

Изобретение относится к микробиологической промышленности и может быть использовано для получения витамина В-12.

Известны методы получения витамина В-12 с использованием мутантных штаммов.

Для получения медицинского препарата витамина В-12 используют мутантный штамм *P. freudenreichii* subsp. *shemanii*, синтезирующий более 25 мг/л витамина (Л. И. Воробьева, "Пропионовокислые бактерии" Изво Московского университета, 1995 г. с. 226).

Наиболее близким к заявляемому является штамм *P. shemanii* М-82. Культивирование "*P. shemanii* М-82 осуществляется в строго анаэробных условиях (пропускание азота), автоматизации процессов перемешивания, добавления глюкозы и коррекции рН среды с помощью NH_4OH .

За 150 часов ферментации в лабораторных условиях он составил 58 мг/л. (Обзорная информация. Серия V. Получение и применение ферментов, витаминов, аминокислот, премиксов. Микробиологический синтез витамина В-12. Издано Главным управлением микробиологической промышленности при СМ СССР. М. 1984, с. 28)

Недостатком данного штамма М-82 является полиморфизм клеток, выращивание на разных средах, а именно: они могут образовывать прямые и изогнутые палочки, формы похожие на спорообразные бактерии. Все это затрудняет микробиологический контроль производства. Но главным недостатком является то, что производственных условиях этот штамм дает выход витамина В-12 не более 25 мг/л.

В основу изобретения поставлена задача получения нового штамма М-25 *P. shemanii*, используемого в производстве витамина В-12 путем выделения штамма М-25 *P. shemanii* из естественных культур, которые получены путем выращивания смешанных культур на селективных средах. При этом увеличивается выход витамина В-12 до 65 мг/л, а по морфологическим свойствам клетки имеют постоянную круглую, шарообразную форму, которую легко идентифицировать.

Поставленная задача решается тем, что выделяется штамм М-25 *P. shemanii* используемый для пропионового брожения в производстве витамина В-12.

Заявляемый штамм был выделен из продуктов молочно-кислого производства и хранится в коллекции Института микробиологии и вирусологии Национальной АН Украины, куда был передан на депонирование.

Морфологические признаки.

Клетки имеют постоянную круглую, шарообразную форму (кокки), средний размер клетки 0,2 - 0,6 мкм. Размножаются делением (вегетативно), не образуют споры.

Физиолого-биохимические признаки.

Оптимальная температура культивирования штамма 30 - 37°C, пределы значения рН 6,0-7,5.

Факультативный анаэроб.

Отношение к углеводам.

Потребляет пентозы, гексозы-глюкозу, галактозу, фруктозу, дисахариды-лактозу, мальтозу, низкомолекулярные диастрины.

Отношение к кислотам.

Потребляет молочную, пировиноградную, янтарную, яблочную, лимонную кислоты.

Образует: пропионовую, уксусную, муравьиную, валериановую.

Отношение к спиртам.

Потребляет спирты-метанол, этанол, пропанол, изовалериановые.

Клетки получены из естественных культур (штаммов) путем воздействия мутагенными факторами.

Естественная культура получена путем выращивания смешанных культур на селективных средах. Смешанные культуры взяты из продуктов молочно-кислого производства. Например, для этого берется 10 г сырной массы, которая содержит естественные смешанные культуры пропионовокислых бактерий и помещается в селективную среду. Среда содержит 4% молочной кислоты, 4% глюкозы и 4% кукурузного экстракта. Затем осуществляют выращивание при температуре 29-32°C. Из полученной селективной культуры на поверхности агаризованной среды того же состава выращивают колонии бактерий в анаэробных условиях. Затем из множества колоний отбираются нужные бактерии по морфологическим признакам. Отобранные бактерии проверяют путем пропионового брожения на той же среде, после чего отбирают наиболее активный штамм, который используют для получения мутанта М-25.

Достоинствами заявляемого штамма по сравнению с известным (прототипом) является то, что клетки его имеют постоянную круглую форму (кокки), что улучшает микробиологический контроль производства поскольку их легко идентифицировать.

В условиях производства, не обладающих совершенными средствами регулирования технологического процесса и не использующих дорогостоящих сред, предлагаемый штамм гарантировано дает 25 мг/л витамина В-12.

При совершенной аппаратно-технологической схеме и совершенном уровне контроля биосинтеза с применением оптимальных сред производительность предлагаемого штамма достигает 65 мг/л.