



# **Производство витаминов**

- 
- **Витамины** – это низкомолекулярные органические вещества, способные в очень низких концентрациях оказывать сильное и разнообразное действие. Природным источником многих витаминов являются растения и микроорганизмы. В настоящее время в производстве многих витаминов ведущие позиции принадлежат химическому синтезу, однако при производстве отдельных витаминов микробный синтез имеет огромное значение, например при производстве кормовых препаратов витаминов. Отдельные витамины, кобаламины, менахиноны продуцируются только микробными клетками. Витамины принимают активное участие во многих процессах метаболизма человека и высших животных (процессы цикла трикарбоновых кислот, распад и синтез жирных кислот, синтез аминокислот и др.), оказывая влияние на разнообразные физиологические процессы.
  - Микробиологическим путем получают некоторые витамины группы В, а также эргостерин и каротин, являющиеся, соответственно, предшественниками витаминов D<sub>2</sub> и провитамина А.

## □ Получение витамина В12

- Витамин В12 – ( $\alpha$ -5,6-диметилбензимидазол)-цианкобаламин – полимер сложного строения, являющийся гематопоэтическим и ростовым фактором для многих животных и микроорганизмов. Микробиологический синтез является единственным способом получения данного витамина. Способность к синтезу данного витамина широко распространена среди прокариотических микроорганизмов. Активно продуцируют витамин В12 *Propionibacterium*, а также *Pseudomonas* и смешанные культуры матанообразующих бактерий. Получение витамина на основе пропионовокислых бактерий, способных к самостоятельному синтезу аденозилкобаламина 5,6 ДМБ (коэнзима В12), осуществляется в две стадии в двух последовательных аппаратах объемом 500 л при коэффициенте заполнения 0.65–0.70. Первую стадию культивирования проводят в течение 80 ч и слабом перемешивании в анаэробных условиях до полной утилизации сахара; полученную биомассу центрифугируют. Сгущенную суспензию инкубируют во втором аппарате еще в течение 88 ч, аэрируя культуру воздухом (2 м<sup>3</sup>/ч). Среда содержит сахара (обычно глюкозу 1–10 %), добавки солей железа, марганца, магния и кобальта (10–100 мг/л), кукурузный экстракт (3–7 %). В качестве источника азота принят (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ферментацию проводят при 30°C, рН стабилизируют на уровне 6.5–7.0 подтитровкой культуры раствором (NH)<sub>4</sub>OH. На второй стадии происходит образование ДМБ. После завершения ферментации витамин экстрагируют из клеток, нагреванием в течение 10–30 минут при 80–120°C. При последующей обработке горячей клеточной суспензии цианидом происходит образование CN-кобаламина; продукт сорбируют, пропуская раствор через активированный уголь и окислы алюминия; затем элюируют водным спиртом или хлороформом. После выпаривания растворителя получают кристаллический витамин. Выход В12 составляет до 40 мг/л.

- Активными продуцентами В12 являются бактерии рода *Pseudomonas*. Разработаны эффективные технологии на основе термофильных бацилл *Bacillus circulans*, в течение 18 ч при 65–75°C в нестерильных условиях. Выход витамина составляет от 2.0 до 6.0 мг/л. Бактерии выращивают на богатых средах, приготовленных на основе соевой и рыбной муки, мясного и кукурузного экстракта. Продукция В12 для медицины составляет около 12 т/г; форма выпуска – стерильный раствор CN-В12 на основе 0.95-го 79 раствора NaCl и таблетки витамина в смеси с фолиевой кислотой или другими витаминами. Для нужд животноводства витамин В12 получают на основе смешанной ассоциации термофильных метаногенных бактерий. Ассоциация состоит из 4-х культур, взаимосвязанно расщепляющих органический субстрат до CO<sub>2</sub> и CH<sub>4</sub>: углеводсбраживающих, аммонифицирующих, сульфатвосстанавливающих и собственно метанообразующих бактерий. В качестве субстрата используют декантированную ацетонобутиловую барду, содержащую 2.0–2.5 % сухих веществ. Брожение проходит при 55–57°C в нестерильной культуре в две фазы: на первой образуются жирные кислоты и метан, на второй – метан, углекислота и витамин В12. Длительность процесса в одном аппарате составляет 2.5–3.5 суток, в двух последовательных – 2–2.5 суток. Концентрация витамина в бражке достигает 850 мкг/л. Параллельно в значительных количествах, до 20 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> образуется газ (65 % метана и 30 % углекислоты). Бражка имеет слабощелочную реакцию. Для стабилизации витамина ее подкисляют соляной или фосфорной кислотой, затем в выпарном аппарате сгущают до 20 % содержания сухих веществ и высушивают в распылительной сушилке. Содержание В12 в сухом препарате – до 100 мкг/г.

