



СРБИЈА И ЦРНА ГОРА

ЗАВОД ЗА ИНТЕЛЕКТУАЛНУ СВОЈИНУ
Београд, Змај Јовина 21

ИСПРАВА О ПАТЕНТУ

Број 46117

*Подносиоцу пријаве за признање патента ИНТМ – Центар за хемију
Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, признат је патент под називом
БИОТЕХНОЛОШКИ ПОСТУПАК ЗА ДОБИЈАЊЕ СТАБИЛНОГ ПРЕХРАМБЕНОГ
ПРОИЗВОДА НА ВАЗИ МОДИФИКОВАНОГ СЕЛЕНСКОГ КВАСЦА
по пријави П-1930/88 поднетој 17. октобра 1988. године,
са правом првенства од 17. октобра 1988. године.*

*Патент је уписан у Регистар патената 21. децембра 1991. године
и објављен у Гласнику интелектуалне својине 21. децембра 1992. године.*

*Патент важи до 17. октобра 2008. године под условом
да се годишње таксе за његово одржавање редовно плаћају.*

*Ова исправа издата је на основу члана 49. Закона о патентима,
("Сл. лист СЦГ" бр. 32/2004).*

Београд, 14. фебруар 2006. године.

*Директор
проф. др Слободан Марковић*

C. Markovits





ZAVOD ZA
INTELEKTUALNU SVOJINU
BEOGRAD

(21) Broj prijave:	P-1930/88	(73) Nosilac patenta:	IHTM – Centar za hemiju Studentski trg 12-16 11000 Beograd
(22) Datum podnošenja prijave:	17.10.1988.	(72) Pronalazači:	Vrvić M.; Vučetić J.; Matić V.; Veljković V. Lazić M.
(43) Datum objavljivanja prijave:	31.10.1990.	(74) Zastupnik:	Ivana Z. Kekić-Zurnić, adv. Čingrija 11/5a 11000 Beograd
(45) Datum objavljivanja patenta:	21.12.1992.		
(30) Međunarodno pravo prvenstva:			
(61) Dopunski patent uz osnovni patent broj:			
(62) Izdvojen patent iz prvobitne prijave broj:			

(54) Naziv: **BIOTEHNOLOŠKI POSTUPAK ZA DOBIJANJE STABILNOG PREHRAMBENOG PROIZVODA NA BAZI MODIFIKOVANOG SELENSKOG KVASCA**

(57) Apstrakt:

Pronalazak se odnosi na postupak za biotehnoško dobijanje stabilnog prehrambenog proizvoda na bazi modifikovanog selenskog kvasca. U tu svrhu se aktivirana kultura *Saccharomyces cerevisiae* podvrgne predfermentaciji a zatim fermentaciji na sintetičkoj podlozi koja sadrži jedinjenja selena. Selen se ugrađuje u aminokiseline kvasca koji se potom stabilizuje vitaminima A, C i E. Inaktivirani proizvod finalizuje se kao niskokalorični, dijetetski, mineralno-vitaminski dodatak ishrani koji pokazuje brojne pozitivne efekte na čovečiji organizam.

OBLAST TEHNIKE

Predmetni pronalazak spada u oblast prehrambene industrije koja po međunarodnoj klasifikaciji nosi oznaku A 23.

Pronalazak može bliže da se klasifikuje kao postupak za proizvodnju namirnica koje sadrže dodatke za poboljšanje hranljivih karakteristika što odgovara oznaci A 23 L 1/30 s tim što se napominje da pojam dodataka, u ovom slučaju, treba upotrebiti samo uslovno, obzirom da je bar njihov deo biotehnoški ugrađen u proizvod a ne jednostavno dodat.

Budući da je preparat uglavnom proteinski, kao oznaka klase dolazila bi u obzir i A 23 J 3/00.

TEHNIČKI PROBLEM

Zadatak pronalaska je da se pronadje postupak za dobijanje fiziološki podesnog i prihvatljivog prehrambenog proizvoda na bazi stabilnog, modifikovanog selenskog kvasca po farmakološki, ekonomski i tehnološki prihvatljivim kriterijumima.

