

Дніпродзержинський державний технічний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СВІТЛА НА ЗДАТНІСТЬ ПРОПІОНОВОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ СИНТЕЗУВАТИ ВІТАМІН В₁₂

Вступ. За даними медичних досліджень, більшість людей страждають від нестачі вітамінів групи В. При цьому, багато відчувають дефіцит в організмі вітаміну В₁₂, який вчені називають найпотужнішим джерелом енергії. Вітамін В₁₂ приймає участь в обміні білків, жирів і вуглеводів. Організм використовує даний вітамін на підтримання здоров'я нервової системи. Крім того, ця речовина використовується для поновлення запасів заліза, якого нерідко не вистачає, а також для забезпечення синтезу тканин і клітинних ядер, що містять спадкову інформацію. Однією із найважливіших функцій вітаміну В₁₂ є те, що він бере участь у виробництві амінокислоти – метіоніну, яка в відповідь за такі емоції, як любов, доброта, радість [1].

Вітамін В₁₂ (кобаламін) є водорозчинним вітаміном, який приймає участь в процесі кровотворення в кістковому мозку, а також у засвоєнні організмом амінокислот. Він стимулює ріст клітин як епітеліальних, так і клітин органів, приймає участь у ліпідному обміні в печінці, а також впливає на центральну нервову систему. Крім цього, вітамін В₁₂ необхідний при синтезі червоних кров'яних тілець і протеїну. При дефіциті вітаміну В₁₂ відзначається легка анемія, яка виникає через неправильне утворення клітин крові, зокрема, еритроцитів. Симптомами цього можуть бути печіння і поколювання язика, надмірна дратівливість і апатія. Можуть виникнути слабкість, швидка стомлюваність, легке запаморочення, тупий біль у тілі, головний біль, втрата апетиту, часте серцебиття, почуття мурашок і оніміння на шкірі. Дефіцит кобаламіну в організмі – це досить небезпечне явище. При гострій нестачі вітаміну В₁₂ у людини можуть розвинути багато захворювань, наприклад, важкі порушення психіки, такі як розсіяний склероз, який може призвести до паралічу і навіть до смерті. При цьому захворюванні захисний шар нервових клітин поступово руйнується. Завдяки вітаміну В₁₂ ростуть кістки і, якщо його вистачає, то жінки, навіть під час клімаксу, не втрачають кісткову масу і не страждають від такої недуги як остеопороз. Кобальт регулює процес утворення в організмі еритроцитів, регулює жировий і, особливо, енергетичний обмін [2].

Вітамін синтезують багато видів бактерій. Дріжджі і міцеліальні гриби не утворюють кориноїди. В організмі людини і тварин вітамін В₁₂ синтезується виключно бактеріальною мікрофлорою кишечника. Відомо про здатність пропіоновокіселих бактерій синтезувати кобаламін із найбільшим виходом. Тому в даний час для отримання вітаміну В₁₂ використовують такі мікроорганізми як *Propionibacterium freudenreichii* ATCC 6207, *Propionibacterium shermanii* ATCC 13673, *Propionibacterium shermanii* ВКМ-103 та їх варіанти і мутанти [3].

Відомо про здатність деяких мікроорганізмів до більш активного росту та розмноження при світлі. Тому одним із способів підвищення здатності пропіоновокіселих бактерій синтезувати кобаламін є ведення процесу культивування при змінених умовах [4].

Постановка задачі. Метою даної роботи є дослідження умов ведення процесу культивування *Propionibacterium freudenreichii* у складі консорціуму мікроорганізмів, а саме дослідження впливу світлового фактору на здатність мікроорганізмів продукувати вітамін В₁₂, надати рекомендації щодо умов ведення процесу культивування.

Об'єкт дослідження – кисломолочні закваски двох видів, що використовуються на виробництві.

Результати роботи. Для реалізації поставленої мети в закваски додавали мікроорганізми *Propionibacterium freudenreichii* та вели процес культивування при світлі та без нього. Контрольним слугував зразок, культивування якого проводилось без додавання пропіоновокислих бактерій та без світла. Склад заквасочних культур наведено у табл.1.

Таблиця 1 – Види молочнокислих бактерій, що входять до складу досліджуваних зразків

| Види мікроорганізмів | Зразок №1 | Зразок №2 |
|--|-----------|-----------|
| <i>Bifidobacterium bifidum</i> | + | + |
| <i>Bifidobacterium longum</i> | + | + |
| <i>Bifidobacterium infantis</i> | + | |
| <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> | - | + |
| <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> | - | + |
| <i>Bifidobacterium breve</i> | + | - |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | + | - |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | + | + |
| <i>Acetobacter</i> ssp. <i>aceti</i> | - | + |
| <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> | + | - |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> | + | - |
| <i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i> | + | - |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | + | - |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> | + | + |

На початку досліду в молоко було додано бактеріальну культуру у кількості 50мг на 1л молока. Процес культивування зразків молока протікав 6 годин при 40°C. Одночасно з цим зразки було поміщено на культивування при світлі в 100 Вт. Після виконання розведень та посіву зразки було поміщено в термостат на 48 годин при 37°C.

