

ÖZET

EKMEK MAYASI ÜRETİMİNE UYGUN OLAN VE ZAYIF ORGANİK ASİTLERE KARŞI BİR İÇ DİRENÇ SERGİLEYEN OZMOTOLERANT *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SUŞLARI, BU SUŞLARIN PREPARASYONUNA VE KULLANILMASINA YÖNELİK YÖNTEMLER

5

10

Mevcut buluş, ozmotolerant olan ve zayıf organik asitlere karşı bir iç direnç sergileyen ekmek mayaları üretilmesi için uygun olan *Saccharomyces cerevisiae* suşları ile ilgilidir. Mevcut buluşa göre suşlar, I-4341 numarası altında CNM'de [Fransız Ulusal Mikroorganizma Kültürleri Toplama] 8 Temmuz 2010'da depolanan endüstriyel *S. cerevisiae* suşunun melezlenmesi veya mutasyona uğramasıyla yönelik bir yöntem aracılığıyla veya endüstriyel bir suşun, bu suşa ilişkin Ty profili aracılığıyla ve/veya nicel iz lokus haritalama (QTL haritalama) aracılığıyla elde edilmektedir.

İSTEMLER

1. *Saccharomyces cerevisiae* suşu olup, aşağıdakiler ile elde edilmeye uygundur:

5 -I-4448 numarasında 9 Şubat 2011 tarihinde CNCM'de depolanan suş ile I-4341 numarasında 8 Temmuz 2010 tarihinde CNCM'de depolanan endüstriyel bir *Saccharomyces cerevisiae* suşunun melezlenmesini ve aşağıdakilerden oluşan grup içinden seçilen elde edilmiş melezin en az seçilim aşamasında içeren melezleme yöntemi:

10

i. A5 ve A5' testlerinde veya A5' testinde Burrows ve Harrison fermentometresiyle ölçülen fermentatif bir aktivite; seçilen melez, gaz salınımında I-4341 numarasında CNCM'de 8 Temmuz 2010'da depolanan *Saccharomyces cerevisiae* suşundan oluşan bir kontrol suşunun en az %10'undan ve tercihen %15 ila 25'inden fazla olacak şekildedir,

15

ii. %0,4 oranında kalsiyum propionat varlığında %15, %18, %23 veya %25 (hamur yüzdeleri) şeker içeren hamur üzerinde No-Time Dough yönteminde bir kanı süresi; seçilen melezler, kalsiyum propionat varlığında adaptasyon ile çoğalmasyla, I-4341 numarasında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşundan üretilen bir kontrol ekmek mayası tarafından sağlanan kanı süresinin %85'i ila %105'i ve tercihen %95'i ila %105'i arasında bulunan bir kanı süresi sağlayan, kalsiyum propionata adaptasyon yokluğunda, çoğalmayla ekmek mayaları üretilmesine uygundur,

20

25

veya

-I-4341 numarasında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşunun rastgele mutasyon yöntemi ve aşağıdakilerden oluşan grup içinden seçilen elde edilmiş mutant seçilimine yönelik bir yöntem:

30

i. A5" testinde Burrows ve Harrison fermentometresiyle ölçülen fermentatif bir aktivite; seçilen mutant, gaz salınımında I-4341 numarasında CNCM'de 8 Temmuz 2010'da depolanan *Saccharomyces cerevisiae* suşundan oluşan bir kontrol suşunun en az %5 ila %20'sinden fazla olacak şekildedir,

35

ii. %0,4 oranında kalsiyum propionat varlığında %15, %18, %23 veya %25 (hamur yüzdeleri) şeker içeren hamur üzerinde No-Time Dough yönteminde bir

kanlı süresi; seçilen mutantlar, kalsiyum propionat varlığında adaptasyon ile çoğalmasyla, I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşundan üretilen bir kontrol ekmek mayası tarafından sağlanan kanlı süresinin %90'ı ile %105'i arasında bulunan bir kanlı süresi sağlayan, kalsiyum propionata adaptasyon yokluğunda, çoğalmayla ekmek mayaları üretilmesine uygundur,

söz konusu *Saccharomyces cerevisiae* suşunun, zayıf asit(ler)in varlığında adaptasyon yokluğunda çoğalmayla, zayıf organik asitlere karşı bir iç direnç ve ozmotolerans sergileyen bir ekmek mayası üretilmesine uygun olması ile **karakterize edilmektedir.**

2. I-4312 numarası altında CNCM'de 11 Mayıs 2010 tarihinde depolanan, İstem 1'e göre *Saccharomyces cerevisiae* suşu.

3. I-4313 numarası altında CNCM'de 11 Mayıs 2010 tarihinde depolanan, İstem 1'e göre *Saccharomyces cerevisiae* suşu.

4. I-4409 numarası altında CNCM'de depolanan, İstem 1'e göre *Saccharomyces cerevisiae* suşu.

5. I-4410 numarası altında CNCM'de depolanan, İstem 1'e göre *Saccharomyces cerevisiae* suşu.

6. İstemler 2 ila 5'ten herhangi birisine göre bir suşun zayıf asit(ler) varlığında adaptasyon olmadan çoğalmasyla elde edilmeye veya İstem 1'e göre yöntem ile elde edilmeye uygun olan ekmek mayası

7. İstem 6'ya göre bir ekmek mayası içeren ekmek hamuru.

8. Fermantasyonun, yüzdeler hamur yüzdeleri olmak üzere, hem en az %15 şeker, tercihen en az %18 şeker, daha tercihen en az %23 oranında şeker varlığında hem de tercihen kalsiyum propionat formunda olan zayıf organik asit türünde bir mantar inhibitörü varlığında gerçekleştirildiği hamurlar arasından seçilmesi ile **karakterize edilen**, İstem 7'ye göre ekmek hamuru.

- 9.** İstem 7'ye veya İstem 8'e göre bir ekmek hamuru kullanılarak pişmiş bir ekmek ürünün preparasyonuna yönelik yöntem.
- 10.** İstem 9'a göre yöntemle elde edilmeye uygun olan ekmek ürünü.

TARİFNAME

5 EKMEK MAYASI ÜRETİMİNE UYGUN OLAN VE ZAYIF ORGANİK ASİTLERE KARŞI BİR İÇ DİRENÇ SERGİLEYEN OZMOTOLERANT *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SUŞLARI, BU SUŞLARIN PREPARASYONUNA VE KULLANILMASINA YÖNELİK YÖNTEMLER

KAYNAK BAŞVURU

- 10 Mevcut başvuru, 18 Şubat 2011 yayımlanan FR 1151354 numaralı Fransız patent dokümanına rüçhan hakkı talep etmektedir.