Mikroelementi su, po definiciji, neophodni za normalan rast, razvoj i održavanje životnih funkcija organizma. U normalnoj proceduri se u organizam unose hranom i pićem što, uglavnom, zadovoljava njegove potrebe. Savremena ishrana, međutim, naročito u uslovima ubrzanog životnog tempa, to ne garantuje. Sve se češće javlja potreba da se pojedini, inače uobičajeni sastojci normalne ishrane, uzimaju u obliku različitih dodataka, napitaka, medikamenata, lekova itd. Pri izradi takvih preparata dva zahteva se postavljaju pre ostalih: doziranje i fiziološka prihvatljivost. Dok je prvi sam po sebi razumljiv u vezi s drugim nije na odmet prisetiti se medikamenata koji, iako sadrže za organizam u datom trenutku korisne, potrebne ili čak neophodne sastojke, izazivaju čitav niz "nuspojavanja" ili "neželjenih dejstava" tako da, kod dela populacije, dolazi čak u pitanje njihovo korisno dejstvo. Kod mineralno-vitaminskih preparata koji se aplikuju oralno to se, najčešće, ogleda u smetnjama u gastro-intestinalnom traktu. Kao ilustracija neka bude pomenuto da za organizam nije isto da li će svoju potrebu za, na primer, gvoždjem dobiti u obliku soli sa recimo folnom ili sumpornom kiselinom.

Na kraju, trajnost odn. stabilnost proizvoda su od prvorazrednog značaja za upotrebnu vrednost artikla.

STANJE TEHNIKE

Biološka aktivnost selena odavno je poznata. Nedostatak selena u zemljištu, a samim tim i u ishrani, već je iz iskustva bio poznat narodu. Činjenice su, kasnije, naučno potvrđene. Deficitarnost selena u hrani najizraženija je u širokom pojasu koji leži dijagonalno po teritoriji Kine a manifestuje se kao Kešanova bolest (sindrom).

Obično se, u većini predela na zemlji, hranom unosi dovoljna količina selena. To je uslovljeno geohemijskom rasprostranjenošću ovog elementa. Selen ulazi u racion čoveka u količini od 55 do 110 mg godišnje, a koncentracija selena u krvi iznosi 0,09 do 0,28 mg/dm³ krvi.

Biohemijska odn. biološka uloga selena ogleda se u njegovom katalitičkom dejstvu u nizu enzimskih reakcija gde učestvuje u regulisanju oksidaciono-redukcionih procesa. Dejstvo selena, koji najčešće ulazi u sastav seleno-cisteina, manifestuje se u stabilizovanju plazmaleme, membrane jedra i drugih ćelijskih organela i u tom svojstvu ima antioksidacione osobine na lipidne komponente. Održava, dakle, nivo permeabilnosti membranskih struktura u organizmu. Kao što je poznato, jedan od razloga starenja ćelija, s samim tim i organizma, smanjena je ili poremećena propustljivost ovih struktura organizma. To je, smatra se, posledica dejstva slobodnih radikala kiseonika koji se stvaraju u organizmu i koji reaguju sa membranama odnosno lipidima koji su nosioci aktivnog transporta ćelije. Selen je poznati sinergist vitaminima A i E, a za regulisanje biohemijskog redoks-potencijala, sa vitaminom C, ima ulogu redoks-pufera u oblasti 0,0 V. Mehanizam dejstva selena vezan je za procese metabolizma u kojima delimično zamenjuje sumpor u biološki aktivnim jedinjenjima (enzimima) i ulazi u aktivni centar više enzima od kojih je najznačajnija glutation-peroksidaza i u tom obliku se nalazi u kvascu. Relativno velike količine selena sadrže organi visoke funkcionalne aktivnosti: mrežnjača oka, skeletni mišići, bubrezi i srce.

Smanjenje funkcije pobrojanih organa, a samim tim i celog organizma, nastalo kao posledica bilo pojačanog i/ili dugotrajnog psihofizičkog opterećenja, bilo stresne situacije, vezano je za disfunkcionalnost ćelijskih membrana i membrana u organizmu uopšte, što, između ostalog, rezultuje i u ishemije.

Verovatno je na ovom mestu suvišno ponoviti da je prevencija i za pojedinca i za društvo povoljnija nego lečenje, čak i kada se ne uzmu u obzir izdaci za zdravlje koji su širom sveta, a naročito kod nas, u stalnom porastu.