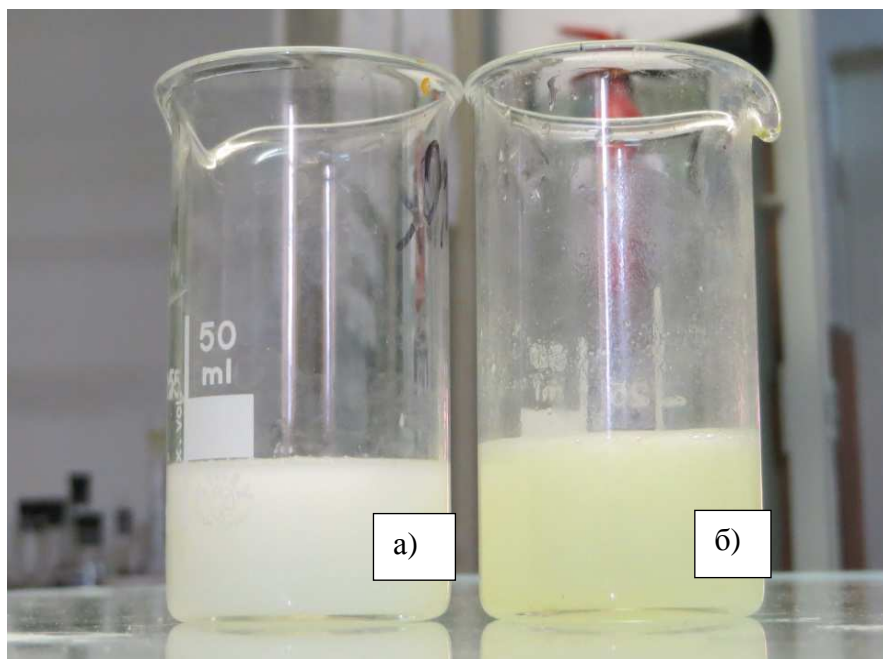
Виконано ряд дослідів по дослідженню впливу світла на накопичення біомаси бактерій роду *Propionibacterium*. Для встановлення впливу світла проведено культивування тих самих зразків при світлі та без. Після 6 годин культивування проби обох зразків, культивованих при світлі та без нього, було висіяно на елективне середовище. Результати дослідів занесено до табл.2.

Таблиця 2 – Кількість пропіоновокислих бактерій в зразках продукту

| Предмет дослідження | Спосіб культивування | Кількість К.У.О. в 1 мл речовини, що вирости на елективному середовищі |
|---------------------|----------------------|--|
| Зразок №1 | без світла | $6 \cdot 10^2$ |
| | при світлі | $7 \cdot 10^2$ |
| Зразок №2 | без світла | $7 \cdot 10^2$ |
| | при світлі | $8,1 \cdot 10^2$ |

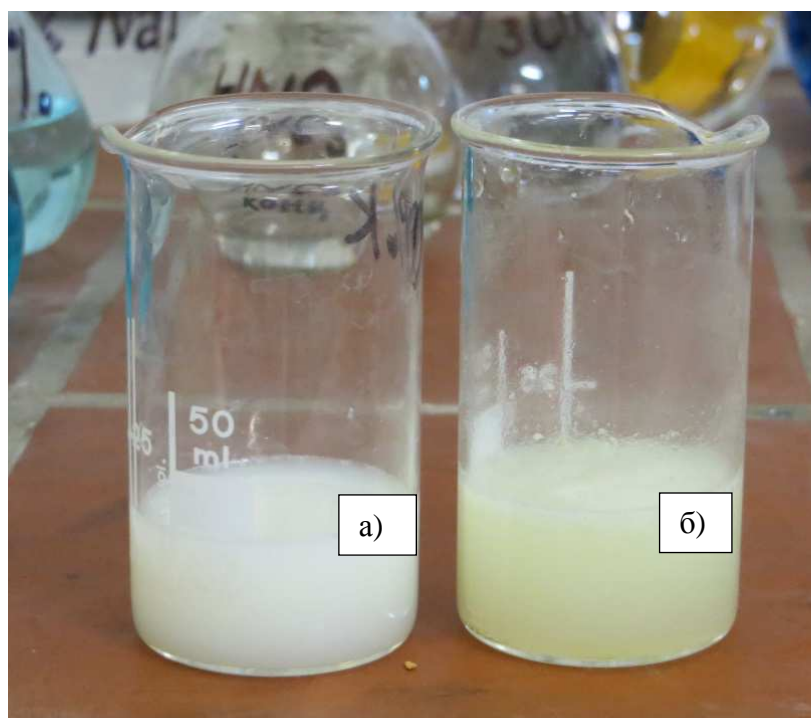
Для ідентифікації наявності вітаміну у зразку, що містить пропіоновокислі бактерії, та у зразку, що не містить, проведено якісну реакцію на кобальт, що міститься в кобаламіні. Катіони кобальту Co^{2+} з нітритом калію KNO_2 в оцтовокислому середовищі

утворюють (після окислення до C^{3+}) жовтий кристалічний осад гексанітрокобальтата. Результати досліду зображено на рис.1, 2.



