07-12-2022

30

## PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR NANOEMULSII DE FERTILIZANȚI FOLIARI CU EFICACITATE ȘI STABILITATE RIDICATĂ

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unor nanoemulsii de fertilizanți foliari cu stabilitate ridicată și cu o eficacitate mărită, determinată de o penetrabilitate crescută prin barierele de permeabilitate hidrofob – hidrofile existente la nivelul frunzelor. Aceste nanoemulsii de fertilizanți foliari sunt destinați aplicării în tehnologiile de cultură a plantelor, pentru nutriția și biostimularea plantelor cultivate.

Sunt cunoscute diferite procedee de creștere a penetrabilității în interiorul frunzei a componentelor fertilizanților foliari. Unul din aceste procedee este utilizarea adjuvanților de stropire, care se adaugă de obicei în rezervorul echipamentelor de stropit, pentru a crește performanțele produselor agrochimice aplicate prin pulverizare pe frunze. Adjuvanții de stropire includ componente cu diferite roluri. În compozițiile de adjuvanți de stropire se adaugă agenți de control ai derivei stropirii (driftului), care reduc formarea picăturilor fine cu grad ridicat de dispersie, și agenți de hidratare, care reduc rata de evaporare a apei și a compușilor activi de pe frunze. Diferite tipuri de solvenți hidrofobi, ca de ex. uleiuri minerale sau vegetale, acizi grași sau esterii alchilici ai acizilor grași, sunt utilizați în compozițiile de adjuvanți de stropire datorită activității lor de stimulare a penetrării suspensiilor apoase de produse agrochimice polare prin cuticula înalt hidrofobă a plantelor – sunt denumiți și aditivi de translocare, datorită efectului de plastifiere a cuticulei. Activitatea de reducere a tensiunii superficiale, exercitată de surfactanți / emulsifianți, de obicei din categoria celor neionici, uzual etoxilați ai alcoolilor sau ai acizilor grași, îmbunătățește capacitatea de udare și de acoperire a frunzelor (Niu *et al.* 2021, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 104-118; Fernández, și Brown, 2013, *Frontiers in Plant Science*, 4, 289).

Cererea de brevet US 2018255772 A1 se referă la o compoziție de adjuvant de stropire, care include diferite tipuri de gume vegetale (polizaharide) și, opțional, polioli, aditivi de translocare / plasticizare, și agenți tensioactivi. Polizaharidele / gumele vegetale sunt un amestec de gumă xantan și konjack, carboxi-metil-celuloză (CMC) și hidroxi-propil-etil-celuloză, carrageenan și acid poligalacturonic, sau metil celuloză și pectina și/sau maltodextrină. Polioli utilizați sunt derivați polihidroxilici ai glucidelor - arabitol,

eritritol, izomaltol, lactitol, maltitol, manitol, sorbitol, xilitol sau combinații ale acestora. Aditivii de translocare includ acid linoleic obținut prin hidroliza uleiului de in. Agenții de emulsionare sunt derivați de amidon sau de gumă arabică, obținuți prin tratare cu acid octenil-succinic, extract de lemn de Panama (*Quillaja saponaria*), alcoolii grași din semințe etoxilați și propoxilați (ca de ex. Ecosurf™ SA-9), alchil poliglicozide (ca de ex. Glucopon® 425-N), sau o combinații ale acestora.

Cererea de brevet WO9831223 descrie o compoziție care include esteri de acizi grași, etoxilați ai acizilor grași și un compus terpenic, care mărește suplimentar penetrabilitatea substanțelor active din produsele agrochimice, în special produse de protecția plantelor, prin cuticula plantelor. Cerea de brevet WO9929171 prezintă o compoziție de adjuvant care include un ester al acizilor grași cu alcoolii inferiori și o combinație de surfactanți neionici și ionici. Brevetul SUA 6,797,673 revendică o compoziție de adjuvant în care exemplificarea invenției conține ulei vegetal metilat, alcool gras etoxilat / polioxileneter cu formula  $H_{23}C_{11}(CH_2CH_2O)_5$  și un agent de control al derivei picăturilor pe bază de lecitină. Cererea de brevet WO2010049070 dezvăluie o compoziție de adjuvant agricol care conține esteri alchilici ai acizilor grași cu 16...22 atomi de carbon, exemplificați prin ulei etilat de floarea-soarelui cu conținut ridicat de acid oleic, surfactanți non-ionici derivați din polioli, exemplificați prin sorbitan mono/trioleat și C8-C10 alchil poliglucozide, și opțional polioli, reprezentați de glucoză sau sorbitol și/sau siliconi.

