

# Biosyntéza riboflavínu

JOZEF VASÁTKO a VLADIMÍR HALASA

Riboflavín je v prírode hojne rozšírený. Vyskytuje sa v každej bunke rastlinnej i živočíšnej ako účinná skupina žltých dýchacích fermentov. Syntetizujú ho rastlinné bunky i mikroorganizmy a bromadia ho vo vakuolách, ktoré u niektorých druhov obsahujú väčšie množstvo riboflavínu.

Poznáme síce jeho rozšírenie i jeho fyziologickú funkciu v bunke, ale nepoznáme spôsob, akým v bunke vzniká. Zdá sa, že tvorba riboflavínu ide paralelne s fyziologickými štádiami rastu a vývoja rastliny, ako to dokázal Norman a Richardson (1), Norman (2), Seshan a Sen (3) pri dozrievaní ovsu. Aj čerstvá tráva obsahuje tým viac riboflavínu, čím je staršia (4). Karshan, Krasnov a Harrow (5) zisťujú u klíčiacej vjky a hrachu úbytok riboflavínu až do 27. dňa, kedy začína tvorba vitamínu v mladšej rastline. Podobne Kucera (6) našiel úbytok vitamínu u klíčiaceho jačmeňa a jeho znovutvorenie po 18 dňoch. Vlastná tvorba vitamínu v rastlinnej bunke začína teda len v neskoršom štádiu rastu, kedy sa jeho obsah náhle zvýši.

Početné huby produkujú riboflavín a sú jeho bohatým zdrojom. Sú to predovšetkým anaerobne rastúce baktérie mliečného a maselného kvasenia. Tak napr. *Bac. Delbrücki* obsahuje 115 mg a *Clostridium butyricum* 136 mg riboflavínu na kilogram sušiny. Kudrjašov (7) oznamuje, že *B. Delbrücki*, *Leuconostoc gayoni*, *Streptobacterium casei* a *B. lactis acidii* potrebujú k svojmu rastu prítomnosť riboflavínu v živnom médiu. To isté pozorovali Snell a Strong (8) u *Lactobacillus casei* a iných baktérií mliečného a maselného kvasenia. Zistili, že veľkosť rastu u nich je priamo úmerná koncentrácii riboflavínu a médiu kultúry a na základe tejto skúsenosti vypracovali jednu z najpresnejších metód na stanovenie riboflavínu. Z tohto faktu vyplýva, že značné množstvo riboflavínu u baktérií mliečného a maselného kvasenia nie je podmienené len biosyntézou, ale aj jeho nahromadením zo živého prostredia. Naproti tomu *Leuconostoc arabinosus*, *L. pentosus*, *L. mannitopocus*, *L. mesenteroideus*, *Streptococcus lactis* riboflavín syntetizujú a dobre rastú na bezflavínovom živnom médiu (9). K baktériám produkujúcim riboflavín patria aj baktérie črevné *E. coli*, *Prot. vulgaris*, *B. mesentericus*, *Alc. faecalis* a *B. vulgaris*, aerobné i anaerobné sporotvorné baktérie a mnohé iné (10, 11).

Taktiež mnohé druhy kvasiniek sú bohatým zdrojom vitamínu B<sub>2</sub>. Warburg a Christian (12) zisťovali množstvo riboflavínu v rôznych druhoch kvasníc. F. Schütz a H. Theorell (13), Yamagutchi a Usami (14) kvantitatívne stanovili jeho množstvo v niektorých druhoch kvasných baktérií. Swaminathan (15) zistil v pivovarskom droždí obsah riboflavínu 21—45 gama a v droždí melasových lie-

hovorov 55—85 gama na gram sušiny. Všetky druhy kvasiniek skvasujúcich laktózu rastú v médiu, ktoré neobsahuje flavínové farbivo, práve tak dobre, ako v jeho prítomnosti. Tento fakt naznačuje, že tieto kvasinky sú schopné syntetizovať riboflavín (16).

Živné prostredie má na tvorbu riboflavínu rozhodujúci vplyv. *Rubinstein* a *Shakun* (17) oznamujú, že vylúčenie niektorých iónov z bazálneho média zabráni tvorbe niektorých vo vode rozpustných vitamínov, o ktorých sa predpokladá, že sú termostabilnými komponentami komplexu B. Menením iónového zloženia výživného média môžeme tvorbu tohto faktoru podporiť alebo potlačiť.

