

УДК 664+661.123

Научная статья



DOI: 10.32634/0869-8155-2026-404-03-115-122

Р.И. Фаткуллин¹ ✉И.В. Калинина¹Н.В. Науменко¹Г.К. Одинцов²С.А. Ханнанова²Н.И. Фаткулина¹¹Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия²Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

✉ fatkullinri@susu.ru

Поступила в редакцию: 20.11.2025

Одобрена после рецензирования: 11.02.2026

Принята к публикации: 25.02.2026

© Фаткуллин Р.И., Калинина И.В.,
Науменко Н.В., Одинцов Г.К.,
Ханнанова С.А., Фаткулина Н.И.

Research article



DOI: 10.32634/0869-8155-2026-404-03-115-122

Rinat I. Fatkullin¹ ✉Irina V. Kalinina¹Natalya V. Naumenko¹Georgiy K. Odintsov²Sofya A. Khannanova²Nelli I. Fatkullina¹¹South Ural State University,
Chelyabinsk, Russia²ITMO University, St. Petersburg,
Russia

✉ fatkullinri@susu.ru

Received by the editorial office: 20.11.2025

Accepted in revised: 11.02.2026

Accepted for publication: 25.02.2026

© Fatkullin R.I., Kalinina I.V., Naumenko N.V.,
Odintsov G.K., Khannanova S.A.,
Fatkullina N.I.

Оптимизация микробного синтеза витамина *B₁₂* *Propionibacterium*

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Витамин *B₁₂* (кобаламин) является жизненно важным биологически активным соединением, участвующим в регуляции клеточного метаболизма, кроветворении и функционировании нервной системы. Его дефицит приводит к тяжелым метаболическим и неврологическим нарушениям. Промышленное получение витамина *B₁₂* преимущественно осуществляется микробиологическим методом, поскольку химический синтез кобаламина является технологически сложным и экономически нецелесообразным. Среди микроорганизмов-продуцентов особый интерес представляют пропионовокислые бактерии рода *Propionibacterium*, характеризующиеся высокой биосинтетической активностью. При этом параметры культивирования существенно влияют на выход целевого продукта, что определяет актуальность оптимизации условий биосинтеза.

Методы. Объектом исследования служили заквасочные культуры двух видов. Культивирование проводили в анаэробных условиях на жидкой питательной среде с лактозой, дрожжевым экстрактом и пептоном. Физиологическое состояние культур оценивали микроскопически и по динамике удельной скорости роста. Варьировали температуру (25, 30 и 35 °C) и продолжительность инкубации (12, 16 и 20 ч). Содержание витамина *B₁₂* определяли спектрофотометрически при 361 нм. Дополнительно изучали влияние хлорида кобальта. Эксперименты проводили в трехкратной повторности.

Результаты. Максимальный выход витамина *B₁₂* (до 897 мкг/мл) достигался при температуре 35 °C и времени культивирования 16 ч. Оптимизация условий позволила повысить выход кобаламина более чем на 40%. Полученные результаты могут быть использованы при разработке и масштабировании биотехнологических процессов.

Ключевые слова: витамин *B₁₂*, *Propionibacterium*, микробный синтез, параметры культивирования, оптимизация, хлорид кобальта

Для цитирования: Фаткуллин Р.И. и др. Оптимизация микробного синтеза витамина *B₁₂* пропионовокислыми бактериями *Propionibacterium*. *Аграрная наука*. 2026; 404 (03): 115–122.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2026-404-03-115-122>

Optimization of microbial synthesis of vitamin *B₁₂* by *Propionibacterium jensenii*

ABSTRACT

Abstract. Vitamin *B₁₂* (cobalamin) is an essential biologically active compound involved in the regulation of cellular metabolism, hematopoiesis, and the functioning of the nervous system. Its deficiency leads to severe metabolic and neurological disorders. Industrial production of vitamin *B₁₂* is mainly carried out using microbiological methods, since chemical synthesis of cobalamin is technologically complex and economically inefficient. Among vitamin *B₁₂* — producing microorganisms, propionic acid bacteria of the genus *Propionibacterium* are of particular interest due to their high biosynthetic activity. At the same time, cultivation parameters significantly affect the yield of the target product, which determines the relevance of optimizing biosynthesis conditions.