Cererea de brevet EP2777394 A1 se referă la compoziție de adjuvant agricol, destinată creșterii performanțelor produselor agrochimice aplicate prin stropire, care se adaugă în amestecurile efectuate în rezervorul echipamentelor de tratament, și la un procedeu de obținere a acestei compoziții, utilizând materii prime din surse regenerabile. Compoziția conform invenției este alcătuită din 42,1...54,8 părți de esteri etilici ai acizilor grași din ulei de rapiță sau floarea-soarelui, sau 64,1 părți de esteri metilici ai acizilor grași din ulei de soia, 10,1...17,0 părți alcool etilic, 3,9...6,4 părți glicerol, 2,5...4,4 părți trigliceride, 10,4...30 părți emulsifianți, reprezentați de lecitină lichidă din soia, sau lecitină lichidă din soia și MOA-9, eter de alcool gras cu polioxietilenă, sau laurisulfat de amoniu, eventual 1,2 părți hidroxid de potasiu, sau 0,95 părți acetat de potasiu, sau 6,4 părți oleat de potasiu, apă 0,5...1,7 părți, diferența până la 100 unități fiind substanțe nesaponificabile și săruri de acizi grași, sau acizi grași liberi și săruri.

Dezavantajul unor astfel de compoziții de adjuvanți agricoli care sunt destinate aplicării în rezervorul echipamentelor de stropit este determinat de riscul de incompatibilitate fizico-chimică a adjuvanților cu formulele de fertilizanti foliari, care duc la precipitarea unor componente (Webster et al. 2016. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64, 6139-6147). De asemenea, unii ioni, cum sunt de exemplu cei de zinc, nu își cresc penetrabilitatea în prezența componentelor adjuvanților de stropire (Alexander și Hunsche, 2016, *Agronomy*, 6, 39). Recent s-a demonstrat faptul că adjuvanți agricoli pot determina o creștere a transpirației frunzelor și a reducerii eficienței de utilizare a apei, datorită plastifierii stratului cuticular (Räsch et al 2018. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 229-237).

O soluție alternativă de creștere a penetrabilității foliare, în special a micronutrienților, este prin chelatizare / complexare. Un exemplu este cel al compozițiilor de micronutrienți lichizi, care sunt preparate prin combinarea acidului fulvic extras din leonardit cu amoniac și săruri metalice, hidroxizi-acizi și/sau săruri metalice cu hidroxi-acizi. Compozițiile rezultate prezintă o absorbție foliară crescută (EP0284339 B1). Un alt exemplu este cel al compozițiilor care au ca agenți de chelatare proteine vegetale hidrolizate (US2005235718 A1). Această soluție nu se poate aplica în cazul unor oligo-și macronutrienți, cărora nu le mărește suficient penetrabilitate foliară. De asemenea, întrucât complexarea ionilor pentru a fi eficientă în accelerarea trecerii prin bariera hidrofobă reprezentată de cuticulă se realizează cu agenți de chelatare hidrofobi, soluția aceasta de penetrare cuticulară prin chelatare nu funcționează decât pentru calea lipoidală de transport în simplast. Simplastul este acea parte a plantelor care are un metabolism intens, spre deosebire de apoplast (care include pereții celulari vegetali de exemplu) și care are un metabolism lent. Utilizarea nutrienților aplicați foliari necesită ajungerea în simplast, iar transportul în simplast se face pe două căi, calea lipoidală și cea apoasă (Oosterhuis, 2009, *Proceedings of the fluid forum*, pp. 15-17). În general, calea cea mai activă de transport în simplast este cea apoasă, în care difuzia este facilitată / activă, și nu cea lipoidală.