Riboflavín produkujú aj mnohé plesne. *Lavoley* a *Laborey* opisujú produkciu tohto vitamínu plesňou *Aspergillus niger*. *Peltier* a *Borchers* (18) preskúšali 240 kultúr plesní *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Rhizopus* a *Trichoderma* na škrobovej zápare na produkciu vitamínu B<sub>2</sub>. Produkciu väčšiu ako 2 mg na 100 suchých buniek zistili u 45 kultúr. Niektoré kultúry rodu *Fusarium* a *Aspergillus* sú mimoriadne vhodné na syntézu riboflavínu. Najvyššie výťažky (5,8 mg) produkoval *Aspergillus aureus*.

Vo všetkých týchto prípadoch sa zisťoval riboflavín viazaný v bunke, odkiaľ za normálnych životných podmienok nie je schopný difundovať. Získava sa vo forme koncentrátov tak, že sa vykvasené médium zahusť a suší. Takto sa vyrába produkt, ktorý je mimoriadne dobrým doplnkom výživy hydiny melasovými výpalkami po výrobe ethylalkoholu. Jeho vitamínová hodnota je 7—10 mg riboflavínu na 1 kg sušiny (19).

Nová éra výskumu biosyntézy riboflavínu začína objavom, ktorý v r. 1938 uverejnili *Yamasaki* a *Yositome* (20). Zistili, že butanolacetonové baktérie za osobitných podmienok vedú syntetizovať v pomerne veľkom množstve riboflavín voľný, teda taký, ktorý nie je viazaný v bunke, ale sa vylučuje do prostredia. Tvorbu riboflavínu podarilo sa im zapríčiniť prídáním niektorých solí, ako sú  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{BaCO}_3$ , octan olovnatý a iné, ktoré pozmenia priebeh vlastného kvasenia tak, že schopnosť baktérií syntetizovať riboflavín sa zvýši asi 88 násobne. Prídavok týchto solí vyvoláva tvorbu riboflavínu, ale sníži tvorbu acetonu, lebo vlastné kvasenie sa preuší a prechodne vznikajúce kyseliny sú prídávanými soľami viazané. Ich redukcia preto nemôže prebehnúť. (*Šebek*, 21) Zdá sa, že syntéza riboflavínu je nezávislá na tvorbe acetonu, a že len tie baktérie zdedia túto schopnosť, ktoré rástly v prítomnosti prebytku  $\text{CaCO}_3$  (22). *Legg* a *Beesh* (23) zistili, že prítomnosť siričitnanového radikálu zvýši obsah riboflavínu pri tomto kvasení. *Yamasaki* (22) tiež prvý upozornil na inhibičný vplyv železa na tvorbu riboflavínu butanolacetonovými baktériami, ktoré je špecifickým jedom pre tento proces. V mikrobiologickej syntéze riboflavínu prítomnosť stôp železa spôsobuje prudké zníženie výťažkov, hoci malé množstvá majú stimulačný účinok na jeho syntézu.

Leviton (24) stanovil spodnú hranicu koncentrácie železa a zistil, že koncentrácia vyžadovaná pre optimum produkcie vitamínu je omnoho menšia, ako koncentrácia, ktorá platí pre optimálny vzrast buniek. Zdá sa totiž, že tvorba riboflavínu nezávisí na kvasení, ale prebieha paralelne s rastom. *Yamasaki* (22) vidí vplyv sníženia produkcie riboflavínu v zmenšenej možnosti dýchania baktérií. *Leviton* (24) vidí sníženie produkcie riboflavínu skôr v deštruktívnom vplyve železa na prítomnosti peroxylu vodíka. Zistil totiž, že riboflavín je veľmi citlivý na peroxyl vodíka ak je prítomné  $Fe^{2+}$ . V čistých roztokoch je peroxyl vodíka bez vplyvu, ale v rozmedzí koncentrácií 0,018—0,036 mg  $Fe^{2+}$  v litri nastáva prudké zvýšenie rýchlosti dekompozície riboflavínu. Keď sa použije na syntézu riboflavínu organizmus *Clostridium acetobutylicum*, jeho produkcia sa pri tejto koncentrácii drasticky sníži. Toto dáva tušiť, že mechanizmus deštruktívneho vplyvu železa na riboflavín je peroxylodový. *Leviton* (24) to dokazuje vyššími výťažkami riboflavínu za použitia katalázy, alebo hydrosulfitu sodného. Práca *Levitona* objasňuje takto použitie siričitanu *Leggom* a *Beeshom* (23). Roku 1940 *Mine* opísal spôsob produkcie riboflavínu baktériami butanolacetonového kvasenia bez použitia stabilizačných solí. Jeho práca dala vznik celému radu patentov, opisujúcich produkciu riboflavínu bez stabilizačných solí v médiu obsahujúcom ryžu, ktorá je podľa týchto zpráav rozhodujúca pre vznik riboflavínu. Technika tejto fermentácie, sa tak zdokonalila, že sa dosahuje výťažku 3 mg v g sušiny (25). *O. Šebek* (26) zistil, že butanolacetonové baktérie produkujú riboflavín bez prítomnosti stabilizačných solí i v prirodzenej škrobnej zápare, pričom sa vlastné kvasenie nepreruší a pomery a množstvo výsledných látok sú rovnaké.