Methods. Two types of starter cultures were used as the objects of the study. Cultivation was performed under anaerobic conditions in a liquid nutrient medium containing lactose, yeast extract, and peptone. The physiological state of the cultures was assessed microscopically and by analyzing the dynamics of the specific growth rate. Temperature (25, 30, and 35 °C) and incubation time (12, 16, and 20 h) were varied. Vitamin *B₁₂* content was determined spectrophotometrically at a wavelength of 361 nm. The effect of cobalt chloride supplementation in the culture medium was also evaluated. All experiments were carried out in triplicate.

Results. The maximum yield of vitamin *B₁₂* (up to 897 µg/mL) was achieved at a temperature of 35 °C and a cultivation time of 16 h. Optimization of cultivation conditions increased cobalamin production by more than 40%. The obtained results can be applied in the development and scale-up of biotechnological processes.

Key words: vitamin *B₁₂*, *Propionibacterium*, microbial synthesis, cultivation parameters, optimization, cobalt chloride

For citation: Fatkullin R.I. et al. Optimization of microbial synthesis of vitamin *B₁₂* by *Propionibacterium*. *Agrarian science*. 2026; 404 (03): 115–122 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2026-404-03-115-122>

Введение/Introduction

Витамин B_{12} (цианокобаламин) представляет собой сложное кобальтсодержащее соединение, участвующее во множестве ключевых биохимических реакций, обеспечивающих нормальное функционирование организма человека. Он необходим для синтеза нуклеиновых кислот, метионина и креатина, для метаболизма жирных кислот с нечетным числом атомов углерода и нормального протекания цикла Кребса. Биологическая активность кобаламина определяется наличием уникальной связи «углерод — кобальт», которая обеспечивает его коферментные функции в виде метилкобаламина и аденозилкобаламина [1–6].

Недостаток витамина B_{12} сопровождается развитием мегалобластных анемий, нарушениями нервной проводимости и снижением когнитивных функций. Естественным источником витамина B_{12} являются исключительно микроорганизмы, обладающие специфическим набором ферментов для биосинтеза корринового кольца — центрального фрагмента молекулы кобаламина. В организме человека данный витамин синтезируется представителями кишечного микробиома, однако в количествах, недостаточных для покрытия физиологической потребности [7–10].

В связи с этим для фармацевтической и пищевой промышленности актуальной задачей является разработка биотехнологических способов промышленного получения кобаламина. Химический синтез витамина B_{12} экономически нецелесообразен из-за сложности структуры молекулы, многостадийности и низкого выхода целевого продукта [9, 11–14].

В настоящее время основным направлением получения витамина B_{12} является микробный биосинтез [5, 8] с использованием бактерий рода *Propionibacterium* и *Pseudomonas* [15–20].

Исследования показали, что именно пропионовокислые бактерии обладают высокой стабильностью метаболизма, способностью к длительному анаэробному росту и выраженной активностью в отношении синтеза коферментных форм кобаламина.

Наиболее известными продуцентами витамина B_{12} являются *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium jensenii*, применяемые как в лабораторных исследованиях, так и в промышленных масштабах. Эти микроорганизмы способны синтезировать кобаламин при сравнительно мягких условиях культивирования и демонстрируют устойчивость к колебаниям pH и концентрации субстратов. При этом метаболическая активность культур и выход витамина существенно зависят от физико-химических

параметров среды [9, 12, 15], соотношения источников углерода и азота, температуры, кислотности и времени инкубации [21–25].

Целью настоящей работы являлась оптимизация параметров микробного синтеза цианокобаламина с использованием *Propionibacterium* как продуцента витамина B_{12} . Для достижения поставленной цели решались задачи: изучить влияние температуры и времени культивирования на накопление цианокобаламина, определить оптимальные параметры процесса и выявить закономерности, определяющие эффективность биосинтеза витамина. Концептуальная схема исследований предоставлена на рис. 1.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

