ČESKOSLOVENSKÁ SOCIALISTICKÁ REPUBLIKA
(19)

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

POPIS OBJEVU K DIPLOMU

33

Přihlášeno: 31 01 80 /PO 7-80/
Právo přednosti od 31 01 80
Zveřejněno: Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie (NDR, 20, 9, 579-581 (1980)
Kvasný průmysl 27, 6, 139 (1981)

Uděleno: 20 02 86

Vydáno: 15 06 86

MDT 663.11

Autoři objevu: RYBÁŘOVÁ JOHANNA ing. CSc., PRAHA
ŠTROS FRANTIŠEK ing. CSc., PRAHA
KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ ANNA RNDr. DrSc., BRATISLAVA

Název objevu: **Vlastnost nového druhu mikroorganismu nazvaného Candida ethanolica**

Předmět objevu:

Vlastnost nového druhu mikroorganismu rodu Candida, nazvaného autory Candida ethanolica, spočívající v tom, že vytváří pseudomycelium, netvoří spóry, nezkvašuje cukry, neprodukuje ureázu, neasimiluje dusičnan draselný, z cukrů asimiluje glukózu, maltózu, sacharózu, sorbózu, melizitózu a glucitol, maximální teplotu růstu má 43 °C, při růstu na pivovarské sladině tvoří sediment a prstenec a jeho nátěr na agaru a obrovská kolonie mají hladký povrch.

Pro popis a identifikaci kvasinek se obecně uznává metodika shrnutá v monografiích J. Lodderové a spol. (Yeasts, taxonomic study, North Holland Publ. Comp., Amsterdam 1970), J. A. Barnetta a R. J. Pankhursta (A new key to the yeasts, North Holland publ. Comp., Amsterdam 1974) a v ČSSR v knize A. Kockové-Kratochvílové (Katalóg kultúr kvasiniek, Veda, Bratislava 1977). Za charakteristické znaky rodu Candida Berkhout se považuje tvorba pseudomycelia až pravého mycelia a to, že nevytváří spóry. Při určování jednotlivých druhů Candida jsou důležitými diagnostickými znaky zkvašování cukrů, produkce ureázy a asimilace dusičnanů. Zatím je známo 11 druhů kvasinek rodu Candida, které nezkvašují žádné cukry, netvoří ureázu a neasimilují KNO_3. Jsou to:

Candida asseri, Candida blankii, Candida bogoriensis, Candida brumptii, Candida glaebosa, Candida lipolytica, Candida marina, Candida mesenterica, Candida rugosa, Candida silvae a Candida vini.

Podstatou objevu je vlastnost nového druhu mikroorganismu rodu Candida, nazvaného Candida ethanolica, který vytváří pseudomycelium, netvoří spóry, nezkvašuje žádné cukry, neprodukuje ureázu, neasimiluje dusičnan draselný, z cukrů asimiluje glukózu, maltózu,

sacharózu, sorbózu, melizitózu a glucitol, má maximální teplotu růstu 43 °C, při růstu v pivovarské sladině tvoří sediment a prstenec a jehož nátěr na agaru a obrovské kolonie mají hladký povrch.

Nová kvasinka byla vyizolována Kochovou zřeďovací metodou (Kocková-Kratochvílová A.: Praktikum technické mikrobiologie, str. 145, SNTL, Praha 1954) z provozní kultury používané při výrobě krmných kvasnic ze syntetického etanolu. Kultura mající původ ve sbírkovém kmeni Candida utilis CCY 29 28 64 byla několik let udržována v laboratoři ve formě kvasničné pasty, uchovávané v chladničce při +5 °C a pravidelně obnovované nesterilními jednorázovými přítokovými kultivacemi v syntetickém médiu s etanolem.

Obvyklé identifikační testy daly tyto výsledky: při růstu v pivovarské sladině po dobu 3 dnů při 28 °C byly bunky eliptické, protažené o rozměrech (3-6) x (7-20) µm, jednotlivé nebo v řetízcích. Tvořil se sediment a prstenec. Sklíčková kultura na cibulovém agaru je charakterizována okrajovým pseudomyceliem. Tvorba pseudomycelia je zjevná i na sladinovém agaru. Nátěr je hladký, lesklý s laločnatým okrajem. Tvorba spor nebyla zjištěna.

Test na ureázu byl negativní.

Teplotní rozmezí růstu	5 °C	- neroste
na sladinovém agaru:	28 °C	- roste 93,5 %
	42 °C	- roste 70 až 80 %

Zkvašování cukrů:	glukóza	-	sacharóza	-
	galaktóza	-	laktóza	-
	maltóza	-	rafinóza	-
Testy asimilace:	glukóza	+	D-arabitol	-
	galaktóza	-	ribitol	-
	maltóza	+	manitol	-
	sacharóza	+	erytritol	-
	laktóza	-	galaktitol	-
	melibióza	-	glucitol	+
	sorbóza	+	inozitol	-
	L-arabinóza	-	inulin	-
	fukóza	-	D-xylóza	-
	L-ramnóza	-	rozpustný škrob	-
	D-ribóza	-	KNO_3	-
	trehalóza	-	L-lysin	+
	celobióza	-	tryptofan	-
	melizitóza	+	etanol	+
	rafinóza	-		

Popsaný kmen se odlišuje od výše uvedených jedenácti druhů Candida species asimilací různých cukrů, případně morfologickými vlastnostmi a maximální teplotou růstu.