TEKNİK ALAN

- 15 Mevcut buluş, ekmek mayası üretilmesine uygun olan *Saccharomyces cerevisiae* suşları alan bunların preparasyon yöntemleri, bu suşlardan üretilen ekmek mayaları bunları içeren ekmek hamurları bu hamurları kullanılmasıyla elde edilmeye uygun ekmek yapma yöntemleri ve ekmekler ile ilgilidir. Daha özel olarak mevcut buluş en genel anlamıyla, ozmotolerant ekmek mayaları üretilmesine uygun olan ve düşük organik asitlere karşı bir
20 iç direnç sergileyen, endüstriyel olarak adlandırılan, *Saccharomyces cerevisiae* suşları ile ilgilidir.

ÖNCEKİ TEKNİK

- 25 WO 96/38538 numaralı patent dokümanı %16 ila %25 (hamur yüzdeleri) oranında yüksek şeker konsantrasyonu içeren ekmek hamurlarında avantajlı olarak gaz salınmaları (CO₂ üretimi) üretmeleriyle artan bir ozmotolerans sergileyen geliştirilmiş *S. cerevisiae* suşlarından elde edilen hamurlar açıklanmaktadır. Bu doküman, zayıf organik asitler gibi, mantar inhibitörlerinin varlığında bu mayaların davranışları hakkında dair bir şey sunmamaktadır.

- 30 US 4318991 numaralı patent dokümanı asetik asit veya propiyonik asit gibi zayıf organik asitler gibi, mantar inhibitör maddelerinin varlığında bir ekmek hamuru içinde yüksek fermantatif aktivite sergileyen ekmek mayaları üretilmesine yönelik bir yöntemi açıklamaktadır. Bu yöntem, özellikle hamurun çoğaltılması sırasında bu tür bir asidin
35 eklenmesine yönelik bir aşama içermektedir ve bu, özellikle ekmek hamurlarında (bundan

sonra Calpro veya ppc olarak belirtilecek olan) kalsiyum propionat formunda bulunan, maya söz konusu aside "uyum sağlayacak" şekilde ilerlemesinin son aşamasında gerçekleştirilmektedir. Bu doküman, yüksek şeker oranında sahip hamurlarda üretilen mayaların davranışlarını belirtmemektedir.

5

Başvuru sahibi adına yapılan US 4346115 numaralı patent dokümanı çoğaltılmasında son döngüsü sırasında melas sürekli olarak eklenmesiyle ozmotolerant bir suştan yapılan, zayıf organik asitlere karşı dirençli hale getirilmiş bir ekmek mayası için preparasyon yöntemini açıklamaktadır

10

Yine başvuru sahibi adına yapılan EP 1559322 numaralı başka bir patent dokümanı zayıf asitlere adaptasyonlarından sonra, teknikte uzman kişiler tarafından iyi bilinen testlere göre, mantar inhibitörlerinin varlığında şekerli hamurlar üzerinde kullanılan ticari mayaların elde edilmesi için yirmi yıl boyunca referans olarak kullanılan bir kontrol suşundan daha performanslı olan mayaların üretilmesine olanak sağlayan suşlar açıklanmaktadır

15

Yukarıda belirtilen zayıf asitlere adaptasyonun dışında, suşun çoğaltılmasında örneğin kalsiyum propionat formunda belirli bir maliyete sahiptir; bu suş aynı zamanda, özellikle şekerli veya yüksek oranda şekerli hamurların varlığında mayanın fermentatif aktivitesi üzerinde negatif bir etkiye sahip olabilmektedir.

20

Suşlardan elde edilmeleri durumunda bunlara adapte olarak, şekerli veya şekersiz hamurlarda mantar inhibitörleri olan zayıf asitlere karşı ekmek mayalarının direncinin iyileştirilmesini hedefleyen önceki tekniğe ait olan bu tekniklerin dezavantajlarının ortak noktası mayalara zayıf asitlere karşı sadece geçici/geçişken olan ve kalıcı olmayan bir direnç vermeleridir. Adaptasyon, maya hücrelerinin büyüme evresi sırasında subletal bir zayıf asit miktarına maruz bırakılmalarından ibarettir; önceden gerçekleştirilen bu maruz bırakma daha sonra adapte edilmiş hücrelerin, fermentasyon koşullarına tabi tutuldukları zaman zayıf asit varlığında daha iyi bir şekilde tolere edebilmesine olanak sağlamaktadır. Bazı durumlarda belirli bir zayıf asit, fermentasyon evresinde başka bir zayıf asidin varlığı karşısında bir adaptasyon sağlayabilmektedir. Bu olgular, Ferreira ve ark.'nın (1997) International Journal of Food Microbiology 36, 145-153 makalesinde örneklendirilmiştir. Zayıf asitlere adaptasyon mekanizmaları birçok çalışmanın konusu olmuştur. Bu çalışmalardan bazıları Piper ve ark. (2001) Microbiology 147, 2635-2642 isimli gazete makalesinde toplanmıştır. Buradan adaptasyonun, bazıları membran pompaları olmak üzere birçok protein içeren hücresel

35

mekanizmalara dayandığı anlaşılmaktadır. Bu mekanizmalar genetik değildir ve geçişken esastır. bunlar zayıf asitten kaynaklanan strese tepki olarak hücreler tarafından kullanılmaktadır ancak stres yokluğunda ortadan kalkmalarıyla sona ermektedir: önceden adapte edilen hücreler, adapte edilmemiş hücrelerin durumuna geri dönmektedir.

5

EP 645094 veya WO 99/51746 numaralı patent dokümanlarında açıklananlar gibi daha kompleks olan bilinen diğer yöntemler, zayıf asitlere karşı iç dirençli hale getirilecekleri şekilde ekmek mayaları üretilmesine uygun suşların bir genetik modifikasyonunu açıklamaktadır.

10

Her zamana daha verimli suşlara yönelik arama çalışmalarını sürdüren başvuru sahibi, klasik yöntemlere göre, melezlenmiş veya mutasyona uğramış genetik bir kalıtıma sahip olan ozmotolerant suşların iç toplanmasından çıkan özel bir suşu ortaya koymaktadır. özellikle verimli olan ve çok şaşırtıcı bir şekilde, örneğin kalsiyum propionat (calpro veya ppc olarak belirtilen) formundaki zayıf bir asit içeren yüksek oranda şekerli hamurlar içine katılmadan önce hiçbir adaptasyon gerektirmeyen bir ekmek mayası üretilmesine uygun bir suş sağlamaktadır.