U YU patentnoj prijavi 1696/80 opisuje se postupak za izradu hranljivog vitaminskog koncentrata na bazi kvasca. Proizvod sadrži vitamine i minerale nesumnjive terapijske vrednosti. U sastavu figuriše čak 20 mikroelemenata među kojima, međutim, nema selen. Inače, u navedenom postupku polazi se od vinskog kvasca iz proizvodnje suvih vina.

Slično, u YU patentu 172/85, koji se odnosi na proteinske koncentrate i hranljive preparate koji sadrže bioaktivne supstance, ne pominje se prisustvo seleni ni kao ugrađenog ni kao dodatog mikroelemenata.

Vrednost preparata dobijenih prema gore navedenim patentima svakako je ograničena u odnosu na predmetni.

Prema US patentu 4 530 846 (1985) dobija se kvasac namenjen kao dodatak ishrani sa sadržajem ugrađenog seleni od oko 2000 ppm. Prema postupku, kvasac se odgaja na prirodnoj podlozi što ne garantuje, za industrijsku proizvodnju veoma bitnu reproduktivnost rezultata.

Japanski patent br. 7 946 811 predlaže za ishranu životinja mikrobiološku vrstu *Pichia aganobii*. Sadržaj seleni u proizvodu je skroman: 8,6 ppm. Iz apstrakta nije, osim toga, vidljiva stabilnost odnosno trajnost proizvoda (isto važi i za navedeni US-patent) što je u uslovima humane ishrane nezaobilazno pitanje.

Na osnovu navedenog se može zaključiti da nijedan od navedenih patenata ne omogućuje dobijanje onakvog proizvoda kako je to definisano pod tehničkim problemom.

OPIS REŠENJA

Zadatak se, prema pronalasku, rešava ugrađivanjem seleni u aminokiseline pekarskog kvasca i stabilizovanjem prvonastalog proizvoda nutritivno i farmakološki korisnim komponentama.

Od čiste aktivne kulture kvasca prvo se pripremi inokulum na podlozi koja može, a ne mora sadržati selenova jedinjenja. Podloga za fermentaciju, kao i za predfermentaciju, sintetska je (dakle jasno definisanog sastava) kako bi se omogućila visoka reproduktivnost rezultata.

Dobivenim inokulumom se u fermentoru zasejava podloga kojoj je dodana so seleni.

Posle završene fermentacije čorba se obrađuje na tanjirastom centrifugalnom separatoru (npr. tipa "Westfalia") i dobija se kvasno mleko sa sadržajem suve materije od oko 10-20%. Kvasno mleko ispira se do negativne reakcije filtrata na selenatni odnosno selenitni anjon. Tako se postiže sigurnost da je sav selen u kvascu vezan organski, dakle u obliku koji je fiziološki najprihvatljiviji. Prisustvo selenita /selenata u filtratu dokazuje se 1%-nim rastvorom kodeina u koncentrovanoj sumpornoj kiselini.

Mogućnosti finalizovanja dobijenog kvasnog mleka su višestruke. Cedjenjem se, npr., dobija sveži aktivni pekarski kvasac sa sadržajem vode od približno 27%; eventualno se stabilizuje, oblikuje i pakuje.

Kvasno mleko može se, s druge strane, koncentrovati i raspršiti, npr. u takozvanom "sprey-drier"-u pa se na taj način dobija suvi aktivni kvasac.

Prema pronalasku se međutim, mleko prvenstveno preradjuje u suvi inaktivni kvasac. Tehnološki se to može postići na više načina. Može se npr. suvi aktivni kvasac dobijen i sprej-drajera obraditi u sušnici na temperaturama do 110°C. Tehnološki je ipak povoljnije da se kvasno mleko preradjuje na takozvanom "instatizeru" koji u kontinualnom postupku objedinjuje napred navedene operacije pa se iz njega direktno dobija suvi inaktivni kvasac modifikovan selenom.

Ovakvo dobijen, nestabilizovani kvasac stajanjem dobija boju trule višnje koja podseća na boju kvasca *Rhodotorula rubra*. Miriše na sumpor ili

selen i žilaviji je od običnog suvog inaktivnog kvasca. Skladištenjem tokom tri meseca na 4, 25, 30, 37 odnosno 50°C, osim u prvom slučaju, obavezno poprira jak miris dimetil-selenida a intenzitet mirisa i zatamnjenje rastu s porastom temperature skladištenja pa je očigledno da bi komercijalizovanje takvog proizvoda u najmanju ruku bilo riskantno.

