

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУЦЕНТІВ ЦІАНОКОБАЛАМІНУ

Мельник О.П.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, melnyk.olga0406@gmail.com

Ціанокобаламін відіграє важливу роль в метаболізмі людей та тварин. Відомо, що він бере участь у поділі клітин та процесі кровотворення, регулює жировий і амінокислотний обмін, здійснює мієлінізацію нервових волокон, відіграє ключову роль у біосинтезі нуклеїнових кислот, виконує геностабілізуючу функцію та знижує ризик генетичних відхилень у процесі пренатального розвитку організму.

Ціанокобаламін широко використовується не тільки в медицині як лікарський засіб, але й у виробництві кормових добавок для сільськогосподарських тварин та птахів.

Виробництво ціанкобаламіну здійснюють виключно мікробіологічним шляхом, оскільки, у порівнянні з хімічним синтезом, він є простішим та економічно вигіднішим. Щорічно світове виробництво вітаміну В₁₂ становить понад 10 тис. кг на рік, з яких близько 65% використовуються в медицині, решта – у сільському господарстві.

У природі до синтезу колабамінів здатні багато груп мікроорганізмів, що належать до родів: *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Methanobacterium*, *Propionobacteriu*, *Streptomyces* і *Nocardia*, *Rhizobium*, *Protaminobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Spirulina*, *Acenetobacteriu*, *Methanosarcina* та інші. Але, як продуценти ціанокобаламіну, найчастіше використовують бактерії родів: *Propionibacterium* (СНД, Великобританія, Угорщина, Японія, США), *Methanobacteria* (Угорщина, США), *Streptomyces* та споріднені форми (Італія). Є повідомлення про використання в промисловому масштабі мікроорганізмів родів *Rhizobium* (США) і *Acenetobacterium* (Японія).

У виробництві ціанокобаламіну медичного призначення зазвичай використовуються безпечні бактерії, що входять до GRAS групи ("GC"-загальноновизнані як безпечні). Серед продуцентів ціанокобаламіну найвищий рівень "GC" мають пропіонові бактерії, які за визначником Берджі відносяться до II – категорії грампозитивних мікроорганізмів та включені до групи факультативних анаеробних нерухомих бактерій. Біосинтетична активність мікроорганізмів даної групи визначається їх видовою та штамовою належністю. Так культура *Propionibacterium freudenreichii*, яка використовує як джерело вуглецю тростинну мелясу, має вихід ціанокобаламіну до 14 мг/л; *Propionibacterium khermanii* і *Propionibacterium vanniellii*, при використанні глюкози як джерела енергії, мають вихід 25 мг/л і 23-40 мг/л відповідно. Продуктивність до 40 мг/л має культура *Propionibacterium freudenreichii* var. *shermanii* В-4891. Штам *Propionibacterium shermanii* М-82, який отримано шляхом ступінчастої селекції, має підвищену здатність до накопичення ціанокобаламіну до 58 мг/л та дозволяє наряду з сумішшю оксикобаламінів та ціанкобаламінів отримувати й коферментну легкозасвоювану форму, що має значний терапевтичний ефект. Є повідомлення про культуру *freudenreichii*, яка

володіє високою толерантністю до пропіонової кислоти та здатна накопичувати в культуральній рідині до 60–70 мг/л ціанокобаламіну.

Для медичного призначення ціанокобаламін отримують у хімічно чистому вигляді. Технологія, що заснована на використанні як продуценту пропіонових бактерій передбачає 2 стадії ферментації – анаеробну та анаеробну. В анаеробній стадії відбувається інтенсивне накопичення біомаси та утворення до 80% попередника ціанокобаламіну. Переведення попередників у біологічно активну форму В₁₂ здійснюється на етапі аеробного культивування. Весь процес ферментації займає більш ніж 90 годин.

У медичній та ветеринарній практиці вітамін В₁₂ використовується у таблетованій формі та у формі розчину для ін'єкцій. Для сільськогосподарських тварин вітамін В₁₂ використовується для повноцінного росту та розвитку тварин і птахів в структурі мінерально - вітамінних концентратів.

Перспективним продуцентом вітаміну В₁₂ сільськогосподарського призначення може стати штам *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д, який дозволяє до кінця ферментації отримати в культуральній рідині цільового продукту до 120 – 150 мг/л. Особливістю штаму є його здатність накопичувати ціанокобаламін у процесі всього періоду зростання культури. Вітамін, що може бути отримано на основі штаму *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д може використовуватись в складі преміксів і як самостійна кормова домішка для збагачення раціонів сільськогосподарських тварин. Ферментація *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д здійснюється при температурі 28 – 32⁰С, рН – 7.0 та при постійній подачі стерильного повітря (0,2 – 0,5 л/л середовища). Тривалість культивування становить до 60 годин. Для знешкодження культури наприкінці ферментації здійснюється лізис культури.

Незважаючи на велику кількість депонованих штамів-продуцентів ціанокобаламіну, у світовій науці продовжуються дослідження, що спрямовані на пошук продуктивних штамів, у тому числі й тих, що можуть бути одержані на основі сучасних генно-інженерних технологій.

Список використаної літератури:

1. Patent US 6492141 Process for the production of vitamin b12 / Jan Hendik Hunik (Rodenrijs) – № 09/868,607; Filed: Sep 28, 2001 Date of Patent: Dec10, 2002
2. Patent US 5545538A Method of producing vitamin B12 using rhizobium cobalaminogenum ferm ВР-4429 Filed: Oct. 5, 1994 Date of Patent: Oct. 6, 1993
3. Patent RU2180001C2 Strain of bacterium Pseudomonas fluorescence VKM V-2224D AS Producer of vitamin B12. Field: microbiological industry, vitamins production
4. Kolhouse et al. (N. Engl. J. Med. 1982, 307, pp. 255-256), европейская патентная заявка EP 0595006 и международная патентная заявка WO 9517157. [0007]
5. Martens, .JH., Barg, .H., Warren, .M. et al. Microbial production of vitamin B12. Appl Microbiol Biotechnol 58, 275–285 (2002).
6. Марченко М. В., Подволоцкая А. Б., Фищенко Е.С. Изучение возможности использования «диких» штаммов бактерий как возможных продуцентов витамина В12 (кобаламина) // Достижения науки и техники АПК. 2020 .Т.34. №7.С.109-113.
7. Patent WO 2004063360A9 Improved method for the production of vitamin b12 № 014102 Filed: Dec.12, 2003; Date of Patent: Jul. 29, 2004.