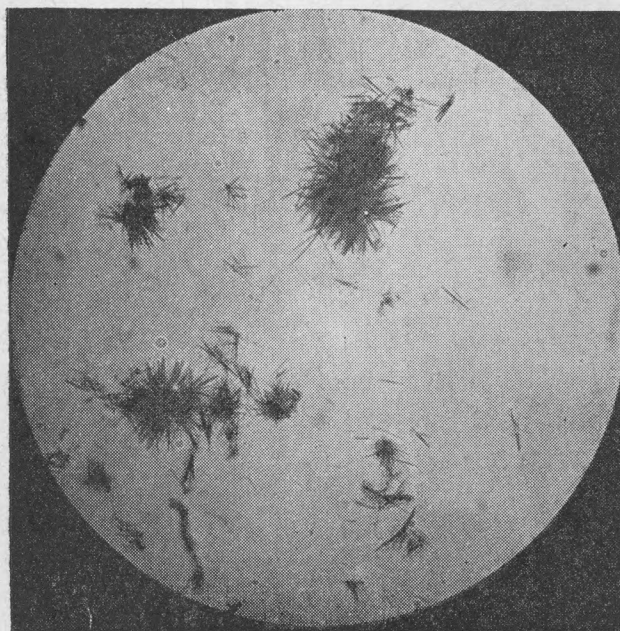


Г. С. КИТАВИН

**ПОЛУЧЕНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО РИБОФЛАВИНА ПРИ
ДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ РТУТИ НА *ASPERGILLUS NIGER***

(Представлено академиком А. Н. Бахом 16 IV 1940)

При изучении влияния ртутных солей на образование кислот у *Aspergillus niger* в нашей лаборатории было отмечено появление в этих условиях в жидкости желто-зеленой окраски. Как показали анализы (адсорбционным и люмифлавиновым методами), эта окраска принадлежит рибофлавиону (1).



Микрокристаллы рибофлавина (× 350).

эта окраска принадлежит рибофлавиону (1).

Pett (2) не смог обнаружить рибофлавин в культурах *Aspergillus niger*. На основании его данных Опфель (3) предполагал, что вообще для плесеней типа *Aspergillus* и *Penicillium* характерно отсутствие этого витамина. Однако условия культуры *Aspergillus niger* могут быть весьма различны. Так, например, при недостатке Mg Lavolay и Labourey (4) смогли обнаружить в культурах этого гриба такое обильное накопление рибофлавина, что оказалось возможным выделение его в кристаллической форме (5). Наши опыты по-

казали, что с помощью ртутных солей можно повысить в культурах *Aspergillus niger* содержание рибофлавина в 6—7 раз по сравнению с контролем.

Высокая концентрация рибофлавина и притом сразу в растворе позволила нам весьма простым способом выделить этот витамин в кристаллическом виде.

Метод выделения состоял в следующем. *Aspergillus niger* [штамм и метод культуры см. (1)] засевался на 10 л раствора, содержащего 20% сахарозы и минеральные соли. Раствор разливался в большие кристаллизаторы слоем в 2 см. После двух суток выращивания при 33—34° под пленки добавлялся 1%-ный раствор HgCl_2 с таким расчетом, чтобы концентрация HgCl_2 под пленками была равна 20 мг%. Культура оставлялась при той же температуре в термостате, и через 6 час. из пленки начинал диффундировать в жидкость желто-зеленый пигмент. Через 2 суток процесс накопления рибофлавина заканчивался, раствор из-под пленок фильтровался через ватный фильтр в полной темноте или при красном свете; в этих же условиях производились и все последующие операции.

Для адсорбции пигмента в жидкость приливалось 250 мл 40%-ного уксуснокислого свинца и пропускался H_2S до прекращения образования осадка PbS . После отстаивания бесцветная жидкость сливалась, осадок отсасывался на бухнеровской воронке и пятикратно промывался дистиллированной водой (по 200 мл при тщательном перемешивании).

Для элюирования пигмента осадок переносился в колбу Эрлеймейера и заливался 1 л кипящей воды. После 5-минутного кипячения элюат сливался через воронку Бухнера, и осадок вновь элюировался тем же количеством кипящей воды.

Элюат (2 л) сгущался в вакууме до 40 мл и оставлялся на ночь в чашке Петри в вакуум-эксикаторе. Выпавшие кристаллы имели под микроскопом форму желто-оранжевых тонких, длинных иголочек, собранных в правильные шаровидные друзы (фигура). После перекристаллизации из горячей воды кристаллы высушивались в вакуум-эксикаторе. Выход составил 16,4 мг.

Такой же кристаллический препарат мы получили и при адсорбции пигмента на гумбрине, пользуясь для элюирования кипящим 50%-ным водным спиртом. При этом необходимо освободить элюат от примесей, мешающих выпадению кристаллов, что осуществляется путем многократного высушивания и растворения элюата.

Из полученного порошка рибофлавина был приготовлен раствор, содержавший 2 мг в 1 л воды. Этот раствор по интенсивности флюоресценции в ультрафиолетовом свете не отличался от раствора рибофлавина той же концентрации, полученного через лабораторию биохимии ВИР. Также не отличались и их люмифлавиновые дериваты после проведения фотолиза в $N/2$ NaOH .

Кристаллы нашего рибофлавина хорошо растворимы в горячей воде и уксусной кислоте, не растворимы в эфире, хлороформе. Из водного раствора пигмент осаждается AgNO_3 в виде кирпично-красной соли, кристаллы которой растворяются в 50%-ной уксусной кислоте. При нагревании свыше 280° кристаллы чернеют. Перекристаллизация легко осуществляется из горячей воды, так как растворимость кристаллов при комнатной температуре не превышает 20—30 мг на 100 мл воды.

Лаборатория физиологии растений
Ленинградского государственного университета

Поступило
25 IV 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. С. Китавин, Биохимия, 4, 283 (1939). ² L. V. Pett, Biochem. Journ., 29, 937 (1935). ³ В. В. Оппель, Витамины и витаминизация (сборник под ред. проф. А. А. Шмидт) (1936). ⁴ J. Lavolay et F. Laborey, C. R., 204, 1686, 205, 179 (1937); 206, 1055 (1938). ⁵ J. Lavolay et F. Laborey, C. R., 208, 1056 (1939).