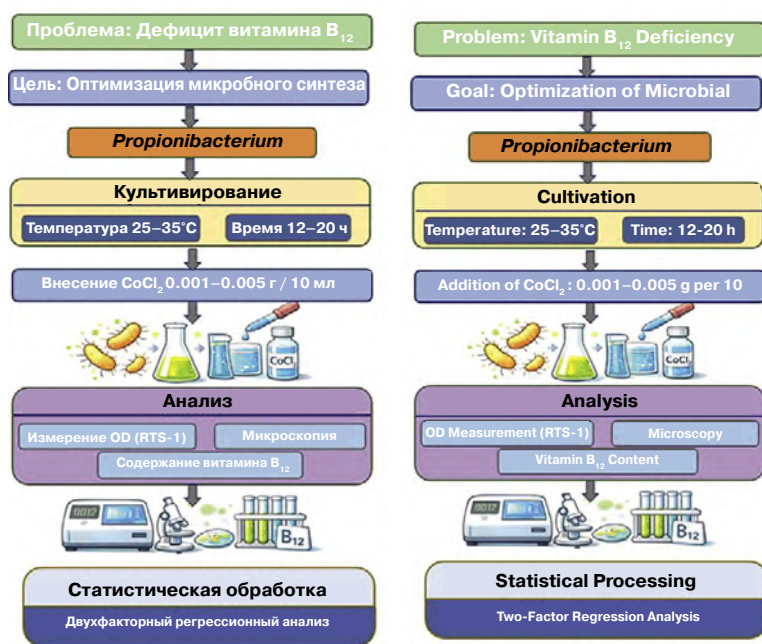
Исследования проводились в период апрель–июль 2025 г в научно-исследовательских лабораториях ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)» (Челябинск, Россия).

Объектом исследования являлись пропионовокислые бактерии *Propionibacterium* — грамположительные анаэробные микроорганизмы, используемые в промышленной биотехнологии для синтеза витаминов группы В и органических кислот.

В работе использовали коммерческие культуры *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii* — KM 186 «Пропионикс» (Россия) и *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Globosum* компании «Sacco» (Италия), относящиеся к числу стандартных промышленных заквасочных культур.

Выбор данных микроорганизмов был обусловлен необходимостью валидации разрабатываемых условий культивирования на генетически

Рис. 1. Концептуальная схема исследований
Fig. 1. Conceptual scheme of the study



стабильных и технологически воспроизводимых культурах, представляющих собой моноштаммовую закваску (образец «Пропионикс») и комплексную двухштаммовую культуру (образец «Sacco»).

Для культивирования бактерий использовали жидкую питательную среду, содержащую лактозу (10 г/л), дрожжевой экстракт (5 г/л) и пептон (10 г/л). Среда стерилизовалась при 121 °C в течение 30 мин. Культивирование проводили в анаэробных условиях при различных температурах (25, 30 и 35 °C) и времени (12, 16 и 20 ч). Все эксперименты проводились в трехкратной повторности.

Физиологическое состояние культур контролировали методом микроскопии по светлomu полю с окраской метиленовым синим. Для оценки кинетики роста микроорганизмов использовали биореактор пробирочного типа RTS-1 (BioSan, Латвия), предназначенный для непрерывного мониторинга оптической плотности и автоматического управления условиями культивирования. Кривые удельной скорости роста регистрировали в режиме реального времени с использованием встроенной системы турбидиметрии. Культивирование вели при температуре 30 °C и перемешивании 100 об/мин.

Для определения содержания витамина B_{12} проводили экстракцию цианокобаламина из биомассы насыщенным раствором сульфата аммония и изоамиловым спиртом, после чего измеряли оптическую плотность при длине волны 361 нм (спектрофотометр СФ-2000, Россия). Концентрацию витамина определяли по градуировочному графику, построенному по стандартным растворам цианокобаламина (чистота 99,8 %, НПО «Эко-тек», Россия).

Для установления оптимальных условий биосинтеза витамина B_{12} и оценки совместного влияния температуры и продолжительности культивирования на его накопление применяли двухфакторный регрессионный анализ. В качестве независимых переменных использовали температуру культивирования (X_1) и время культивирования (X_2), а в качестве отклика — концентрацию витамина B_{12} в культуральной жидкости. На основе экспериментальных данных строили квадратичные регрессионные модели, включающие линейные и квадратичные члены. Адекватность моделей оценивали по критерию Фишера¹. Для визуализации полученных зависимостей строили поверхности отклика, позволяющие определить область экстремума и оптимальные значения факторов.

Также для оценки возможности интенсификации биосинтеза витамина B_{12} пропионовыми бактериями и установления рациональной концентрации кобальта как структурного компонента корринового кольца в питательную среду дополнительно вносили хлорид кобальта (CoCl_2)

в различных концентрациях (0,001; 0,003 и 0,005 г на 10 мл среды). Выбор диапазона концентраций был обусловлен необходимостью охватить как потенциально лимитирующие, так и избыточные уровни микроэлемента, способные оказывать стимулирующее либо ингибирующее действие на метаболические пути синтеза кобаламина. Добавку CoCl_2 вносили перед стерилизацией среды.