## □ Получение витамина В2

- Витамин В2 (рибофлавин) получил свое название от сахара рибозы, входящего в состав молекулы витамина в виде многоатомного спирта Дрибита. Широко распространен в природе и в значительных количествах синтезируется растениями, дрожжами, грибами, бактериями. Животные, не синтезирующие этот витамин, должны получать его в составе комбикормов. При дефиците рибофлавина в организме нарушаются процессы белкового обмена, замедляется рост. Препараты рибофлавина используют в медицине для лечения ряда заболеваний, а в животноводстве – в качестве добавки в корма. Микроорганизмы синтезируют рибофлавин и две его коферментные формы – ФАД и ФМН. Продуцентами витамина являются бактерии (*Brevibacterium ammoniagenes*, *Micrococcus glutamaticus*), дрожжи (*Candida guilliermondii*, *C. flaveri*), микроскопические (*Ashbya gossypii*, *Eremothecium ashbyii*) и плесневые грибы (*Aspergillus niger*).
- Промышленное получение рибофлавина осуществляется химическим синтезом, микробиологическим и комбинированным: при этом синтезированная микроорганизмами рибоза химически трансформируется в В2.
- Для медицинских целей микробиологический рибофлавин получают на основе гриба *Aspergillus*. Для высоких выходов витамина (до 7 г/л) используют усовершенствованные штаммы и оптимизированные среды, содержащие (в %): кукурузный экстракт – 2.25, пептон – 3.5, соевое масло – 4.5 и стимуляторы (пептоны, глицин). Используют активный инокулят, которым засевают стерильную среду. Ферментацию проводят в течение 7 суток при 28°C и хорошей аэрации (0,3 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>·мин.). Исходный рН составляет около 7.0, в ходе ферментации в связи с выделением кислот среда 80 подкисляется до рН 4.0–4.5. После утилизации углеродного субстрата продуцент начинает утилизировать кислоты; рН повышается и после этого начинается образование витамина В2. При этом кристаллы рибофлавина накапливаются в гифах и вне мицелия. На постферментационной стадии для выделения витамина мицелий нагревают в течение 1 ч при 120°C.
- В ряде стран для получения кормовых препаратов витамина В2 используют достаточно простой способ на основе микроскопического гриба *Eremothecium ashbyii*, который выращивают в глубинной культуре в течение 80–84 ч при 28–30°C на среде с глюкозой или мальтозой (2.5 %), источником азота в виде NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> и карбонатом кальция (0.5 %). Выход рибофлавина составляет 1250 мкг/мл. Культуральная жидкость концентрируется в вакуумной выпарке до содержания сухих веществ 30–40 % и высушивается в распылительной сушилке. Товарная форма продукта – порошок с содержанием рибофлавина не менее 10 мг/г и 20 % сырого протеина, в препарате присутствуют никотиновая кислота и витамины В1, В3, В6 и В12. Полученный генноинженерным методом штамм *Bacillus subtilis* образует за 35 суток ферментации до 4 г/л рибофлавина.

## □ Получение эргостерина

- Эргостерин – (эргоста-5,7,22-триен-3β-ол) – исходный продукт производства витамина D<sub>2</sub> и кормовых препаратов дрожжей, обогащенных этим витамином. Витамин D<sub>2</sub> (эргокальциферол) образуется при облучении ультрафиолетом эргостерина, который в значительных количествах синтезируют бурые водоросли, дрожжи, плесневые грибы. Наиболее активные продуценты эргостерина – *Saccharomyces*, *Rhodotoryla*, *Candida*.
- В промышленных масштабах эргостерин получают при культивировании дрожжей и мицелиальных грибов на средах с избытком сахаров при дефиците азота, высокой температуре и хорошей аэрации. Более интенсивно эргостерин образуют дрожжи рода *Candida* на средах с углеводородами. При получении кристаллического препарата витамина D<sub>2</sub> культивируют плесневые грибы (*Penicillium*, *Aspergillus*). Для получения кормовых препаратов облучают суспензию или сухие дрожжи (*Candida*). Облучают тонкий слой 5 % суспензии дрожжей ультрафиолетовыми лампами с длиной волны 280–300 нм. Кормовые препараты дрожжей содержат в 1 г АСВ 5000 Е витамина D<sub>2</sub> и не менее 46 % сырого белка. Для получения кристаллического препарата витамина дрожжи или грибной мицелий подвергают кислотному гидролизу при 110°C. Витамин экстрагируют спиртом, фильтруют, далее фильтрат упаривают, несколько раз промывают спиртом. Спиртовой экстракт сгущают до 50 % концентрации сухих веществ, омыляют щелочью. Полученные кристаллы витамина очищают перекристаллизацией и сушат в эфире, отгоняя последний. Кристаллический осадок растворяют в масле. Данный препарат используют в медицинских целях. Эргостерин является также исходным продуктом для получения ряда стероидных гормонов, пищевых и лекарственных препаратов.