Zvýšený dopyt po riboflavíne a jeho koncentrátoch ako vhodnom doplnku kuracej stravy, úsilie dosiahnuť vyššie výsledky a najmä citlivosť butanolacetonových baktérií k železu podnietila hľadanie mikroorganizmov iných, vhodných na tvorbu riboflavínu.

*Burkholder* (27, 28) používa droždie *Candida Guillermondia*, ktoré produkuje mnoho riboflavínu v špeciálnom médiu, do ktorého sa pridáva kyanid v určitom štádiu vývoja. Na nešťastie je táto fermentácia citlivá na inhibíciu železom, ktoré už v stopách prudko zredukuje produkciu riboflavínu, zatiaľ čo zvýši rast kvasiniek. U tejto fermentácie, práve tak ako u butanolacetonových baktérií, je koncentrácia železa potrebná pre maximálny vzrast omnoho vyššia, ako koncentrácia, ktorá platí pre optimum produkcie riboflavínu. Tento vzťah vitamínovej produkcie kvasinkami *Candida Guillermondia* ku železu opísal *Tanner*, *Vojnovich* a *van Lanen* (29). Zaujímavú zprávu podáva *Livshist* (30) o produkcii riboflavínu v syntetickom médiu divými kvasinkami *Sacharomyces logos*, *Torula utilis* a kvasinkami pivovarskými. Najaktívnejšie zdajú sa byť kvasinky pivovarské. Vzťah medzi rastom kva-

šniiek a syntézou riboflavínu, medzi rastom a obsahom dusíka však neudáva. *Brukholder* (31) opisuje syntézu riboflavínu kvasinami liehovarskými v syntetickom médiu, upravenom na určité pH. Je zaujímavé, že stopy KCN zvýšia výťažky vitamínu a snížia rast buniek, hoci u iných mikroorganizmov je produkcia vitamínu úmerná rastu.

V roku 1944 *Rudert* (32) patentoval proces na výrobu riboflavínu použitím huby *Eremothecium ashbyii*. Patent kryje složenie média a fyzikálne podmienky fermentácie potrebné k produkcii vitamínu. *Deseive* (33) zlepšila techniku tejto fermentácie a dosahuje výťažky až 50 mg v 100 cm<sup>3</sup> média a 250 mg vitamínu v 100 g mycelia. Živné prostredie obsahuje glukózu, alkohol a glycerín. Autori v opise tejto fermentácie sa žiaľbohu nezmiňujú o jej citlivosti k železu. Tento proces doplňuje cyklus vývoja výroby riboflavínu, ktorý začína odhalením vedľajších produktov fermentácie, ako cenného zdroja vitamínu B<sub>2</sub>, jeho produkciou s použitím osobitného média a organizmu, ako hlavného produktu fermentácie.

*Tento prehľad doteraz vykonaných prác o biosyntéze riboflavínu uvádzame ako predbežnú zprávu o ďalších výskumoch.*