15

Mevcut buluşun temelini oluşturan da bu keşiftir.

20

Mevcut buluşun kısa açıklaması

En genel yönüyle mevcut buluş, zayıf organik asitlere karşı bir iç direnç ve bir ozmotolerans sergileyen bir ekmek hamurunun üretilmesine uygun olan ve CNCM'de (Ulusal Mikroorganizma Kültürleri Toplama, Curie Enstitüsü, Roux sokağı 25, 75724 Paris Cedex 15) I-4341 numarasıyla 8 Temmuz 2010'da depolanan endüstriyel bir *S. cerevisiae* suşundan hazırlanan bir *S. cerevisiae* suşu ile ilgilidir. Daha özel olarak mevcut buluş, aşağıdakiler ile elde edilmeye uygun bir *Saccharomyces cerevisiae* suşu ile ilgilidir:

25

30

- I-4448 numarası altında 9 Şubat 2011 tarihinde CNCM'de depolanan suş ile I-4341 numarası altında 8 Temmuz 2010 tarihinde CNCM'de depolanan endüstriyel bir *Saccharomyces cerevisiae* suşunun melezlenmesini içeren bir melezleştirme yöntemi ve aşağıdakilerden oluşan grup içinden seçilen elde edilmiş melezin en az seçilim aşaması

35

i.A5 ve A5' testlerinde veya A5' testlerinde Burrows ve Harrison fermentometresiyle

ölçülen fermentatif bir aktivite; seçilen melez, gaz salınımı I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010'da depolanan *Saccharomyces cerevisiae* suşundan oluşan bir kontrol suşunun en az %10'undan ve tercihen %15 ila 25'inden fazla olacak şekildedir,

ii. %0,4 oranında kalsiyum propionat varlığında %15, %18, %23 veya %25 (hamur yüzdeleri) şeker içeren hamur üzerinde No-Time Dough yöntemiyle bir kanı süresi; seçilen melezler, kalsiyum propionat varlığında adaptasyon ile çoğaltılması, I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşundan üretilen bir kontrol ekmek mayası tarafından sağlanan kanı süresinin %85'i ila %105'i ve tercihen %95'i ila %105'i arasında bulunan bir kanı süresi sağlayan, kalsiyum propionata adaptasyon yokluğunda, çoğaltmayla ekmek mayaları üretilmesine uygundur,

veya

- I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşunun rastgele mutasyon yöntemi ve aşağıdakilerden oluşan grup içinden seçilen elde edilmiş mutant seçilimine yönelik en az bir aşama:

i. A5" testinde Burrows ve Harrison fermentometresiyle ölçülen fermentatif bir aktivite; seçilen mutant, gaz salınımı I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010'da depolanan *Saccharomyces cerevisiae* suşundan oluşan bir kontrol suşunun en az %5 ila %20'sinden fazla olacak şekildedir,

ii. %0,4 oranında kalsiyum propionat varlığında %15, %18, %23 veya %25 (hamur yüzdeleri) şeker içeren hamur üzerinde No-Time Dough yöntemiyle bir kanı süresi; seçilen mutantlar, kalsiyum propionat varlığında adaptasyon ile çoğaltılması, I-4341 numarası altında CNCM'de 8 Temmuz 2010 tarihinde depolanan endüstriyel *Saccharomyces cerevisiae* suşundan üretilen bir kontrol ekmek mayası tarafından sağlanan kanı süresinin %90'ı ila %105'i arasında bulunan bir kanı süresi sağlayan, kalsiyum propionata adaptasyon yokluğunda, çoğaltmayla ekmek mayaları üretilmesine uygundur,

söz konusu *Saccharomyces cerevisiae* suşunun, zayıf asit(ler)in varlığında adaptasyon yokluğunda çoğaltmayla, zayıf organik asitlere karşı bir iç direnç ve ozmotolerans sergileyen bir ekmek mayası üretilmesine uygun olması ile karakterize edilmektedir.

Bazı yapılandırma biçimlerinde söz konusu *Saccharomyces cerevisiae* suşu, I-4312 numarası altında CNCM’de 11 Mayıs 2010 tarihinde depolanan suştur.

Diğer yapılandırma biçimlerinde söz konusu *Saccharomyces cerevisiae* suşu, I-4313 numarası altında CNCM’de 11 Mayıs 2010 tarihinde depolanan suştur.

Diğer yapılandırma biçimlerinde söz konusu *Saccharomyces cerevisiae* suşu, I-4409 numarası altında CNCM’de 8 Aralık 2010 tarihinde depolanan suştur veya I-4410 numarası altında CNCM’de 8 Aralık 2010 tarihinde depolanan suştur.

10

Başvuru sahibinin bilgisi dahilinde, bu önceki tekniğin karmaşık ve/veya maliyetli yöntemlerinden uzaklaşarak zayıflıklara karşı hem bir iç direnç hem de bir ozmotolerans gösteren bir ekmek mayası üretim yönteminin ilkidir.

15 Mevcut buluş, mevcut buluşa göre bir suşun zayıflık asit varlığında adaptasyon olmadan çoğaltılamaması elde edilmeye veya yukarıda belirtildiği üzere bir yöntemle elde edilmeye uygun olan bir ekmek mayası amaçlamaktadır

Başvuru sahibi, söz konusu ekmek mayaları kan süresinin (proof time) adaptasyon ile üretildiği zaman kan süresinin arttığı kanılamıştır

20

Mevcut buluş ayrıca aşağıdakileri amaçlamaktadır

- mevcut buluşa göre bir ekmek mayası içeren bir ekmek hamuru,
- 25 - söz konusu ekmek hamuru tercihen, fermantasyonun hem en az %15 şeker, tercihen en az %18 şeker, daha tercihen en az %23 şeker (hamur yüzdeleri) varlığında hem de tercihen kalsiyum propionat formunda zayıflık organik asit türünde bir mantar inhibitörü varlığında bir ozmotik basınç ile gerçekleştirildiği hamurlar arasından seçilmektedir.

30 Mevcut buluş ayrıca söz konusu ekmek hamurunun kullanılmasıyla pişirilmiş ekmek ürününün preparasyonuna yönelik bir yöntem ile ilgilidir.

Mevcut buluş ayrıca söz konusu preparasyon yöntemi ile elde edilmeye uygun olan bir ekmek ürününü amaçlamaktadır

35

Buluşun diğer özellikleri ve avantajları şimdi, sadece örnek amaçlı olarak verilen ve hiçbir şekilde kısıtlayıcı olmayan, buluşun yapılandırma örnekleri yardımıyla daha ayrıntılı bir şekilde açıklanacaktır.

