Vitamín K2

Vitamín K je esenciálny kofaktor pri posttranlačnej konverzii reziduí kyseliny glutámovej špecifickým proteínom v krvi a kostiach na gama-karboxyglutámovú kyselinu. Existujú dve formy vitamínu K, prvým je vitamín K1 a druhý vitamín K2. Vitamín K1 je tvorený v rastlinách, nazývaný aj fylochinón. Vitamín K2, nazývaný menachinón (MK), je primárne syntetizovaný baktériami. Má mnoho rôznych druhov, pretože každý z nich má na postrannom reťazci iné zakončenie. Existuje tak viacero isoprénov s označením MK-*n*. nazývajú sa homológmi a existujú napríklad MK-4, MK-5 alebo MK-6. Tieto homológy sa napr. ukázali ako najúčinnejšie pri hypoprotrombinanémii. Vitamín K2 je potrebný pri mineralizácii kostí, tzn. spevňuje kosti tým že z krvi vychytáva vápnik a ukladá ho do kostí. Je dôležitý najmä pre starších ľudí trpiacich osteoporózou, pre tehotné a dojčiace matky, ktorí vápnik potrebujú. *Bacillus subtilis* uznala aj Európska komisia pre bezpečnosť potravín za bezpečnú baktériu a jeho produkt menachinón (MK-7) za zdraviu prospešný, ktorý prispieva k udržiavaniu zdravých kostí. Na to aby ste tento produkt dostali do tela, je potrebné zaobstarať si buď tabletovanú formu vitamínu K2, ktorý stojí nemalé peniaze, alebo vyskúšať produkciu v domácnosti, tak ako to robia Japonci už tisíce rokov. Fermentujú sójové bôby s použitím *Bacillus subtilis var. natto* do konečnej podoby fermentovaného výrobku s názvom *natto*. Výroba *natto* nie je žiadna veda, robí sa to už tisíce rokov.

Nasledujúci obrázok popisuje výrobu natto vo forme schémy.