Prema pronalasku ovaj se problem rešava tako što se sirovom proizvodu dodaju takvi preparati koji će, s jedne strane, bitno povećati njegovu stabilnost i time bitno produžiti rok njegove upotrebe, a s druge strane, poboljšati upotrebnost odn. prehrambenu vrednost proizvoda. Radi postizanja tog cilja, suvom inaktivnom kvascu dodaju se vitamini A, C i E. Ovdje je potrebno naglasiti da je deo dodatih količina neophodan za stabilizovanje preparata, odnosno pojačavanje njegovog dejstva, ali se zbog nesumnjive terapijske vrednosti pomenutih sastojaka oni dodaju u takvim količinama da u što racionalnijem odnosu podmiru uobičajene potrebe čovečijeg organizma za njima.

Vitamin A dodaje se u obliku retinol-acetata na nosaču kao što je karboksimetilceluloza. Vitamin E dodaje se u obliku 50%-nog α -tokoferol-acetata i vitamin C kao L-askorbinska kiselina.

Na tako stabilizovanom i vitaminima obogaćenom suvom inaktivnom kvascu nisu zapažene promene organoleptičkih osobina ni posle podvrgavanja postupku ubrzanog starenja tokom tri meseca na 25, 30, 37 odnosno 50°C, a smanjenje koncentracije selen i vitamina, beznačajno je, tj. nalazi se u granicama eksperimentalne greške. Ekstrapolacijom parametara za fiziološki aktivne komponente (selen, vitamini A, B, C i E i mikroelementi) dobija se rok trajanja proizvoda koji nije manji od dve godine.

Radi pravilne upotrebe kao i kocicije korisnika najbolje je da se stabilizovani preparat stavlja u promet u obliku pojedinačnih doza. Kapsuliranje, tabletiranje ili ampuliranje, kao najpogodniji oblici završne obrade, izvode se na način koji je po sebi poznat.

Kvasac sa selenom, dobijen prema postupku procesom fermentacije, u sadejstvu sa pobrojanim vitaminima, pozitivno deluje na dugotrajnu ispravnu biološko-fiziološku aktivnost organizma. U svakodnevnoj ishrani, u smislu dijetetskog

proizvoda, njegova aktivnost usmerena je na usporavanje procesa starenja i održavanje visokog radnog stepena funkcija vitalnih organa a time i celog organizma. Proizvod prema pronalasku prvenstveno je namenjen, kao mineralno-vitaminski dodatak svakodnevnoj ishrani, osobama srednjeg i starijeg životnog doba za održavanje fiziološke aktivnosti čitavog organizma. Vrednost proizvedenog preparata uvećana je prisustvom prirodnog kompleksa B-vitamina iz pekarskog kvasca.

Osim u normalnim fiziološkim stanjima, proizvod prema pronalasku kao sklop organski vezanog selen a, u određenom odnosu sa vitaminima A, C i E, ima hemioterapeutsko dejstvo. Izvesna je visoka korelacija između povećanog sadržaja selen a u racionu čoveka i niske smrtnosti od kancera. Selen, nadalje, ima zaštitno dejstvo u akutnim i hroničnim trovanjima živom i kadmijumom. Prisustvo selen a i vitamina A, C i E je predohrana za "job hazards" i artritis a pojačana je prisustvom kompleksa B-vitamina u prirodnom odnosu. Takođe, ovakav sastav preparata svrstava ga u najefikasnija per os sredstva zaštite od radijacije.

Za proizvode ovakve vrste, uzete u propisanim količinama, nisu primećeni negativni efekti i nije zapažena nepodnošljivost.

Po nalazu Zavoda za farmaciju, proizvodi prema pronalasku, oralno aplikovani (0,5 mg Se/kg telesne težine) kod miševa ne izazivaju vidljive intoksikacije. U testu na gastričku podnošljivost (na miševima, oralno, pet dana), na gastrointestinalnom traktu nisu zapažene štetne promene uz normalno uzimanje hrane i vode.

U daljem tekstu navedeni primeri izvođenja služe za ilustraciju postupka koji se ipak ne ograničava samo na njih. U svim primerima, čak i tamo gde to nije posebno naglašeno, treba se pridržavati uobičajenih uslova za rad sa mikroorganizmima (sterilne podloge odn. komponente, manipulisanje u sterilnoj zoni itd.).