Candida glaebosa utilizuje celou molekulu rafinózy a Candida blankii utilizuje pouze 1/3 molekuly rafinózy. Candida marina a Candida blankii asimilují L-ramnózu. Candida easseri, Candida blankii a Candida glaebosa asimilují laktózu. Rozdílná asimilace cukrů u zbývajících sedmi Candida sp. je uvedena v následující tabulce 1. V tabulce 2 je přehled morfologických vlastností a maximální teplotě růstu uvedených Candida sp. a nového druhu Candida ethanolica.

T a b u l k a 1 : Asimilační testy

Cukr	Galaktóza	L-sorbóza	Sacharóza	Celobióza	Maltóza	Trehalóza	Melezitóza	D-xylóza	L-arabinóza	D-ribóza	Erytritol	D-ribitol	Glucitol
Species													
C. bogoriensis	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+/-	-	+	+
C. brumptii	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
C. lypolitica	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
C. mesenterica	-	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+/-	+
C. rugosa	+	+/-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
C. silvae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C. vini	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C. ethanolica	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+

Poznámka: + = cukr je asimilován, - = cukr není asimilován, +/- = cukr může být nebo není asimilován

T a b u l k a 2 : Charakteristika kultur

	Vzhled kultury			Maximální teplota °C ve
	v tekutém médiu	nátěr na agarovém povrchu	obrovská kolonie	
Species				
C. bogoriensis	Se, P	S	S	24 až 27
C. brumptii	Se, P, Bl	DH	DH	32 až 33
C. lopolytica	Bl	D	D	33 až 37
C. mesenterica	Bl	D	D	33 až 37
C. rugosa	Bl	D/H	D/H	37 až 43
C. silvae	Bl	DH/H	DH/H	35 až 38
C. vini	Bl	DH/H	DH/H	27 až 31
C. ethanolica	Se, P	H	H	42 až 43

Poznámka: Se = sediment, P = prstenec, Bl = blanka, S = sliznatý, D = drsný, H = hladký
DH = polodrsný, D/H = drsný nebo hladký, DH/H = polodrsný nebo hladký

Vzhledem k schopnosti dobře růst na etanolu jako jediném zdroji uhlíku byl nový druh kvasinek rodu Candida pojmenován Candida ethanolica. Je uložen ve sbírce kvasinek Komplexního výzkumného ústavu vinohradnického a vinařského (Research Institute for Viniculture and Enology, 886 15 Bratislava, Matúškova 25) pod číslem RIVE 22-16-2 a v Československé sbírce kvasinek při Chemickém ústavu SAV (Czechoslovac Collection of Yeast, Institut of Chemistry, Slovak Akademy of Sciences, 809 33 Bratislava, Dúbravská cesta pod číslem CCY 29-83-2). Uchovává se na sladinovém agaru pod parafinovým olejem.

Vedle dobrých růstových vlastností v médiu s etanolem má Candida ethanolica i výhodné složení biomasy, a proto může být v praxi využívána při výrobě kvasničných bílkovin ze syntetického lihu.

Při kontinuální kultivaci v čistě syntetickém médiu s etanolem, vedené na principu nutristatu v limitu kyslíku a při zřeďovací rychlosti 0,24 h^{-1}, byl dosažen výtěžnostní koeficient 0,76 $g.g^{-1}$. Biomasa usušená v rozprašovací sušárně obsahovala 97,3 % kvasničné sušiny, která měla toto složení:

popel %	7,4
tuk %	7,6
celkový N %	9,35
dusíkaté látky %	58,4
nukleové kyseliny %	9,6
čisté bílkoviny %	48,8
stravitelné bílkoviny in vitro	47,9
aminokyseliny celkem %	50,21
z toho lysin	4,66
histidin	1,18
arginin	2,90
k.asparágová	5,66
threonin	2,82
serin	2,82
k. glutamová	7,50
prolin	2,06
glycin	2,53
alanin	2,94
valin	2,82
methionin	0,88
isoleucin	2,94
leucin	3,95
tyrosin	2,11
fenylalanin	2,44

Zvláště příznivý je obsah nezastupitelných aminokyselin. Index esenciálních aminokyselin EAAI činí 78 a z něho vypočtená biologická hodnota podle Osera je 73/ Oser B. L. in Albanese A. A.: Protein and Aminoacid Nutrition. New York, Acad. Press. 1959/.

Severografia, n. p., MOST

Cena 2,40 Kčs