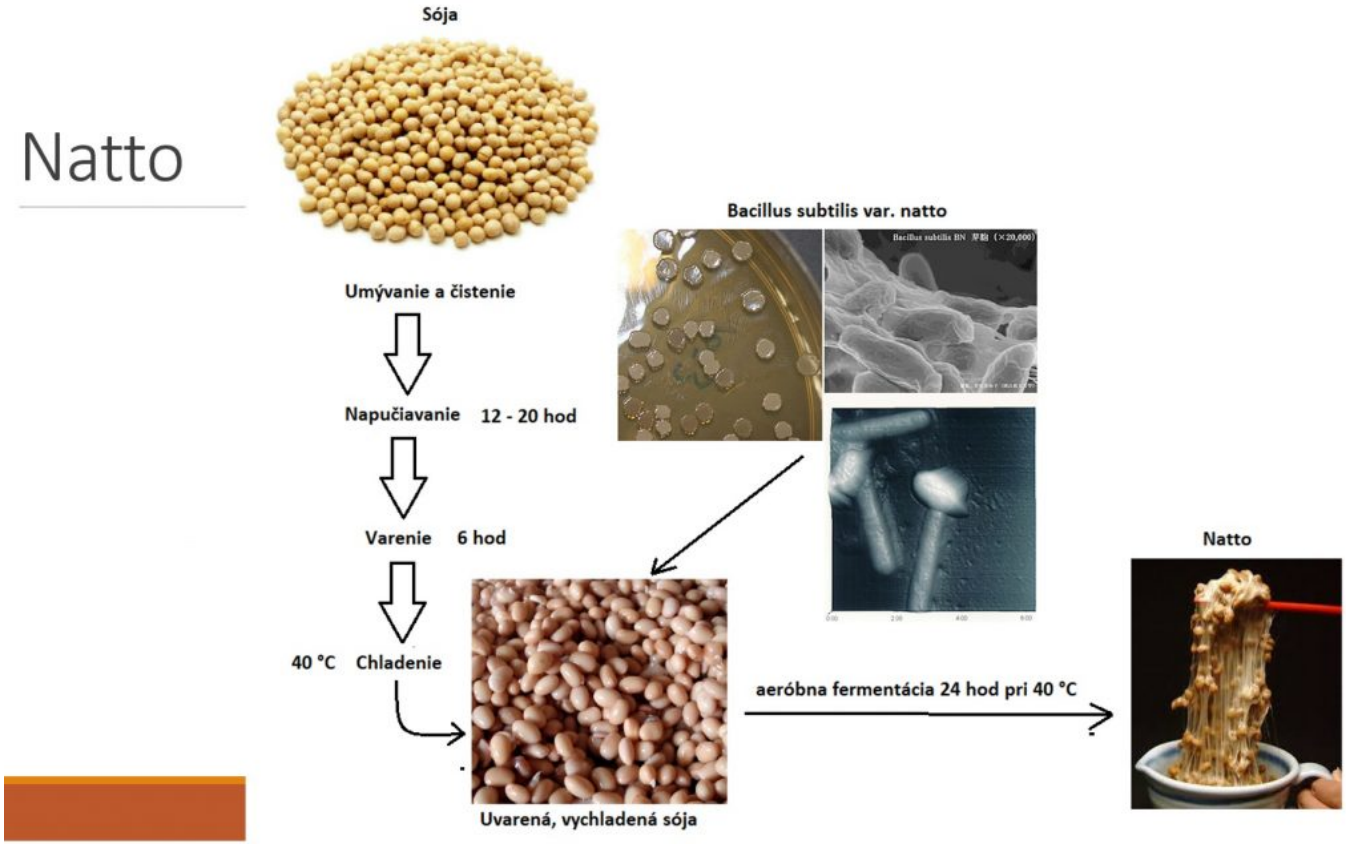
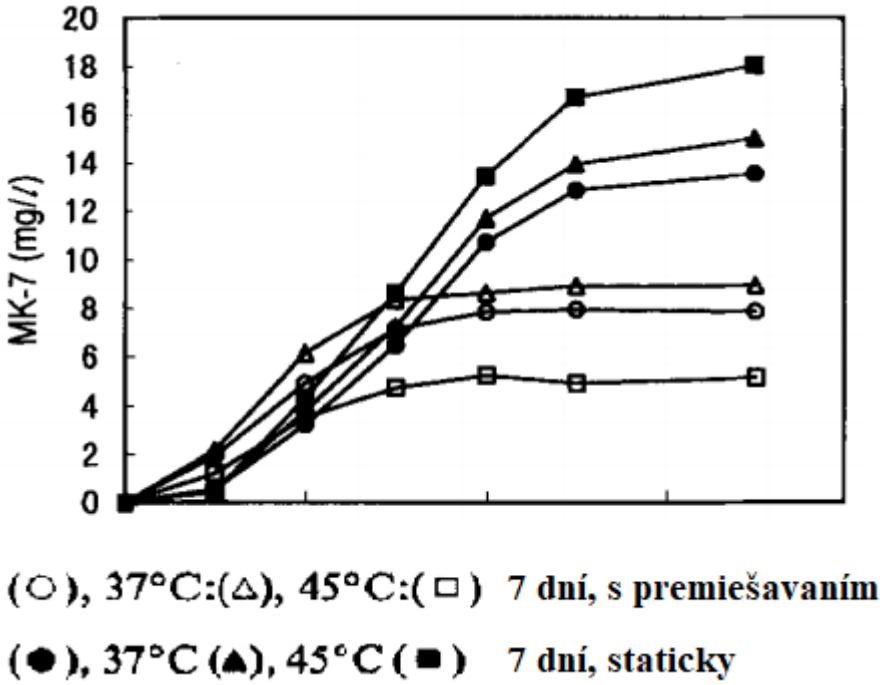


Schéma 1: Príprava *natto*. Hleba, 2017. Biotechnológie mikroorganizmov, predmet Katedry mikrobiológie, SPU Nitra

Postup prípravy *natto*:

1. pripraviť sójové zrná
2. dôkladne ich očistiť, opláchnuť vodou
3. nechať v nádobe s vodou napučiavať 12 – 20 hodín (obdoba fazule)
4. napučané sójové bôby variť po dobu 6 hodín
5. nechať ochladiť na 40°C
6. do vychladených bôbov pridať kultúru *Bacillus subtilis* var. *natto*
7. dôkladne premiešať, aby sa baktérie dostali na čo najväčšiu plochu
8. nechať fermentovať pri 40°C po dobu 24 hodín
9. po fermentácii je produkt hotový

Vo vedeckej literatúre sa uvádza, že pri zvyšovaní teploty, stúpa aj produkcia vitamínu K2. Nielen teplota má však pozitívny vplyv na zvyšovanie produkcie tohto vitamínu. Zistilo sa, že najoptimálnejšie pH pre produkciu vitamínu K2 je pH 7,3. Priaznivo na produkciu vplýva aj 10 % sójový extrakt, 5 % glycerolu, 0,5 % kvasničného extraktu a 0,05 % K2HPO4. V nasledujúcich grafoch a tabuľkách si popíšeme niektoré zlepšenia alebo naopak zhoršenia pri produkcii vitamínu K2.



