

ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ СТАДІЇ БІОСИНТЕЗУ В ТЕХНОЛОГІЇ ВІТАМІНУ В₁₂ НА ОСНОВІ БАКТЕРІЙ РОДУ *PROPIONIBACTERIUM*

Кривчук К.Т.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, krivchuk.kateryna@iik.kpi.ua

Вітамін В₁₂ або кобаламін був вперше виділений з печінки у 1948 р., а у 1973 р. синтезований у лабораторних умовах. Вітамін В₁₂ є складною молекулою, що складається з тетрапіролового кільця з атомом кобальту в центрі. Ціанокобаламін (α -(5,6-диметилбензімідазоліл)-кобамідціанід) – комерційна форма кобаламінів – найбільш широко використовується в медичній практиці як лікарський препарат, оскільки разом з гідроксикобаламіном (оксикобаламін) характеризується стабільністю при зберіганні та високою біологічною активністю. Як і багато інших вітамінів, він не синтезується в організмі тварин і людини. Єдиний шлях його отримання – аліментарний з харчовими продуктами тваринного походження або у вигляді вітамінного препарату.

Відомо, що для біосинтезу вітаміну В₁₂ у промисловому масштабі використовують прокаріотичні організми різних таксономічних груп, але частіше всього *p. Propionibacterium*, який є безпечним та входить до групи пробіотичних бактерій. В даній роботі надається інформація про можливі шляхи вдосконалення стадії біосинтезу в технології вітаміну В₁₂ при використанні як продуцента бактерій роду *Propionibacterium*.

У виробництві вітаміну В₁₂ культивування факультативно анаеробних бактерій роду *Propionibacterium* передбачає дві стадії – анаеробну (I) та аеробну (II). Синтез вітаміну В₁₂ відбувається на другій стадії та залежить від складу поживного середовища та умов культивування – рН, температури, часу вирощування та режиму аерації. Основним поживним середовищем для культивування пропіонових бактерій є глюкозомінеральне середовище, що містить іони кобальту, які використовуються як попередники при синтезі кобаламіну. Є дані про вплив різних концентрацій іонів кобальту на ріст біомаси та біосинтез вітаміну. Повідомляється, що концентрація іонів кобальту 1,5 мкг/л є оптимальною і дозволяє на третю добу культивування підвищити темпи нарощування біомаси у 1,7 раза у порівнянні з безкобальтовим середовищем та збільшити накопичення вітаміну В₁₂ до 386,5 мкг/л.

Завданням будь-якої технології, заснованої на мікробному синтезі, є пошук ефективних альтернативних субстратів. Є інформація про використання у виробництві вітаміну В₁₂ недорогих альтернатив традиційному поживному середовищу – рідкого кислотного залишку білка сої (LAPRS - liquid acid protein residue of soybean), яке не містить елементів тваринного походження та його гідролізату, отриманого на основі протеолітичної обробки LAPRS алкалазою. Виявилось, що оптимальним для *P. freudenreichii* є середовище на основі гідролізату LAPRS з додаванням 250 мг/л хлориду кобальту та 1200 мг/л цистеїну, яке забезпечувало ефективне продукування вітаміну. Ці результати

свідчать про можливість біосинтезу вітаміну В₁₂ на дешевому середовищі, що робить виробництво більш рентабельним.

Обговорюється питання режиму аерації культури на стадії біосинтезу цільового продукту. Хоча висока швидкість аерації може пригнічувати ріст пропіонових бактерій, показано, що в низьких концентраціях постачання киснем культури бактерій може збільшити вихід біомаси. Однак подача кисню має більш виражений вплив на біомасу, ніж на вихід вітаміну.

Відомо, що ультразвук широко використовується у біотехнологічних виробництвах для дезінтеграції бактерій. Але він може бути застосований і для озвучування живильного середовища для інтенсифікації метаболізму продуцента. Є інформація про спрямовану зміну метаболізму в клітинах бактерій при обробці рідких середовищ ультразвуком у період зростання культури. Є підстава вважати, що під дією ультразвуку прискорюються реакції механохімічного походження, що мають місце в озвучуваному середовищі, а також ініціюються специфічні сонохімічні реакції, в основі яких лежить механізм розриву хімічних зв'язків та утворення вільних радикалів.

Так, у роботі Шершенкова та співавт. вирощування *P. freudenreichii ssp. shermanii I-63* у субстраті на основі відновленої молочної сироватки з лактозою та добавками солей піддавалося короткочасній обробці ультразвуком низької інтенсивності та різної частоти раз на добу. Це викликало не тільки прискорення процесів бродіння, але й збільшення активності бактерій. Таким чином, ультразвукова обробка забезпечувала спрямовану модуляцію метаболічної активності бактерій та призводила до збільшення кінцевого виходу вітаміну В₁₂ без підвищення тривалості виробничого процесу.

Таким чином, шляхом зміни концентрації іонів кобальту в середовищі, підбором поживного середовища та ступеня аерації, а також ультразвуковою модуляцією метаболізму продуцентів можна значно інтенсифікувати та здешевити технологію промислового одержання вітаміну В₁₂.

Список використаної літератури:

1. Патент SU 1737915. Штамм бактерій *Propionibacterium shermanii* продуцент вітаміна В₁₂ / А. Ирадян и соавт. АК ОС. — Заяв. 27.03.2005; Опубл. 20.02.2006; БИ: 05/2006
2. Каменская Ю. В. Влияние солей кобальта на биосинтез витамина В₁₂ пропионовокислыми бактериями // Наука, техника и образование. 2019. №6 (59).
3. Assis DA, Matte C, Aschidamini B, Rodrigues E, Záchia Ayub MA. Biosynthesis of vitamin В₁₂ by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* ATCC 13673 using liquid acid protein residue of soybean as culture medium. *Biotechnol Prog. American Institute of Chemical Engineers* (2020). Sep;36(5): e3011.
4. Акопян Б.В., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Учеб. пособие / Под ред. С. И. Щукина. —Изд-во МГТУ, 2005. — 224 с.
5. Шершенков Б.С. и др. Ультразвуковая модуляция метаболической активности *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* при получении пищевых продуктов, обогащённых витамином В₁₂ / Б.С. Шершенков, Е.П. Сучкова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», 2013. — №4.