5 Mevcut buluşun ayrıntılı açıklaması

Mevcut buluşta ozmotolerant ekmek mayasından aşağıdaki özelliklerden en az birisini sergileyen bir maya anlaşılmaktadır.

- 10 • 35 birimin altında, tercihen 30 birimin altında ve en tercih edilen şekilde 20 birimin altında bir invertaz aktivite; invertaz birimi, mayanın plazmolizi olmadan 4,7'lik bir pH değerinde ve 30°C'de mg kuru maya maddesi başına 5 dakikalık redüktör şeker mikromolünün, yani ters çevrilmiş bir sakaroz yarım mikromolünün üretimi olarak tanımlanmıştır (US 4318929 numaralı patent dokümanından belirtilen test),
- 15 • buna uygun olarak "Journal of Institute of Brewing", vol LXV, No. 1, Ocak-Şubat 1959'da açıklanan Burrows ve Harrison fermentometresi uyarınca testlerden en az birisidir ve EP 1559322 numaralı patent dokümanında A5, A5', A6 ve A6' olarak belirtilmektedir,
- adapte edilmiş I-4341 suşuna kıyasla ve her daim %0,4 kalsiyum propionat oranında ekmek hamuru varlığında, mevcut buluşta bahsedilen testler uyarınca hamur testlerinden
- 20 en az birisidir NT%15+, NT%18+, NT%23+, NT%25+: bunlar "No-Time Dough" şemalarında, yani hamurun yoğun olarak yorulması ve bölünmesi arasında pratik olarak birinci fermantasyonun olmadığı doğrudan yöntemlerinde kanı sürelerinin ölçülmesinde karşılaşılmaktadır; elde edilen hamurlar 35°C ila 40°C arasında bir kalıpta fermante edilmektedir. Bu tür bir yöntemde esas fermantasyon olan bu son fermantasyon,
- 25 İngilizcede "proof" olarak adlandırılmaktadır. Proof-time veya kanı süresi, bir ekmek hamurunun fırına verilmesi için hamurun arzu edilen gelişimine karşı gelen, kalıpta belirli bir yüksekliğe ulaşması gereken süre olarak tanımlanmaktadır.

30 Tercihen buluşa göre ozmotolerant bir maya, yukarıda bahsedilen testlerde belirtildiği üzere iki özellikten en az birisini sergilemektedir.

Mevcut buluşta örneğin kalsiyum propionat formunda bulunan, zayıf organik asitlere karşı bir mayanın iç direnci anlaşılmaktadır. Yukarıda da belirtildiği üzere, bu direnç örneğin ne adaptasyon ile indüklenmektedir ne de söz konusu mayanın elde edildiği suşun

35 melezleştirilmesi veya mutasyonundan başka bir genetik modifikasyonu sonrasında elde

edilmektedir.

Mevcut buluşta endüstriyel suştan, laboratuvar suşları olarak adlandırılan suşların aksine, haploid veya diploid olmayan ancak ploidinin sıkıca daha kompleks olduğu bir suş anlaşılmalıdır

Bir suşun Ty profilinden, transpozonların (Ty) hareketlerinden kaynaklanan genetik "izlere" karşı gelen hedef sekanslara doğru yönlendirilen başlatıcıları kullanarak PCR sayesinde elde edilen herhangi bir profil anlaşılmalıdır. Bu sekansın yaklaşık olarak 100 kopyası *Saccharomyces cerevisiae* genomunda, daha açıkçası tRNA için kodlanmış genlere yakın sekanslarda bulunmaktadır. Ty elemanlarının genom üzerindeki sayısı ve dağılımı bir suştan diğerine değişebilmektedir ve suşlar arasında önemli bir polimorfizmin ortaya çıkması olarak sağlamaktadır. Bu teknik, hayvani besinler için probiyotik mayaların tanımlanması için DIN CEN/TS 15790 (Mart 2009) standardında açıklanmaktadır

Nicel özelliklerin lokus haritalaması (QTL mapping) ile tanımlanması en kolay olan lokuslara, işaretleyicilere bağlı nicel özelliklerin değişiminde belirtilen lokusların (kromozom bölgelerinin) yerinin saptanması olarak sağlayan genetik haritaların yapılandırılmasından oluşan bir teknik anlaşılmalıdır

Mevcut buluş kapsamında, seçim testinde bahsedilen yüzdelerin hepsi, aksi belirtilmediği takdirde, teknikte uzman kişiler tarafından iyi bilinen hamur yüzdeleri olarak adlandırılan yüzdelerdir; bu yüzdeler, %100'ü gösteren un kütlesine göre mevcut olan (örneğin şeker, kalsiyum propionat, vs. gibi) içeriklerin kütle yüzdeleridir.

ÖRNEKLER

ÖRNEK 1: Melezlerin preparasyonu

Mevcut buluşun konusu olan I-4312 ve I-4313 melez suşları I-4448 numarası altında 9 Şubat 2011 tarihinde ve I-4341 numarası altında 8 Temmuz 2010 tarihinde, Docteur Roux sk. 25, 75724 Paris Cedex 15, Fransa adresinde Pastör Enstitüsünün Ulusal Mikroorganizma Toplamada depolananlar gibi, mantar inhibitörü olarak kullanılan, zayıf organik asitler veya bunların tuzlarının varlığına karşı az duyarlı olan ve ozmotolerant ve/veya ozmotolerant olarak seçilen, Başvuru sahibinin şahsi koleksiyonuna ait suşların kendi aralarında sistematik

olarak artmasıyla üretilmiştir.

- 5 Melezleştirme programı D. Burke, D. Dawson ve T. Stearns'a ait "Methods in Yeast Genetics, A Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual, 2000 Edition", Cold Spring Harbor Laboratory Press (ISBN 0-87969-588-9) eserinin "Techniques et Protocols" kısmının 21 ila 23 numaralı bölümlerinde açıklandığı üzere klasik teknikler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

ÖRNEK 2: Örnek 1'deki melezlerden elde edilen buluşa uygun mayaların preparasyonu

10

Buluşa göre ekmek mayaları üretilecek şekilde, Örnek 1'de elde edilenler gibi melez suşlar, bilinen ortamlarda fermantörlerde veya şişelerde kültürlenmiştir ancak zayıf asitten yoksunlardır.

- 15 Şişede, D. Burke, D. Dawson ve T. Stearns'a ait "Methods in Yeast Genetics, A Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual, 2000 Edition" de, Cold Spring Harbor Laboratory Press (ISBN 0-87969-588-9) eserindeki kültür ortamlarına tahsis edilen ek A'da açıklandığı üzere YPD kültür ortamı kullanılabilmektedir.