Эффективность биосинтеза витамина B_{12} оценивали по его накоплению в культуральной жидкости после завершения культивирования.

Используемое в исследованиях сырье и материалы соответствовали требованиям нормативной документации, поставлялись с сертификатами соответствия, паспортами качества и др. сопроводительными документами.

Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики. Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Достоверность различий оценивали при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

На первом этапе исследований оценивали морфологию и жизнеспособность культур пропионовых бактерий.

На рис. 2 представлены результаты микроскопии фиксированного препарата бактерий.

Обе культуры демонстрируют характерную морфологию *Propionibacterium*: мелкие клетки палочковидной или слегка округлой формы, расположенные преимущественно одиночно.

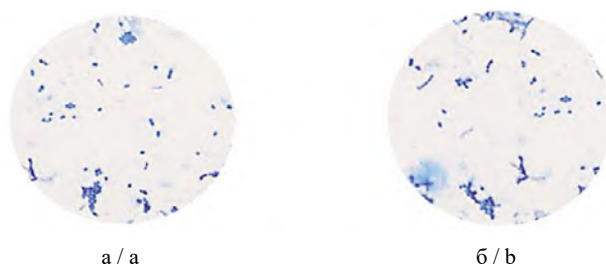
Для предварительной характеристики физиологического состояния исследуемых культур была проведена регистрация кривых удельной скорости роста в биореакторе RTS-1.

На рис. 3 представлены графики изменения оптической плотности во времени для штаммов *Propionibacterium* «Пропионикс» и «Sacco».

Анализ представленных данных показывает, что обе заквасочные культуры характеризуются типичной для пропионовых бактерий кривой роста. Однако бактерии заквасочной культуры

Рис. 2. Микроскопирование пропионовых бактерий (фиксированный препарат, окраска метиленовым синим, увеличение $\times 1620$): а) «Пропионикс»; б) «Sacco»

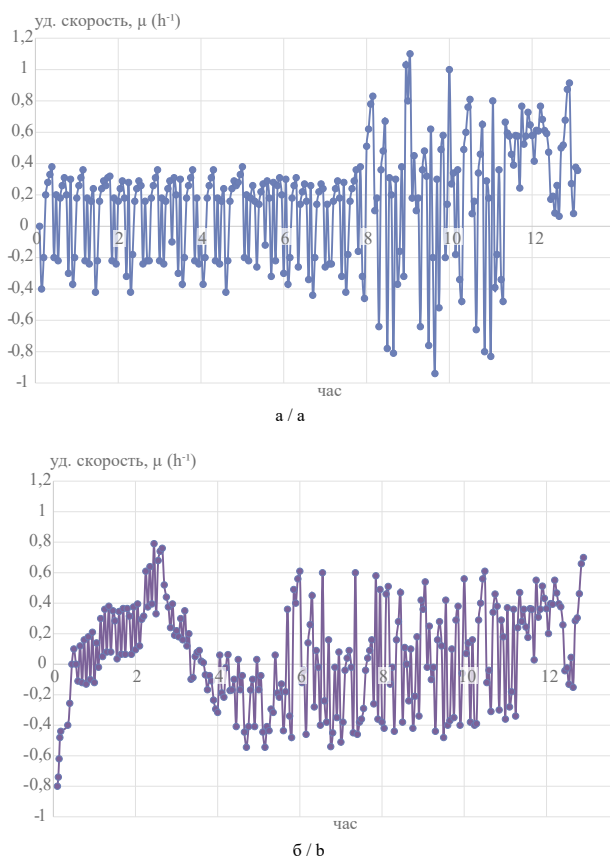
Fig. 2. Microscopic examination of propionic acid bacteria (fixed preparation, methylene blue staining, $\times 1620$): (a) "Propionix"; (b) "Sacco"



¹ <https://studfile.net/preview/10714919/page:3/>

Рис. 3. Кривые регистрации изменения показателя удельного роста биомассы для образцов пропионовокислых бактерий: а) «Пропионикс»; б) «Сассо»

Fig. 3. Curves showing the recorded changes in the specific biomass growth rate for propionic acid bacteria samples: (a) "Propionix"; (b) "Sacco"



«Пропионикс» демонстрируют более выраженный экспоненциальный участок, что указывает на интенсивное деление клеток и потенциально более высокую биосинтетическую активность. Пропионовокислые бактерии закваски «Сассо» характеризуются более длительной лаг-фазой и меньшим наклоном экспоненциального участка, что свидетельствует о медленной адаптации к среде, сниженной активности культуры в сравнении с закваской «Пропионикс» [12, 16–19].