PRIMER 1 - Priprema osnovne podloge

U 100 cm³ demineralizovane ili destilovane vode sukcesivno se doda

15 g glukoze p.a., "za ishranu" ili tehničke,
6 g suvog ekstrakta kvasca (suve podloge,
"Torlak"),

0,25 cm³ 20%-nog rastvora MgSO₄·7H₂O u vodi i 0,25 cm³ 20%-nog vodenog rastvora (NH₄)₂HPO₄

pa se dobijeni vodeni rastvor demineralizovanom vodom dopuni do 275 cm³ i sterilise u autoklavu pri 0,11 MPa i 121°C tokom 20 minuta. Osnovnoj sterilnoj podlozi aseptično se dodaje 24 cm³ rastvora biotina koji sadrži 6,25 μm biotina i koji je prethodno sterilisan membranskom filtracijom kroz membranu sa srednjom veličinom pora od 0,45 μm. Zatim se sterilnim rastvorom fosforne kiseline pH rastvora podesi na 5,0.

PRIMER 2 - Priprema podloge sa selenom

U 25 litara demineralizovane vode sukcesivno se dodaje 3750 g glukoze p.a., "za ishranu" ili tehničke, 1500 g suvog ekstrakta kvasca ("Torlak"), 65 cm³ 20%-nog vodenog rastvora MgSO₄·7H₂O, 65 cm³ 20%-nog vodenog rastvora diamonijum-fosfata

pa se dobijeni rastvor demineralizovanom vodom dopuni do 68 dm³ i u fermentoru (sa ugrađenim izmenjivačem toplote) sterilise pri 121°C tokom 30 minuta.

Sterilnoj podlozi se aseptično dodaje 72000 cm³ rastvora biotina i natrijum-selenata koji sadrži 1,9 mg biotina i 6,0 g Na₂SeO₄ i koji je prethodno sterilisan kroz membranu sa srednjom veličinom pora od 0,45 μm. Zatim se sterilnim rastvorom fosforne kiseline pH rastvora podesi na 5,0.

PRIMER 3 - Priprema inokuluma bez selena

Kultura *Saccharomyces cerevisiae* na uobičajen način se održava na kosom sladnom agaru kao što je npr. "DIFCO" "Bacto malt agar". Radi dobijanja aktivne kulture, uzastopno se preseje tri puta na svakih 48 časova.

U 10 erlenmajera od 2000 cm³, koji su zatvoreni mikrobiološkim čepovima od gaze i vate, uliveno je prethodno po 300 cm³ osnovne hranjive podloge koja je dobijena kao što je opisano u primeru 1. Zatim se u svaki od njih, iz 10 aktivnih kultura, ulije po 5 cm³ suspenzije kvasca sa kosog sladnog agara koja je dobijena u sterilnom fiziološkom rastvoru (0,8% NaCl). Tako zasejane tečne podloge stavljaju se na horizontalnu

mučalicu sa 200 ciklusa u minuti (3,35 Hz) koja je temperirana na 30°C tokom 24 h.

Ukupno se dobija 3 dm³ suspenzije koja u sebi sadrži cca. 210 g biomase sa sadržajem suve supstance od oko 27% (što čini oko 7% suspenzije tj. 2% suve supstance u odnosu na masu podloge).

PRIMER 4 - Priprema inokuluma sa selenom

U laboratorijski fermentor zapremine 14 dm³ sipa se 3 dm³ podloge koja je dobijena kao što je opisano u primeru 1, s tom razlikom, što se, zajedno sa rastvorom biotina, dodaje i 240 mg Na₂SeO₄ p.a. Podloga se zatim zaseje sa 50 cm³ suspenzije kvasca sa kosog sladnog agara koja je dobijena kao u primeru 3. Predfermentacija se vodi 24 h pri 30°C uz mešanje (200 o/min) i aeraciju sa 0,05-0,1 v/v.min.

Dobija se 3 dm³ suspenzije koja sadrži oko 70 g biomase sa, prosečno, 27% suve supstance, što čini oko 2,3 odn. 0,7% u odnosu na masu podloge.

PRIMER 5

U fermentor od 150 dm³ sa 75 dm³ tečne podloge koja je dobijena kao u primeru 2, kao inokulum se dodaje 3 dm³ suspenzije dobijene u primeru 3. Fermentacija se vodi 24 h na 30°C sa 150 - 300 obrtaja u minuti i aeracijom sterilnim vazduhom od 0,05 do 0,5 zapremina po zapremini u minuti.