- 20 Fermantörde ise geleneksel bir şekilde, maya suşunun metabolizması esas olarak solunumla gerçekleşecek şekilde ve/veya esas olarak etanol üretimi olmayacak şekilde kültür koşullarında gerçekleşmektedir.

- 25 "Esas olarak" terimi, koşulların toplam kültür süresi üzerinde doğrulandığını ancak bunun sadece zaman açısından gerçekleştirildiğini belirtmektedir; bu koşullar, yarı sürekli modda, örneğin kültür süresinin 1/4'ü ila 1/3'ü arasında bulunan bir süreye eşdeğer olan kültürün ilk saatleri boyunca ve özellikle de yarı sürekli modda bir kültürün ilk 5 saati boyunca doğrulanmamıştır.

- 30 "Suş mayasının metabolizması esas olarak solunuma dayanması" ifadesinden, toplam kültür süresinde karbonun oksitlendiği ve fermante edilmediği anlamına gelmektedir, karbonun bir kısmı geçişken şekilde fermante edilebilmektedir.

- 35 "Esas olarak etanol üretimi yoktur" ifadesi, kültür sonundaki etanol konsantrasyonunun %1'in altında, tercihen %0,1'in altında, daha tercihen %0,01'in altında, daha da tercihen %0,001'in

altında olduğu anlamına gelmektedir.

- 5 Teknikte uzman kişiler, kültür koşullarını, söz konusu suşun metabolizması esas olarak solunuma dayalı olacak ve/veya esas olarak etanol üretilmeyecek şekilde olmasını amaçlayarak belirli bir maya suşunun kültür parametrelerinin nasıl ayarlanacağı bilmektedir.

Buluşa göre maya suşu, aerobik koşulda kültür ortamı varlığında bulunmaktadır

- 10 Tercihen buluşa göre maya suşu, mayanın üretilmesine uygun bir fermantörde kültür ortamı varlığında bulunmaktadır Fermantör, birkaç milimetreden birkaç metre küpe kadar değişebilmektedir.

Fermantör aşağıda reaktör olarak adlandırılacaktır

- 15 Fermantör tercihen aerobik koşulda bir kültür için uyarlanmaktadır

Buluşa göre maya suşu tercihen, yarı sürekli ve/veya sürekli modda bir kültür kapsamında kültür ortamı varlığında bulunmaktadır

- 20 "Yarı sürekli modda kültür" veya "yarı sürekli kültür" veya "yarı sürekli mod" ifadeleri, aynı zamanda "fed-batch" olarak da adlandırılmaktadır ve burada, kültür ortamı tarafından aşamalı olarak beslenen bir fermantör içinde bir kültürü belirtmektedir ancak hiçbir ortam hacmi çekilmemektedir. Bu tür bir yöntemde kültür hacminin fermantör içinde değişkendir (artmaktadır). Yarı sürekli modda besleme debisi sabit veya değişkendir.

25

Yarı sürekli bir kültür örneği, Van Nostrand Reinhold, ISBN 0-442-31892-8 tarafından yayımlanan, "Yeast Technology", 2.baskı 1991, G. Reed ve T.W. Nagodawithana referans kitabında açıklanan koşullarda gerçekleştirilmektedir.

- 30 Kültür ortamı bileşen olarak, mayaların artışı için gerekli olan şeker karışımı ve diğer elemanları içermektedir.

- 35 Mayaların artışı için gerekli olan diğer elemanlar şu şekildedir: en az bir azot kaynağı, en az bir kükürt kaynağı, en az bir fosfor kaynağı, en az bir vitamin kaynağı ve/veya en az bir mineral kaynağı

Bu diğer elemanlar, mayaların artışıyla beraber bir faktör oluşturulmaması için yeterli miktarda tedarik edilmektedir.

- 5 Azot kaynağı örneğin amonyum sülfat, amonyum hidroksit, di-amonyum fosfat, amonyak üre ve/veya bunların birleşimi formunda tedarik edilmektedir.

Kükürt kaynağı örneğin amonyum sülfat, magnezyum sülfat, sülfürik asit ve/veya bunların birleşimi formunda tedarik edilmektedir.

10

Fosfor kaynağı örneğin fosforik asit, potasyum fosfat, di-amonyum fosfat, mono-amonyum fosfat ve/veya bunların birleşimi formunda tedarik edilmektedir.

- 15 Vitamin kaynağı örneğin melas, maya hidrolizatı saf vitamin çözeltisi veya saf vitamin karışımı ve/veya bunların bir birleşimi formunda tedarik edilmektedir.

Vitamin kaynağı referans eserlerinde de önerildiği üzere en azından eşdeğer miktarlarda vitaminlerin tümünü mayaya tedarik etmektedir. Birçok vitamin kaynağı birleştirilebilmektedir.

- 20 Mineral kaynağı örneğin melas, mineral tuzların karışımı ve/veya bunların birleşimi formunda tedarik edilmektedir.

- Mineral kaynağı referans eserlerinde de önerildiği üzere en azından eşdeğer miktarlarda minerallerin ve oligo-elementlerin tümünü mayaya tedarik etmektedir. Birçok mineral kaynağı birleştirilebilmektedir.
- 25

Aynı madde birçok farklı element tedarik edebilmektedir.

- 30 Fermantörde ekmek mayasının üretilme koşulları 10 Mart 2003 tarihli Techniques de l'Ingénieur, Référence J6013 eserinin "Production de levure de panification par biotechnologie" isimli bölümünde A. Loiez tarafından ayrıntılı olarak açıklanmaktadır.

- Buluşa göre melezlerin kültür ortamı I-4341 referanslı buş için de kullanılmaktadır burada US 4318991 veya US 4346115 numaralı patent dokümanlarında açıklanan tekniğe göre veya bu iki dokümanın birleştirilmiş öğretisine göre ek bir adaptasyon aşamasıyla ilişkili olarak
- 35

karşılaştırılmaktadır

Ekmek mayasının preparasyon yöntemi, aşağıdakiler oluşan aşamaların tümünden en azından ilk iki aşamayı içermektedir:

5

- yarım aerobik, daha sonra da aerobik koşullarda saf bir suşun çoğaltılması
- bu şekilde üretilen mayanın, %14 ila 25 oranında veya eğer maya kreması veya ozmotik ürünler ile karşılaştırılırsa daha fazla oranda kuru madde içeren sulu bir "maya kreması" oluşturulacak şekilde kültür ortamından santrifüj ile ayrılması