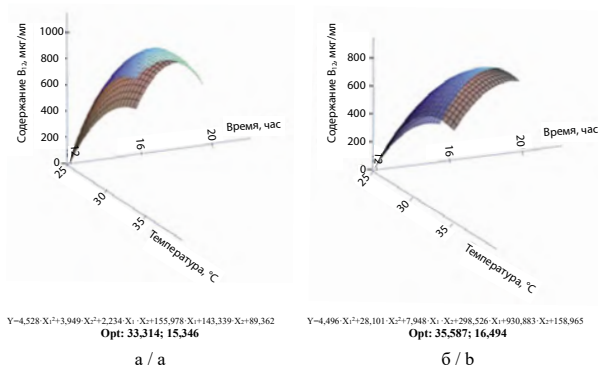
Для установления оптимальных условий биосинтеза витамина B_{12} были определены количественные показатели его накопления при разных температурах и времени культивирования.

В таблице 1 приведены полученные значения.

Результаты экспериментальных исследований показали, что температура и длительность культивирования оказывают статистически значимое

Рис. 4. Результаты оптимизации процесса синтеза витамина B_{12} пропионовокислыми бактериями исследуемых заквасочных культур: а) «Пропионикс»; б) «Сассо»

Fig. 4. Results of optimization of the vitamin B_{12} synthesis process by propionic acid bacteria of the studied starter cultures: (a) "Propionix"; (b) "Sacco"



влияние на накопление витамина B_{12} в культуральной жидкости.

Наиболее высокий выход витамина для бактерий обеих заквасочных культур наблюдается в диапазоне температур 30–35 °С.

Культивирование бактерий заквасочной культуры «Пропионикс» при температуре 30 °С в течение 16 ч продемонстрировало наиболее высокий выход витамина B_{12} — $826,5 \pm 1,3$ мкг/мл. Увеличение продолжительности культивирования этих микроорганизмов до 20 ч привело к снижению значений искомого показателя, что, очевидно, связано с переходом клеток в стационарную фазу или истощением питательной среды.

Для поиска оптимальных условий культивирования *Propionibacterium* был использован двухфакторный регрессионный анализ (рис. 4).

Построенные поверхности отклика демонстрируют экстремумы в диапазоне температур 33–35 °С при времени культивирования 15–17 ч.

Предложенные математические модели адекватно описывают экспериментальные данные и могут быть использованы для прогноза параметров процесса биосинтеза витамина B_{12} при масштабировании.

Полученные данные согласуются с известными особенностями метаболизма пропионовокислых бактерий, для которых оптимальный диапазон температур находится в пределах 30–35 °С. Геометрия поверхностей носит схожий характер и демонстрирует выраженный наклон в сторону повышения температуры при фиксированном времени культивирования, что указывает на выраженную зависимость биосинтетической активности

Таблица 1. Средние значения содержания витамина B_{12} в культуральной жидкости *Propionibacterium* исследуемых образцов заквасочных культур, мкг/мл

Table 1. Mean values of vitamin B_{12} content in the culture liquid of *Propionibacterium* in the studied starter culture samples, μg/mL

Время культивирования, ч	Содержание витамина B_{12} , мкг/мл (заквасочная культура «Пропионикс»)			Содержание витамина B_{12} , мкг/мл (заквасочная культура «Сассо»)		
	25 °С	30 °С	35 °С	25 °С	30 °С	35 °С
12	412,6 ± 1,2	439,4 ± 1,4	680,0 ± 1,5	306,6 ± 1,1	401,3 ± 1,6	347,3 ± 1,8
16	390,7 ± 1,4	826,5 ± 1,3	782,2 ± 1,4	312,5 ± 1,8	621,6 ± 1,6	570,4 ± 1,5
20	409,2 ± 1,1	670,3 ± 1,1	695,0 ± 1,6	347,0 ± 1,4	596,1 ± 1,5	457,6 ± 1,6

Propionibacterium от температуры. Наблюдаемый рост концентрации витамина B_{12} при повышении температуры до $\sim 35^\circ\text{C}$ может быть обусловлен увеличением активности ферментативного комплекса, участвующего в биосинтезе корринового кольца витамина B_{12} .