Dobijena fermentaciona čorba se na tanjirastom centrifugalnom separatoru preradi u kvasno mleko sa sadržajem suve materije od 10-20%. Kvasno mleko zatim se ispira do negativne reakcije filtrata na selenatni odnosno selenitni anjon (reagens je 1%-ni kodein u konc. H₂SO₄).

Mleko se potom koncentruje, raspršuje i suši (odn. inaktivira) do sadržaja vlage od oko 7%.

Prinos na ovaj način dobijenog modifikovanog kvasca je 8,1 g/dm³ sa sadržajem selena od 1,40 mg/g računatog kao Se.

Biohemijski sastav kvasca (obračunat na srednju vlagu) bio je sledeći:

proteini	37,5%
lipidi	0,9%
ugljeni hidrati	46,5%

pepeo 7,8%
voda 6,5 - 7,5%.

PRIMER 6

Postupa se kao u primeru 5, s tom razlikom što je tečna podloga iz primera 2 sadržala 12,0 g Na_2SeO_4 .

Prinos na ovaj način dobijenog modifikovanog kvasca je 7,9 g/dm³ sa sadržajem selena od 1,38 mg/g računatog kao Se.

PRIMER 7

Postupa se kao u primeru 5, s tom razlikom, što je tečna podloga iz primera 2 napravljena sa 18,0 natrijum-selenata.

Prinos kvasca je 7,7 g/dm³ sa sadržajem selena od 1,67 mg/g računatog kao Se.

PRIMER 8

Postupa se kao u primeru 5, s tom razlikom, što je tečna podloga iz primera 2 napravljena sa 8,25 g $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (umesto natrijum-selenata).

Prinos kvasca je 10,0 g/dm³ sa sadržajem selena od 0,92 mg/g računatog kao Se.

PRIMER 9

Postupa se kao u primeru 8, s tim, što je upotrebjeno 16,5 g natrijum-selenita-pentahidrata.

Prinos kvasca je 9,3 g/dm³, sadržaj selena 1,08 mg/g.

PRIMER 10

Postupa se kao u primeru 8, ali sa 24,75 g $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Prinos kvasca je 9,5 g/dm³, sadržaj selena 1,74 mg/g.

PRIMER 11

Postupa se kao u primeru 5, s tom razlikom što je tečna podloga iz primera 2 napravljena sa 30,0 g $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (kao jedinom selenskom

komponentom) a količina magnezijum-sulfata smanjena je upola.

Prinos kvasca je 9,4 g/dm³, sadržaj selena 1,71 mg/g.

PRIMER 12

Postupa se kao u primeru 5, s tim, što je u tečnoj podlozi iz primera 2 glukoza zamenjena melasom koja sadrži istu količinu glukoze.

Prinos modifikovanog kvasca je 6,2 g/dm³ a sadržaj selena 1,23 mg/g.

* * *

Biohemijski sastav dobijenih modifikovanih kvasaca odgovara onome u primeru 5. Proizvodi dobijeni u primerima 5, 6, 7 i 12 imaju izrazit miris na dimetilselenid. Svi dobijeni proizvodi s vremenom dobijaju tamniju boju a miris dimetilselenida pojavljuje se i kod proizvoda iz primera 8 - 11.

PRIMER 13

Na 60 g modifikovanog kvasca dobijenog kao u primeru 11 dodato je 6,0 g vitamin A-acetata na karboksimetilcelulozi kao nosaču (aktivnosti 500 000 IJ po gramu), 120 g L-askorbinske kiseline i 20 g 50%-nog a-tokoferol-acetata (10 000 IJ). Homogenizovano je tako da temperatura nije prešla 30°C.

PRIMER 14

Na temperaturi ispod 30°C homogenizovano je 93 g modifikovanog kvasca dobijenog kao u primeru 9, 3,0 g vitamin A-acetata na CMC (aktivnosti 500 000 IJ/g), 90 g L-askorbinske kiseline i 90 g a-tokoferol-acetata.