- а) до складу закваски не входили пропіоновокислі бактерії;
- б) до складу закваски входили пропіоновокислі бактерії

Рисунок 1 – Якісна реакція на кобальт у зразку №1



- а) до складу закваски не входили пропіоновокислі бактерії;
- б) до складу закваски входили пропіоновокислі бактерії

Рисунок 2 – Якісна реакція на кобальт у зразку №2

Колориметричним методом виміряно концентрації вітаміну у всіх зразках. Для зручності результати досліду зображено у вигляді діаграми на рис.3.

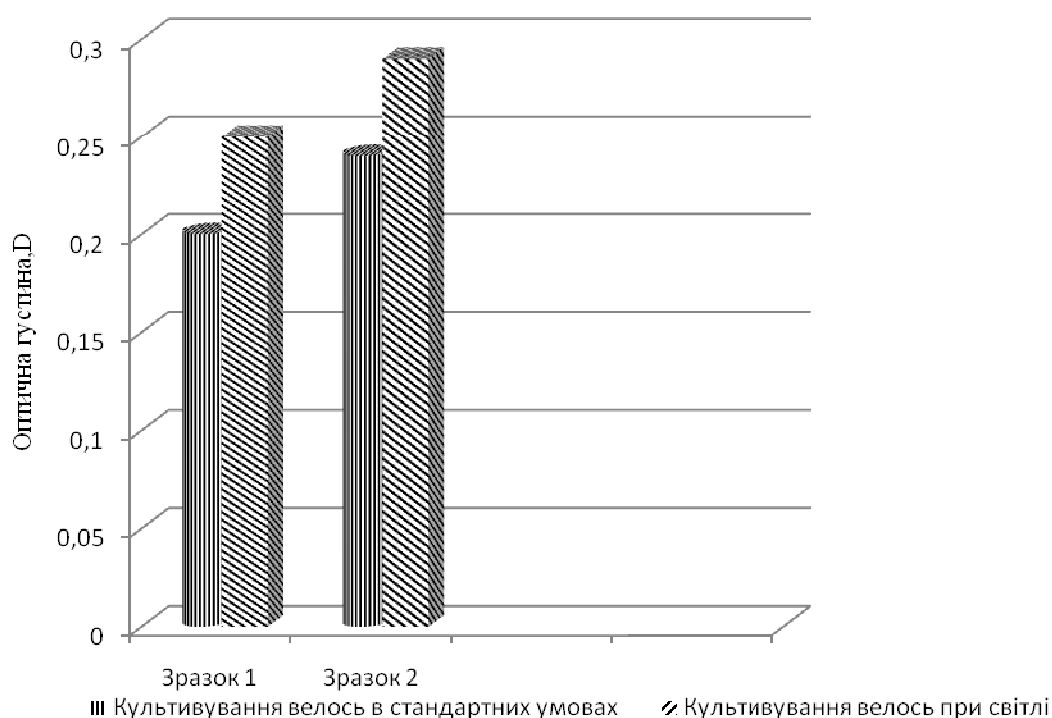


Рисунок 3 – Вплив умов культивування на концентрацію кобаламіну

Висновки. Із одержаних даних можна зробити висновок, що незалежно від складу консорціуму молочнокислих бактерій наявність вітаміну спостерігається лише при додаванні бактерій роду *Propionibacterium*.

Рекомендовано процес виробництва кисломолочних продуктів вести при світлі із додаванням бактерій роду *Propionibacterium*, що сприятиме значному збільшенню концентрації вітаміну B_{12} в готовому продукті. Адже саме пропіоновокислі бактерії у поєднанні із бактеріями молочнокислими здатні продукувати вітаміни, тим самим підвищуючи якість та конкурентоспроможність товару. Дані можуть бути використані для виробництва кисломолочного продукту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вітамін B_{12} – джерело енергії. [Електронний ресурс]: Поради для сучасних жінок – 2013р. <http://www.isb.kiev.ua/vitamin-v12-dzherelo-energii/>.
2. Користь вітаміну B_{12} – кобаламін, оксокобаламін і ціанокобаламін [Електронний ресурс]: Вітаміни – 2012р. <http://gerwoman.ru/page/korist-vitaminu-v12-kobalamin-oksokobalamin-i-cianokobalamin>.
3. Мосін О.В. Синтез вітаміну B_{12} / Мосін О.В. – Сер. V. – М., 2006.
4. Быховский В.Я. Микробиологический синтез витамина B_{12} / Быховский В.Я. – Сер. V. – М., 1984.
5. Bartschat and Samuelsson BMC Genomics 2010, 11:106.

Надійшла до редколегії 29.04.2014.