10

- bu şekilde elde edilen sulu maya kremasının tercihen vakumlu döner bir filtre üzerinde filtrelenmesi ve %26 ila 35 oranında kuru madde içeren dehidre edilmiş bir yaş mayanın üretilmesi,

- elde edilen söz konusu mayanın, eğer mayanın kuru olması amaçlanıyorsa ya yaş maya ekmeği formunda ya yaklaşık olarak %30 oranında kuru maddeye ufalanmış yaş maya formunda ya da partiküller, tercihen granüller formunda karşılaştırılması

15

- kalıptan çekme sonrasında elde edilen mayanın partiküllerinin örneğin akışkanlaştırma ile sıcak hava akımında düzenli bir şekilde kurutulması
- pazarlanmadan önce ambalajlanması

20

ÖRNEK 3: Adapte olmuş kontrol suşu ile buluşa göre adapte olmamış mayaların performanslarının karşılaştırılması

Örnek 3.1 Testlerin sunumu

25

3.1.1. Fermantometre testleri

Testler, "Journal of Institute of Brewing", vol. LXV, No. 1, Ocak-Şubat 1959'da açıklanan Burrows Harrison fermantometresi yardımıyla gerçekleştirilmektedir ve aşağıdaki şekilde tanımlanmaktadır

30

A5 testi

Bir maya ası aşağıdaki şekilde hazırlanmaktadır

35

1. test edilecek mayanın kuru maddesinden 200 mg,

2. 108g/L NaCl çözeltisi ve 16g/L (NH₄)₂SO₄ çözeltisinden 5 ml ve
3. Damıtılmış su ile 20 ml'lik bir hacimlendirme.

5 Yukarıdaki asıttan 15 ml (ya da mayanın kuru maddesinden 150 mg), 15 dakika boyunca 30°C'lik bir sıcaklıkta dengelenmektedir. Daha önceden 30°C'de bir gece boyunca dengelenmiş olan 20 g un ve 4 g sakaroz karışımı bu asıttan eklenmektedir. Karışım 35 saniyelik bir süre boyunca homojenize edilmektedir.

10 Oluşturulan hamur, 30°C'de yerleştirilmiş olan hermetik şekilde kapatılmış bir kap içinde inkübe edilmektedir. Gaz salınımı (760 mm Hg'nin altında olarak belirtilmektedir), toplamda 120 dakikalık bir süre (bu süre uyarlanabilmektedir) boyunca kaydedilmektedir.

A5' testi

15 Aşağıdaki farkla A5 ile aynı protokol yürütülmektedir:

1. 35 saniyelik karışım aşamasının hemen öncesinde, un+şeker karışımına yukarıda belirtilen %16 (kütle/hacim) oranında kalsiyum propionat (calpro) içeren bir karışım 500 µl eklenmektedir.

20

A5" testi

Aşağıdaki farkla A5 ile aynı protokol yürütülmektedir:

- 25
1. 35 saniyelik karışım aşamasının hemen öncesinde, un+şeker karışımına yukarıda belirtilen %16 (kütle/hacim) oranında kalsiyum propionat içeren bir karışım 1 ml eklenmektedir.

A6 testi

30

Aşağıdaki farkla PS4g ile aynı protokol yürütülmektedir:

- 35
1. Maya asıttı (200 mg yerine) 400 mg kuru madde ile hazırlanmaktadır ve bu, testte maya kuru maddesinden 300 mg'lık bir miktar kullanılması nedeniyle olmaktadır
 2. Un + şeker karışımı (20 g yerine) 25 g un ve (4 g yerine) 6,5 g sakarozdan

oluşmaktadır

A51 ve A51' testi (Kalsiyum propionat ile)

5 Yaş maya için

Bir maya asıtlı aşığıdaki şekilde hazırlanmaktadır

1. test edilecek mayanın kuru maddesinden 400 mg,
- 10 2. Yaş maya tarafından tedarik edilen su miktarı (tipik olarak sıkıştırılmış mayanın ağırlığının %70'i) hesaba katılarak 6,8 ml'lik bir toplam su hacmine ulaşılmasına için gerekli olan damlatılmış su hacmi ile karıştırma,
3. 22 dakika boyunca 30°C'de dengeleme ve
4. 73,6g/kg'lık NaCl çözeltisinden 4,5 ml eklenmesi ve homojenize edilmesi.

15

Yukarıdaki asıtlıya 20 g un ve 3 g sakarozun eklenmesi. Bunların tümü 35 saniyelik bir süre boyunca karıştırılmaktadır

- 20 Gaz salınımı (760 mm Hg'nin altında olarak belirtilmektedir), toplamda 120 dakikalık bir süre (bu süre uyarlanabilmektedir) boyunca kaydedilmektedir. Ölçüm protokolün başlamasından 36 dakika sonra başlatılmaktadır

25 Bu protokol, Kalsiyum propionat varlığını içeren bir değişkende bulunmaktadır. Bu durumda maya asıtlı preparasyonuna ait aşama 4'te, 73,6 g/kg'lık NaCl çözeltisi 17.4g/kg Kalsiyum propionat içermektedir.

Kuru maya için

- 30 Test edilecek mayanın kuru maddesinden 400 mg, 3 g sakaroz ve 20 g unun karıştırılmasına 12 dakika boyunca 30°C'de dengelenmesi.

73,6g/kg'lık NaCl çözeltisinden 4,5 ml ve 6,8 ml'lik damlatılmış suyun eklenmesi ve 35 saniye boyunca homojenize edilmesi.

- 35 Damlatılmış suyun katılmasından 36 dakika sonra birincisi ile aynı olan ikinci bir

homojenizasyonun gerçekleştirilmesi.

Gaz salınımı (760 mm Hg'nin altında olarak belirtilmektedir), toplamda 120 dakikalık bir süre (bu süre uyarlanabilmektedir) boyunca kaydedilmektedir. Ölçüm protokolün başlamasından 5 60 dakika sonra başlatılmaktadır.

A61 ve A61' testi (Kalsiyum propionat ile)

Yaş maya için

Bir maya ası aşağıdaki şekilde hazırlanmaktadır.

1. test edilecek mayanın kuru maddesinden 700 mg,
2. Yaş maya tarafından tedarik edilen su miktarı (tipik olarak sıkıştırılmış mayanın ağırlığının %70'i) hesaba katılarak 7,5 ml'lik bir toplam su hacmine ulaşılmasına için gerekli olan damlatılmış su hacmi ile karıştırma,
3. 22 dakika boyunca 30°C'de dengeleme ve
4. 73,6g/kg'lık NaCl çözeltisinden 5,75 ml'nin eklenmesi ve homojenize edilmesi.

Yukarıdaki asıya 25 g un ve 6,5 g sakarozun eklenmesi.