O altă soluție de creștere a eficienței aplicării foliare este cea de nanoformulare. (Hofmann et al. 2020, *Nature Food*, 1(7), 416-425. Kah et al., 2019, *Nature*

*nanotechnology* 14, no. 6 (2019): 532-540). Direcția investigată preponderent este cea a producerii de nanoparticule ale diferiților nutrienți, de la azot până la seleniu.

O problemă asociată nanoparticulelor este toxicitatea potențial ridicată a nanostructurilor pentru plante și mediu înconjurător (Pullagurala et al. 2018, *Environmental Pollution*, 241, 1175-1181). O soluție la această problemă a reprezentat-o nanoformularea sub formă de nanolipozomi (Jiang et al. 2021, *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 1-20). Un exemplu este cel al formulării sulfatului de zinc și a chelatului de fier ca lipozomi cu stabilitate scăzută la stropire, pentru a evita răspândirea în mediu (Karny, et al. 2018, *Scientific reports*, 8, 7589). Lipozomi prezintă însă același dezavantaj al transportului în simplast doar prin calea lipoidală de transport.

Este deci necesară realizarea unei nano/micro-formulări versatile, care să asigure penetrarea prin cuticula hidrofobă și apoi să permită transportul ionilor nutritivi în simplast atât pe calea lipoidală, cât și pe cea apoasă. Este un al obiect al acestei invenții de a compensa creșterea evaporării ca urmare a plasticizării cuticulei sub influența agenților de translocare, prin efectele fiziologice ale formulelor de produs rezultate ca urmare a aplicării procedurii propus.

Procedura conform invenției este alcătuită din următoarele etape:

- Obținerea de pereți celulari de drojdie îmbogății în manoproteine, prin pretratamentul enzimatic al unei suspensii de 15% drojdie de bere, cu endo- și exo (1,3)-beta-D-glucanaze și endo-chitinază, în raport de 150-200 unități beta-glucanazice și 640-800 unități endo-chitinază la 1 kg de drojdie substanță uscată, timp de 8 ore la temperatura de 55°C, spargerea pereților celulari prin ultrasonare la o energie de 30 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, separarea prin centrifugare la o forță centrifugală relativă de 8500xg, colectarea sedimentului și uscarea prin pulverizare, la o temperatură de intrare de 140°C și o temperatură de ieșire de 85-90°C.
- ✓ Obținerea de pereți de drojdie melanoidizați, prin hidroliza cu endo- și exo-proteaze microbiene, în raport de 15 unități Anson endo-proteaze și de 2750 unități leucin amino-peptidazice la 1 kg de drojdie aflată într-o suspensie apoasă la 15% substanță uscată, la pH=7.0 și temperatura de 65°C, timp de 12 ore, spargerea pereților celulari prin ultrasonare la o energie de 50 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, separarea prin centrifugare la o forță centrifugală relativă de 8500xg, colectarea sedimentului și uscarea pe un uscător cu două valțuri, la o



turație de 1 rotație pe minut și la o presiune a aburului de alimentare de 440 kPa, corespunzând unei temperaturi a valțului de 150°C, urmată de raclarea materialului uscat de pe suprafața valțurilor cu 2 cuțite răzuitoare, câte unul pe fiecare valț;

- Amestecarea a 3-4 părți pereți celulari de drojdie melanoidizați, cu 6-7 părți pereți celulari de drojdie îmbogățiti în melanoidine și cu 90 părți de fertilizant foliar NPK, respectiv fertilizant foliar NPK cu microelemente, și omogenizare prin ultrasonare în celulă în flux, la o energie de 150 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, pentru formarea nanoemulsiei stabile de fertilizant foliar.