#### Literatúra:

1. *Norman A. G. a Richardson H. L.*: Biochem. J., 31, 1556, 1937.
2. *Norman A. G.*: Biochem. J. 33, 1201, 1939.
3. *Seshan P. A. a Sen K. C.*: J. Agr. Cci., 32, 194, 1942.
4. *Hunt C. H. a Bethke R. M.*: Nutrition, 20, 175, 1940.
5. *M. Karshan, F. Krasnow a B. Harrow*: Proc. aex. biol. a Med. 1927, 24, 765.
6. *C. Kucera*: Compt. rendu. Soc. Biologie 100, 429, 1929.
7. *B. A. Kudrjašov*: Biologičeskíe osnovy učenia o vitaminach, Moskva 1948.
8. *Snell a F. M. Strong*: Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 11, 346, 1939.
9. *E. E. Snell a F. M. Strong*: Enzymologia, 6, 186, 1939.
10. *Schopfer W. H.*: Plants and vitamins, Chronica Botanica, Company U.S.A. 1943.
11. *E. J. Krauskopf, J. E. Strong a McCoy*: Enzymologia 7, 327, 1939.
12. *O. Warburg a W. Christian*, Bioch. Z. 277, 377, 1933.
13. *F. Schütz a H. Theorell*, Bioch. Z. 295, 246, 1938.
14. *S. Yamagutchi, S. Usami*, Cytologia 9, 419, 1939.
15. *Swaminathan M.*, Indian J. Med. Research 30, 403—7, 1942.
16. *Rogosa M.*, J. Bact. 45, 459, 1943.
17. *Rubinstein D. L. and Sherum L. A.*, Nature 157, 370, 1946.
18. *Peltier and Raymond Borchers*, J. Bact. 54, 519—20; 1947.
19. *F. M. Hilderbrandt*, Recent Progress in Industrial Fermentation.
20. *I. Yamasaki und W. Yosítome*, Biochemische Zeitschrift, 297, 398-411. 1938.
21. *Šebek O.* Chemie. 3, 18, 1947.
22. *I. Yamasaki*, Biochem. Zeitschrift 307, 431—441, 1941.
23. *Legg D. A., and Beesh, S.*, U. S. Patent 2, 370, 177 Advances in enzymology volume VII, 1947.
24. *Leviton, A.*, J. Am. Chem. Soc., 68, 835, 1946.

25. USS Pat. 2326425 (1944); Chem. Abst. 38, 617, 1944.
26. O. Šebek, Chemické listy, roč. 41, 238, 1947.
27. Burkholder, P. R., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 29, 166—172, 1943.
28. Burkholder, P. R. Arch. Biochem., 3, 121—129, 1943.
29. Tanner, F. W., Jr. Vojnovich, C., and van Lanen J. M. Science, 101, 180, 1945.
30. Livshits M. J. Proc. Sc. Inst. Vitamin Research U. S. S. 3, 1, 184, 1941, Chem. abstr. 42, 7327, 1947;
31. P. R. Burkholder, Proc. Natl. Acad. Sc. U. S., 29, 166, 72, 1943;
32. Rudert, F. J., U. S. Patent 2, 374, 503, Advances in Enzymology Volume VII, 1947.
33. Elizabeth Deseive, Milchwissenschaft 2, 141—9, 1947.

## O SPRÁVNE CHEMICKO-TECHNOLOGICKÉ NÁZVOSLOVIE

Miesto ťažko srozumiteľného názvu „Zákon množných pomerov váhových“ navrhujeme používať názov „Zákon o viacerých slučovacích pomeroch“, ktorý lepšie vyjadruje súvislosť so „Zákonom o stálych slučovacích pomeroch“.

Neušľachtilé kovy sa často nevhodne nazývajú kovy „obecné“. Za správnejší považujeme názov kovy *obyčajné*. Niektoré kovy začnú pri zahrievaní na dostatočne vysokú teplotu *žeravieť* (nevhodne: *žhnúť*). Pri *žihaní* sa *rozžeravia*. Vzhľadom na to, že slová *zažiháť*, *rozžiháť*, sa všeobecne používajú, považujeme za správny aj termín *žiháť*. Podobne sa môže používať aj termín *taviť*. Napr. platínový drôtič sa *zataví* (nesprávne: *zatopí*) do sklenenej rúrky.

Od slova *žeravý* treba rozlišovať slovo *žieravý* (rozožierať = vyleptávať povrch). Názvy, ako *žieravé lúhy*, kovy *žieravých* zemín, vyjadrujú teda vlastnosti týchto látok.

Miesto termínu *bobtnať* sa často niektorí autori usilujú vymyslieť vhodnejší názov. Tak vznikly názvy *napučiavať*, *pučať*, *puchnúť*, *nasiaknuť*. Ani jeden z týchto termínov nevysvetľuje pôvodný význam tohto úkazu, preto navrhujeme, aby sa termín *bobtnať* (menej vhodné: *botnať*) používal aj naďalej.

Zistili sme, že niektorí autori používajú najmä v knižnej literatúre nesprávnu terminológiu. Žiadame preto všetkých našich čitateľov, ktorí nesúhlasia s niektorými našimi návrhmi, aby svoje pozmeňovacie návrhy poslali redakcii Chemických zvestí na uverejnenie. Termíny, o ktorých sa nerozvinula nijaká diskusia, považujeme za záväzné, a budeme dôrazne žiadať, aby sa dôsledne používaly vo všetkých slovensky písaných publikáciách.

*Komisia pre ustálenie slovenského  
chemicko-technologického názvoslovia.*