Bunların tümü 35 saniyelik bir süre boyunca karıştırılmaktadır.

Gaz salınımı (760 mm Hg'nin altında olarak belirtilmektedir), toplamda 120 dakikalık bir süre (bu süre uyarlanabilmektedir) boyunca kaydedilmektedir. Ölçüm protokolün başlamasından 25 36 dakika sonra başlatılmaktadır.

Bu protokol, Kalsiyum propionat varlığını içeren bir değişkende bulunmaktadır. Bu durumda maya asının preparasyonuna ait aşama 4'te, 73,6 g/kg'lık NaCl çözeltisi 17.4g/kg Kalsiyum propionat içermektedir.

Kuru maya için

Test edilecek mayanın kuru maddesinden 700 mg, 6,5g sakaroz ve 25g unun karıştırılmasına 35 12 dakika boyunca 30°C'de dengelenmesi.

73,6g/kg'lık NaCl çözeltisinden 5,75 ml ve 7,5 ml'lik damıtılmış suyun eklenmesi ve 35 saniye boyunca homojenize edilmesi.

- 5 Damıtılmış suyun katılmasından 36 dakika sonra birincisi ile aynı olan ikinci bir homojenizasyonun gerçekleştirilmesi.

Gaz salınımı (760 mm Hg'nin altında olarak belirtilmektedir), toplamda 120 dakikalık bir süre (bu süre uyarlanabilmektedir) boyunca kaydedilmektedir. Ölçüm protokolün başlamasından

10 60 dakika sonra başlatılmaktadır

3.1.2. Ekmek testleri, 4 tarif test edilmiştir:

- 15 - kütlece %15 oranında sakaroz (hamur yüzdesi) ve kütlece %0,4 oranında kalsiyum propionat (hamur yüzdesi) içeren tarif (PT1),
- kütlece %18 oranında sakaroz (hamur yüzdesi) ve kütlece %0,4 oranında kalsiyum propionat (hamur yüzdesi) içeren tarif (PT2),
- kütlece %23 oranında sakaroz (hamur yüzdesi) ve kütlece %0,4 oranında kalsiyum propionat (hamur yüzdesi) içeren tarif (PT3),
- 20 - kütlece %25 oranında sakaroz (hamur yüzdesi) ve kütlece %0,4 oranında kalsiyum propionat (hamur yüzdesi) içeren tarif (PT4).

Testler 1 ila 4'te, belirli bir ekmek yapma yönteminde ve belirli tariflerle, bir yandan değerlendirilecek olan suş ile elde edilen kuru maya ve diğer yandan kontrol suşu "T" ile elde edilen kuru maya arasındaki Proof Time farkı ölçülmektedir. Performans, test edilen suş ve kontrol suşu arasındaki farkın yüzdesiyle ölçülmektedir. Negatif bir fark, kontrol suşununkinden daha yüksek performansa tekabül etmektedir.

Testlerde kullanılan ve hamur yüzdeleri ile belirtilen tarifler aşağıdaki tabloda verilmiştir. Bu tablo aynı zamanda, kullanılan farklı protokollerin ayrıntılarında içermektedir.

	<i>No Time %15+</i>	<i>No Time %18+</i>	<i>Rotimani %23+</i>	<i>No Time %25+</i>
TEST	PT1	PT2	PT3	PT4
FORMÜLLER	Tarif 1	Tarif 2	Tarif 3	Tarif 4
Un	%100	%100	%100	%100

Su	%54	%52	%45	%50
Sakaro	%15	%18	%23	%25
Tuz	%1,7	%1	%1,5	%1,7
Kuru maya	%1,5	%1	%2,3	%2
Yağ	%7,5	%5	%10	%7,5
Gelişme	-	%0,5	%0,3	-
	%1	-	-	%1
Süt tozu	-	%4	%3	-
Yumurta	-	%6	%10	-
Calpro	%0,4	%0,4	%0,3	%0,4
SICAKLIKLAR	Tarif 1	Tarif 2	Tarif 3	Tarif 4
Loakl+Un+Su	64°C	70°C	70°C	64°C
Benmari yoğurucular	22,5°C	23,5°C	24,5°C	22,5°C
Hamur	27°C	28°C	29°C	27°C
DİYAGRAM	Tarif 1	Tarif 2	Tarif 3	Tarif 4
Yoğurma Mac Duffy	L5 R5 H4	L1 +MG1 L1 H4	L1 +MG1 L1 H5,5	L5 R5 H4
Kütle listesi	10 dk	15 dk	10 dk	10 dk
Bölünme	320 g	320 g	320 g	320 g
Yoğurma - Yumuşatma				
Yoğurma sonu - şekillendirme başlangıç süresi	25 dk	50 dk	25 dk	25 dk
Şekillendirme Şekillendirici US				
Kanıt Forma F100	35°C %90HRE	35°C %90HRE	35°C %90HRE	35°C %90HRE
Pişirme Reed F100	21 dk 190 °C	21 dk 190 °C	21 dk 190 °C	21 dk 190 °C

ÇALIŞTIRMA BİÇİMİ AYRINTISI

PT1 ila PT4 testlerinde yukarıdaki farklı tariflere uygulanan test protokolü aşağıdaki gibidir:

5

1. Çeşitli içeriklerin tartılması
2. Oda sıcaklığı ve un sıcaklığının ölçülmesi.
3. +/-0.5°C ile tarifler 1 ve 4 için 27°C, tarif 2 için 28°C ve tarif 3 için ise 29°C'lik bir hamur sıcaklığında edilecek şekilde su sıcaklığının ayarlanması
4. İçeriklerin bir Hobart A200® yoğurma makinesinin Mac Duffy® teknesine yerleştirilmesi; bunun çift mahfazası 22,5°C (tarifler 1 ve 4) veya 23,5°C (tarif 2) veya 24,5°C'lik (tarif 3) sıcaklıkta su ile önceden termostatla ayarlanmıştır
5. Kuru içeriklerin 1 dakika boyunca birinci hızla karıştırılması

10

6. Yoğurma diyagramı kullanılarak tarife bağlanması

- tarifler 1 ve 4:

- kuru ön karışımından sonra yağ katılmaktadır
- su eklenmektedir,
- birinci hızda 5 dakika boyunca karıştırılmaktadır (L5),
- 5 dakika boyunca dinlenmektedir (R5) ve
- ikinci hızda 4 dakika boyunca yoğrulmaktadır (H4),

- tarif 2:

- kuru ön karışımından sonra su eklenmektedir,
- birinci hızda 1 dakika boyunca karıştırılmaktadır (L1),
- yağın eklenmesi için 1 dakika dinlenmektedir (+MG1),
- birinci hızda 1 dakika boyunca karıştırılmaktadır (L1) ve
- ikinci hızda 4 dakika boyunca yoğrulmaktadır (H4),

- tarif 3:

- kuru ön karışımından sonra su eklenmektedir,
- birinci hızda 1 dakika boyunca karıştırılmaktadır (L1),
- yağın eklenmesi için 1 dakika dinlenmektedir (+MG1),
- birinci hızda 1 dakika boyunca karıştırılmaktadır (L1) ve
- ikinci hızda 5 dakika 30 saniye boyunca yoğrulmaktadır (H5.5),

7. Yoğurmanın sonunda elde edilen hamur sıcaklığının doğrulanması

8. 10 dakika (tarifler 1, 3 ve 4) veya 15 dakika (tarif 2) boyunca 23°C'de kütlenin belirlenmesi,

9. 320 g'lık bezelere bölme,

10. Gevşek yoğurma ve kapama,

11. 10 dakika (tarifler 1, 3 ve 4) veya 30 dakika (tarif 2) boyunca dinlenmeye bırakılması,

12. Hamurun şekillendirilmesi,

13. 320 g'lık bezelerin kalıplanması (boyutlar: 185x75 mm'lik kalıp tabanı, 200x90 mm'lik

kalıp yüksekliği, 75 mm'lik kalıp boyu),

14. Proof Time olarak adlandırılan kanıt süresinin, 35°C’de ve %90 oranında bağlanım ile Stéricult® inkübatörde belirlenmesi. Proof Time, inkübatör içindeki kalıpların yerleştirilmesi ve hamurun kalıp içinde 85 mm’lik bir yüksekliğe ulaştırılan arasında geçen süredir ve

5 15. 190°C’de 21 dakika boyunca REED® kalıplarında pişirme.

Örnek 3.2 Sonuçlar

Tablo 1: fermantometre testleri. Buluşa göre melez ve kaynak I-4341 arasındaki fark

Şişede üretilen biyokütle, yaş maya üzerinde değerlendirme				
Test	Adaptasyonsuz kaynak 1 I-4341	Adaptasyonsuz kaynak 2 I-4448	Adaptasyonsuz I-4312	Adaptasyonsuz I-4313
A5	122	120	137	132
A5’ Kazanç/ kaynaklar	92	98	114 17 & %24	115 18 & %24
7L fermantörde üretilen biyokütle, yaş maya üzerinde değerlendirme				
Test	Adaptasyonsuz I-4341	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4312	Adaptasyonsuz I-4313
A5	96	99	121	126
A5’	79	108	114	107
A61	139	179	209	225
A61’	88	105	121	131
20L fermantörde üretilen biyokütle, kuru maya üzerinde değerlendirme				
Test	Adaptasyonsuz I-4341	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4312	Adaptasyonsuz I-4313
A5	102	105	105	97
A5’	99	107	90	80
A51	159	214	173	209
A51’	124	160	107	134
A61	167	232	169	241
A61’	95	114	97	125

Tablo 2: buluşa göre No-Time Dough melezi ve I-4342 numarasında CNCM’de 8 Temmuz 2010’da depolanan adapte edilmemiş suştan elde edilen maya üzerinde gerçekleştirilen test

20L fermantörde üretilen biyokütle, kuru maya üzerinde değerlendirme		
Test	Adaptasyonsuz I-4342	Adaptasyonsuz I-4313
PT1	T	-%14
PT2	T	-%9
PT3	T	-%17

Tablo 3: Buluşa göre melez No-Time Dough’a karşı adapte edilmiş kontrol (=adapte I-4341)

20L fermantörde üretilen biyokütle, kuru maya üzerinde değerlendirme		
Test	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4313
PT2	T	%1
PT3	T	-%5
PT4	T	%3

Sonuç: buluşa göre adapte edilmemiş mayalar, adapte edilmiş bir kontrol mayasla kıyasla büyük ölçüde aynı hatta daha iyi bir şekilde davranış sergilemektedir; bu maya, başvuru sahibinin kendi koleksiyonunda bulunan ve I-4341 numarasında depolanmış olan ve zayıf asitlere karşı daha az duyarlı olan ticari bir suş olan daha iyi ozmotolerant suşlardan birisinin çoğaltılmasıyla üretilmektedir.

- 5 Bu sonuçlar çok şaşırtıcıdır, çünkü endüstriyel suşların melezleştirilmesiyle iki kaynağın önceden var olan avantajlarının artması özellikle de iki kaynağın gaz salınım değerlerinin %15 ila 25’ini geçer şekilde artması kesinlikle öngörülebilir bir şey değildir.

15 Mevcut buluş böylece, kalsiyum propionat gibi mantar inhibitörleri varlığında ve yüksek oranda şeker içeren ekmek hamurlarında verimli olan ve daha az maliyetli olan ekmek mayaları üretilmesine uygun melezler sağlamaktadır

ÖRNEK 4: I-4409 ve I-4410 mutantlarının preparasyonu

- 20 I-4341 suşu, mor ötesi ışıklara maruz bırakılarak mutajeneze tabi tutulmaktadır. Mutant popülasyonu, şişede üretimden sonra A5 ve A5’ testlerinde değerlendirilmektedir. I-4409 ve I-4410 suşları bu popülasyondan seçilmektedir.

ÖRNEK 5: Örnek 4’teki mutantlardan mayanın preparasyonu (örnek 2 ile aynı)

ÖRNEK 6: Bir kontrol mayas ile performanslar karşılaştırılması

Şişede üretilen biyokütle, yaş maya üzerinde değerlendirme

Test	Adaptasyonsuz I-4341	Adaptasyonsuz I-4409	Adaptasyonsuz I-4410
A5	121	117	126
A5" Kazanç/A5"teki I-4341 (%)	88	105 19	96 9

20L fermantörde üretilen biyokütle, kuru maya üzerinde değerlendirme

Test	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4409	Fark (%)
A5	101	101	0
A5'	104	100	-4
A51	104	114	10
A51'	136	159	17

5

Test	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4410	Fark (%)
A5	96	106	10
A5'	101	97	-4

Bu mayalardan elde edilen ekmek yapma sonuçları aşağıda verilmiştir (PT2 ve PT3 testleri)

Test	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4410	Adaptasyonlu I-4410
PT2	T	%2	-%11
PT3	T	%2	-%4

Test	Adaptasyonlu I-4341	Adaptasyonsuz I-4409
PT1	T	%3
PT2	T	%5
PT3	T	-%1

10