Graf 1. Vplyv teploty na produkciu vitamínu K2 (MK-7) (Sato *et al*., 2001)

Z grafu 1 je vidieť, že najvhodnejšou voľbou by bola kultivácia *Bacillus subtilis* po dobu 7 dní pri teplote 45 °C pri statickej kultivácii bez premiešavania. To však nie je možné, pretože by došlo k rozloženiu sójových bôbov a k ich degradácii. Je treba sa uspokojiť s nižším množstvo vitamínu K2. Tento experiment bol navrhnutý pre účely industriálnej produkcie za účelom čo najväčšej produkcie vitamínu K2.

Tabuľka 1. Vplyv teploty na produkciu vitamínu K2 pri statickej kultivácii- presné číselné vyjadrenie (Sato *et al*., 2001)

(°C)	OD_{660}[a]	MK-7 (mg/*l*)	MK-7/OD_{660}
30	12.1	14.2	1.17
37	12.4	16.3	1.32
42	12.1	17.4	1.44
45	12.0	20.6	1.65
48	11.8	15.2	1.27

Ako je možné si všimnúť z tabuľky 1, najväčšiu produkciu dosiahol *B. subtilis* pri teplote 45°C, kde produkcia MK-7 dosiahla za 7 dní 20,6 mg na liter média.

Autori sa venovali aj zloženiu jednotlivých zastúpení rôznych variácií vitamímu K2, ktorý produkuje *Bacillus subtilis*.

Tabuľka 2. Zloženie MK v *natto* produkovaného pomocou *Bacillus subtilis* (Sato *et al.*, 2001)

Strain	Composition (%)					Total amount of MK (mg/*l*)
	MK-4	MK-5	MK-6	MK-7	MK-8	
A	1.0	1.1	4.5	92.4	1.0	11.4
B	1.3	1.2	4.8	92.1	0.6	16.8
C	0.6	1.0	3.9	93.6	0.9	15.9
D	1.6	1.5	5.5	90.9	0.5	18.5
MH-1 (parent)	1.5	1.5	4.1	92.2	0.7	19.2
Mutant D200-41	0.1	0.2	0.6	96.9	2.2	19.6
Mutant D200-43	0.0	0.1	0.4	96.5	3.0	15.3

Z tabuľky 2 je vidieť, že najzastúpenejším variantom MK, je práve MK-7, ktorý má najväčšiu príbuznosť s vitamínom K2. U všetkých kmeňov *B. subtilis* to činilo vyše 90%.

Záver

Ako je vidieť, je veľmi jednoduché dostať sa k vitamínu K2, ktorý je vo výžive človeka nepostrádateľný, hlavne vo vyššom veku a pri tehotných alebo dojčiacich matkách. Samozrejme ani najzdravší jedinci nie sú výnimkou. Fermentačné technológie, ktoré sú s nami už tisíce rokov, nám dokážu priniesť to, čo sa dnes bežne kupuje. V samej podstate sme už zabudli na schopnosti našich predkov a často krát sa spoliehame na to, čo nájdeme v regáloch obchodu. Pritom, je cesta k zdravej potravine veľmi jednoduchá a dokážeme si ju vyrobiť doma aj sami. Jediným menším problémom by mohol byť samotný *Bacillus subtilis* var *natto*. Táto baktéria je však dostupná v špecializovaných obchodoch s názvom, štartovacie kultúry natto, alebo *Bacillus subtilis* var *natto*. Okrem produkcie vitamínu K2, baktérie produkujú proteolytické enzýmy, ktoré rozkladajú vysokomolekulárne proteíny na nízko-molekulárne, rovnako tak rozkladajú škrob pomocou amyláz, a robia z nestráviteľných, alebo ťažko stráviteľných sójových bôbov ľahko-stráviteľnú a energetickú potravinu.

Literatúra:

Sato, T., Yamada, Y., Ohtani, Y., Mitsui, N., Murasawa, H., & Araki, S. (2001). Production of menaquinone (vitamin K2)-7 by Bacillus subtilis. *Journal of bioscience and bioengineering*, *91*(1), 16-20.

Shearer, M. J. (1990). VITAMIN K AND VITAMIN K-DEPENDENT PROTEINS. *British journal of haematology*, *75*(2), 156-162.

Akiyama, Y., Hara, K., Matsumoto, A., Takahashi, S., & Tajima, T. (1995). Comparison of intestinal absorption of vitamin K2 (menaquinone) homologues and their effects on blood coagulation in rats with hypoprothrombinaemia. *Biochemical pharmacology*, *49*(12), 1801-1807.