Fertilizantul foliar NPK este de tip 3:1:1, 2:1:1 sau 1:1:1. Soluția de micro-elemente este cu B, Fe, Cu, Mn, Mg, Zn și Mo.

Procedeeul, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

- Determină formarea unui sistem ternar de tip nano/microemulsie hidrofил/ hidrofobă, ca urmare a formulării dispersive a pereților celulari de drojdie cu manoproteine, cu efect emulsifiant, și a pereților celulari de drojdie cu melanoidine, cu efect de formare a emulsiilor de tip Pickering.
- Permite penetrarea prin cuticula hidrofobă datorită structurilor efectului emulsifiant al manoproteinelor
- Asigură transportul ionilor nutritivi în simplast atât pe calea lipoidală, cât și pe cea apoasă.
- Compensează creșterea evaporării apei din țesuturile plantei, ca urmare a plasticizării cuticulei sub influența agenților de translocare, prin efectele fiziologice ale melanoidinelor incluse în formula de produs rezultat.
- Formează după diluție picături cu drift redus și cu capacitate mare de udare a frunzelor, datorită acțiunii combinate a celor două tipuri de pereți celulari de drojdie.

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

*Exemplul 1.* Drojdia epuizată de la fabricarea berii, de tip lager (*Saccharomyces pastorianus*) se separă prin centrifugare și apoi se concentrează prin filtrare, de ex. pe un filtru presă de laborator, cu plăci de polietilenă (Pure Process, Carl Stuart Grup, Camberley, Marea Britanie). Concentratul de drojdie se aduce la 15% substanță uscată. și se trece într-un vas de reacție de inox de 150 litri, prevăzut cu agitare, capac și manta

de termostatare. Se aduce pH-ul la valoarea 5,5 unități pH prin adăugare de acid clorhidric 1 N.

Suspensia de drojdie se tratează cu un amestec de enzime care conține endo- și exo (1,3)-beta-D-glucanaze și endo-chitinază, în raport de 150 unități beta-glucanazice și 640 unități endo-chitinază la 1 kg de drojdie substanță uscată, timp de 8 ore la temperatura de 50°C. Un exemplu de amestec de enzime comerciale care se poate folosi este Vinotaste Pro (Novozyme, Bagsværd, Danemarca), care este un amestec complex de enzime litice, produs de tulpini selectate de *Trichoderma harzianum* și *Aspergillus niger*, și care are o activitate exo- $\beta$ -(1,3)-glucanazică (EC3.2.1.56) și endo- $\beta$ -(1,3)-glucanazică (EC 3.2.1.6) de 75 unități glucanazice (BGUX) per gram și de 320 unități endo-chitinazice per gram. Acest amestec se aplică în cantitate de 2 grame la fiecare kg de substanță uscată - în acest caz 32 grame de enzime. O unitate glucanazică BGUX este definită ca fiind cantitatea de enzimă necesară pentru a produce 1  $\mu$ mol de glucoză pe minute dintr-o soluție care conține 2,5 g/l laminarină, la pH 5,5 și la temperatura de 45°C. O unitate endo-chitinazică este definită ca fiind cantitatea de enzimă necesară pentru eliberarea a 1  $\mu$ mol de p-nitrofenol pe minut din p-nitrofenil- $\beta$ -tri-acetil-chito-trioza (2,5 mM) în tampon MES (100 mM), pH 6,2 la 40°C. Se poate folosi orice fel de amestec similar, cu aceleași caracteristici, de astfel de enzime dezvoltate inițial pentru maturarea vinului (Uzuner & Cekmecelioglu 2019, în *Enzymes in Food Biotechnology*, pp. 29-43, Elsevier). În urma tratamentului cu endo- și exo (1,3)-beta-D-glucanaze și endo-chitinază, pereții celulari de drojdie sunt îmbogățiți în manoproteine, ingrediente cunoscute pentru capacitatea lor emulsifiantă.