PRIMER 15

U 3250 g ispranog kvasnog mleka (sa sadržajem suve materije od 20%), koje je dobijeno kao u primeru 5, dodano je 50 g vitamin A-acetata na CMC-i (aktivnosti 500 000 IJ/g), 450 g a-tokoferol-acetata (aktivnosti 225 000 IJ; cca 50% aktivne supstance) i 800 g vitamina C. Dobijena suspenzija je pod nižim pritiskom koncentrovana, raspršena i sušena. Prinos: 2 kg supstance sa 3,5% vlage.

Proizvodi dobijeni u primerima 13-15 nemaju miris dimetilselenida i ne tamne ni posle višemesečnog stajanja na sobnoj temperaturi. Proizvod iz primera 14 npr. , ne pokazuje vidljive promene organoleptičkih osobina ni posle 3 meseca na 50°C.

Proizvodi dobijeni u primerima 13, 14 i 15 ampuliraju se, kapsuliraju ili tabletiraju (po potrebi uz dodatak metabolički inertnih sastojaka) na način koji je po sebi poznat. Prioritetno se u takvim preparatima količina Se drži na 0,1 mg po pojedinačnoj dozi a ukupan broj doza u jednom pakovanju niži je od LD₅₀ vrednosti za 1 kg ogleadne životinje.

Inaktivirani stabilizovani modifikovani selenski kvasac kapsulira se ili tableтира i u promet stavlja kao niskokalorični, dijetetski, mineralno-vitaminski dodatak ishrani. Pojedinačna doza sadrži 0,1 mg selena i količinu vitamina A, C i E koja zadovoljava odn. premašuje dnevne potrebe.

PATENTNI ZAHTEVI

1. Biotehnoški postupak za dobijanje stabilnog prehrambenog proizvoda na bazi modifikovanog selenskog kvasca polazeći od, presejavanjem aktivirane, čiste kulture *Saccharomyces cerevisiae*, **naznačen time**, što se aktivirana kultura, prvenstveno na sterilnoj sintetičkoj podlozi koja se sastoji od 30-180 g/dm³ glukoze, kvasca, neorganskih soli koje sadrže esencijalne mikroelemente, medju kojima mogu biti i selenove, i destilovane odnosno demineralizovane vode, podvrgne predfermentaciji uz mešanje i aeraciju od 0,05 do 0,5 zapremina po zapremini u minuti, na temperaturi od oko 30°C tokom 48 časova, a zatim fermentaciji uz iste uslove i na istoj podlozi, koja ovde obavezno sadrži selenova jedinjenja, što se tako dobijena fermentaciona

čorba koncentruje u kvasno mleko do sadržaja suve materije od 10 do 20% i ispira do negativne reakcije na selenate i/ili selenite, što se po potrebi inaktivira, što se, pre, u toku ili posle inaktivacije, po svakom gramu organski vezanog selena u kvascu doda najmanje 10 000 000 IJ vitamina A, 150 000 IJ vitamina E i 750 g vitamina C i što se tako dobijeni niskokalorični, dijetetsko-vitaminski prehrambeni proizvod tableтира, kapsulira ili ampulira.

2. Postupak prema zahtevu 1, **naznačen time**, što podloga za pripremu inokuluma po jednom litru sadrži prvenstveno 55 g glukoze, 22 g suvog ekstrakta kvasca, 0,18 g magnezijum-sulfata-heptahidrata, 0,18 g diamonijum-fosfata i 0,023 mg biotina.

3. Postupak prema zahtevima 1 i 2, **naznačen time**, što podloga za fermentaciju ima isti sastav kao podloga za pripremu inokuluma, s tom razlikom što sadrži još i 0,1 do 1 g, prvenstveno 0,4 g natrijum-selenita-pentahidrata ili ekvimolekulsku količinu drugog selenovog jedinjenja po svakom litru podloge.

4. Postupak prema zahtevima 1 do 3, **naznačen time**, što se finalizovanjem dobija sveži aktivni kvasac sa oko 27% vode.

5. Postupak prema zahtevima 1 do 3, **naznačen time**, što se proizvod finalizuje kao suvi aktivni kvasac.

6. Postupak prema zahtevima 1 do 5, **naznačen time**, što se suvi aktivni kvasac inaktivira na 105 - 110°C ili se kvasno mleko neposredno prevodi u suvi inaktivni kvasac.

7. Postupak prema zahtevima 2 i 3, **naznačen time**, što se kao izvor glukoze upotrebljava melasa.