Suspensia de drojdii al căror perete a fost semnificativ fragilizat prin tratamentul enzimatic cu  $\beta$ -glucanaze și chitinaze, se lizează prin ultrasonare în flux, folosind un echipament UIP2000hdT-230 (Hielscher Ultrasonic, Teltow, Germania), prevăzut cu o celulă în flux. Se aplică o energie de 30 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, ceea ce înseamnă un debit de 240 litri pe oră. Pereții celulari de drojdie se separă prin centrifugare, pe o centrifugă continuă de laborator Westfalia Laboratory Separator, model SA 1-02-175 (GEA Westfalia Separator Group, Oelde, Germania), care este operată la o viteză a discurilor de centrifugare de 10.000 rpm, echivalent a 8500 x g; la o rată de alimentare de 1 litru/min, cu separarea

continuă a plasmolizatului de drojdie și discontinuează a concentratului de pereți celulari, ajuns la o densitate de 1100 kg/m<sup>3</sup>.

Concentratul de pereți rezultat se usucă prin pulverizare la o temperatură de intrare de 140°C și o temperatură de ieșire de 85-90°C, folosind un uscător prin pulverizare de laborator (de ex. Niro Mobile Minor® Spray-Dryer, GEA Group, Düsseldorf, Germany), cu o capacitate de 5-7 litri/oră.

Pentru obținerea de pereți de drojdie melanoidizați, suspensia de drojdie de 15% substanță uscată este adusă la pH= 7.0 cu KOH 1 N și se hidrolizează enzimatic proteinele prin tratare cu endo- și exo-proteaze microbiene, în raport de 18 unități Anson endo-proteaze și de 2500 unități leucin amino-peptidazice la 1 kg de drojdie, la temperatura de 65°C, timp de 12 ore. Exemple de proteaze comerciale care se pot folosi sunt Alcalase® AF 2,4 L și Flavourzyme 1000 L (Novozymes, Bagsværd). Alcalase este o serin endo-peptidază de tip subtilizina A, produsă de *Bacillus licheniformis* (Tacias-Pascacio et al. 2020, International Journal of Biological Macromolecules, 165, 2143-2196). Endo-proteaza care se utilizează are o activitate de 2,4 unități Anson per gram. O unitate Anson este definită ca fiind acea cantitate de enzimă care eliberează 1,0 μmol L-tirozină din hemoglobină pe minut la 25°C, pH 7,5. Se adaugă 5 grame de enzimă la fiecare kg de drojdie – în acest caz 80 grame preparat enzimatic. Un alt amestec de enzime care se folosește este Flavourzyme® (Novozymes, Bagsværd), un amestec de peptidaze, aminopeptidaze, dipeptilpeptidaze și endo-peptidaze produs de *Aspergillus oryzae* (Merz et al. 2015, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63, 23, 5682–5693). Activitatea amestecului enzimatic folosit este de 1000 unități leucin amino-peptidazice (LAPU) per gram. O LAPU este acea cantitate de enzimă care hidrolizează 1 μmol de L-leucină-p-nitroanilidă pe minut. Se adaugă 2,5 grame enzime la 1 kg de drojdie pentru a atinge doza de 2500 LAPU per kg drojdie – în acest caz 40 grame enzime. Orice fel de amestec de enzime cu aceleași caracteristici se poate folosi. Se lizează prin ultrasonare în flux, folosind un echipament UIP2000hdT-230 (Hielscher Ultrasonic, Teltow, Germania), prevăzut cu o celulă în flux. Se aplică o energie de 50 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, ceea ce înseamnă un debit de 144 litri pe oră. Pereți celulari de drojdie melanoidinizați se separă prin centrifugare, pe o centrifugă continuă de laborator Westfalia Laboratory Separator, model SA 1-02-175 (GEA Westfalia Separator Group, Oelde, Germania), care este





operată la o viteză a discurilor de centrifugare de 10.000 rpm, echivalent a 8500 x g; la o rată de alimentare de 1 litru/min, cu separarea continuă a plasmolizatului de drojdie și discontinuă a concentratului de pereți celulari, ajuns la o densitate de 1100 kg/m<sup>3</sup>.

Se procedează la uscarea pereților celulari separați prin centrifugare, pe un uscător cu două valțuri (de exemplu Lab Dryer, Simon Dryer, Nottingham, Marea Britanie), la o rotație de 1 rotație pe minut și la o presiune a aburului de alimentare de 440 kPa, corespunzând unei temperaturi a valțului de 150°C, urmată de raclarea materialului uscat de pe suprafața valțurilor cu 2 cuțite răzuitoare, câte unul pe fiecare valț. Viteza de rotație lentă și temperatura mai ridicată a valțului sunt destinate favorizării procesului de formare a compușilor Maillard.

Într-un vas de inox de recepție se amestecă 3 părți pereți celulari de drojdie melanoidizați, cu 7 părți pereți celulari de drojdie îmbogății în melanoidine și cu 90 părți de fertilizant foliar NPK. Se omogenizează prin ultrasonare în celulă în flux, la o energie de 150 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, pentru formarea nanoemulsiei stabile de fertilizant foliar.

*Exemplu 2.* Se procedează la fel ca în exemplul 1, cu diferența că se folosește fertilizant NPK 2:1:1.

*Exemplu 3.* Se procedează la fel ca în exemplul 1, cu diferența că se folosește fertilizant NPK 1:1:1.

*Exemplu 4.* Se procedează la fel ca în exemplul 1, cu diferența că se folosește un raport de 4 părți pereți celulari de drojdie melanoidizați, cu 6 părți pereți celulari de drojdie îmbogății în melanoidine și fertilizant NPK 1:1:1. cu microelemente - B, Fe, Cu, Mn, Mg, Zn și Mo.

## Revendicări

1. Procedeu conform invenției **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: obținerea de pereți celulari de drojdie îmbogățiti în manoproteine, prin pretratamentul enzimatic al unei suspensii de 15% drojdie de bere, cu endo- și exo (1,3)-beta-D-glucanaze și endo-chitinază, în raport de 150-200 unități beta-glucanazice și 640-800 unități endo-chitinază la 1 kg de drojdie substanță uscată, timp de 8 ore la temperatura de 55°C, spargerea pereților celulari prin ultrasonare la o energie de 30 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, separarea prin centrifugare la o forță centrifugală relativă de 8500xg, colectarea sedimentului și uscarea prin pulverizare, la o temperatură de intrare de 140°C și o temperatură de ieșire de 85-90°C; obținerea de pereți de drojdie melanoidizați, prin hidroliza cu endo- și exo-proteaze microbiene, în raport de 15 unități Anson endo-proteaze și de 2750 unități leucin amino-peptidazice la 1 kg de drojdie aflată într-o suspensie apoasă la 15% substanță uscată, la pH=7.0 și temperatura de 65°C, timp de 12 ore, spargerea pereților celulari prin ultrasonare la o energie de 50 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, separarea prin centrifugare la o forță centrifugală relativă de 8500xg, colectarea sedimentului și uscarea pe un uscător cu două valțuri, la o turație de 1 rotație pe minut și la o presiune a aburului de alimentare de 440 kPa, corespunzând unei temperaturi a valțului de 150°C, urmată de raclarea materialului uscat de pe suprafața valțurilor cu 2 cuțite răzuitoare, câte unul pe fiecare valț; amestecarea a 3-4 părți pereți celulari de drojdie melanoidizați, cu 6-7 părți pereți celulari de drojdie îmbogățiti în melanoidine și cu 90 părți de fertilizant foliar NPK, respectiv fertilizant foliar NPK cu microelemente, și omogenizare prin ultrasonare în celulă în flux, la o energie de 150 KJ.L<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, pentru formarea nanoemulsiei stabile de fertilizant foliar.

2. Procedeu conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** fertilizantul foliar NPK este de tip 3:1:1, 2:1:1 sau 1:1:1. Soluția de micro-elemente este cu B, Fe, Cu, Mn, Mg, Zn și Mo.