В пути синтеза кобаламина задействовано около 30 ферментативных стадий, включая последовательные метилирования и перестройки тетрапиррольного предшественника, каталитически осуществляемые ферментами, такими как *CobA* (метилтрансфераза, превращает уропорфириноген III в прекооррин-2), *CobI* (метилтрансфераза, превращает прекооррин-2 в прекооррин-3А), *CobM* (метилтрансфераза, действует на прекооррин-4) и *CobL* (вовлечен в дальнейшие модификации макроцикла). Эти ферменты требуют точной координации и конформационной подвижности активных центров для эффективного катализа промежуточных реакций, что делает их чувствительными к температуре и физико-химическим условиям среды. Умеренное повышение температуры в диапазоне $30\text{--}35^\circ\text{C}$ может способствовать оптимизации кинетических параметров ферментативных реакций, увеличению каталитических констант при еще не критическом влиянии на стабильность белковых структур, а также ускорению потока метаболитов по пути кобаламинового биосинтеза. В этих условиях скорость формирования корринового кольца и суммарный выход витамина B_{12} могут увеличиваться [13, 14, 21–26].

Установленное снижение концентрации витамина к 20-му часу культивирования также имеет четкое биохимическое обоснование. Переход культуры в стационарную фазу сопровождается как истощением доступных источников углерода и азота, так и накоплением органических кислот, способных изменять pH среды и влиять на процессы биосинтеза. Эти факторы приводят к перераспределению метаболических потоков в сторону выживания, а не синтеза энергоемких молекул, включая кобаламин. Кроме того, на поздних стадиях роста часть витамина B_{12} может переходить из свободной формы в связанное состояние внутри клетки, что дополнительно может снижать его измеряемую концентрацию в культуральной жидкости [14–17, 22, 23, 26].

Сравнение данных по различным штаммам двух исследуемых заквасочных культур пропионовокислых бактерий позволило установить, что при внешне сходных кривых роста биосинтетическая активность штаммов существенно различается.

Моновидовая заквасочная культура бактерий «Пропионикс» продемонстрировала более высокий уровень синтеза витамина B_{12} , чем бактерии заквасочной культуры «Сассо» примерно в 1,33 раза в условиях оптимума. Это согласуется с данными литературы, согласно которым генетические вариации в кластере *cob/cbi* пропионовокислых бактерий определяют различия в

Таблица 2. Содержание витамина B_{12} в среде с добавлением различных концентраций CoCl_2

Table 2. Vitamin B_{12} content in the medium supplemented with different concentrations of CoCl_2

Количество вносимого хлорида кобальта	Содержание витамина B_{12} , мкг/мл	
	«Пропионикс»	«Сассо»
(0,001 г CoCl_2 /10 мл)	530,4 $\pm$ 0,3	426,2 $\pm$ 0,6
(0,003 г CoCl_2 /10 мл)	864,3 $\pm$ 0,5	738,0 $\pm$ 0,3
(0,005 г CoCl_2 /10 мл)	145,5 $\pm$ 0,4	96,1 $\pm$ 0,4

регуляции ферментов поздних стадий синтеза кобаламина. В частности, более высокий уровень витамина у штамма «Пропионикс» при 35°C , вероятно, свидетельствует о лучшем согласовании процессов образования 5,6-диметилбензимидазола и последующей сборки корриноидной структуры [14, 17, 21–26].

Таким образом, экспериментальные данные подтверждают, что оптимизация физических параметров среды позволяет увеличить выход витамина B_{12} без изменения состава питательной среды и применения индукторов роста. Полученные зависимости могут быть использованы при разработке технологических регламентов для микробного синтеза кобаламина.

Для изучения возможности интенсификации процесса биосинтеза витамина B_{12} была проведена серия экспериментов по влиянию присутствия в питательной среде предшественников цианокобаламина — Co в разных концентрациях (табл. 2).

Результаты показывают, что при добавлении 0,003 г/10 мл CoCl_2 наблюдается наиболее высокие значения содержания витамина B_{12} в культуральной жидкости (864,3 $\pm$ 0,5 мкг/мл и 738,0 $\pm$ 0,3 мкг/мл для бактерий заквасочных культур «Пропионикс» и «Сассо» соответственно). При меньшей дозе предшественника среда оказывается недостаточно насыщенной кобальтом, что ограничивает образование корринового кольца.

При увеличении концентрации CoCl_2 до 0,005 г/10 мл происходит резкое снижение выхода витамина, что можно объяснить ингибирующим эффектом избытка ионов Co^{2+} на ферменты поздних стадий синтеза, а также возможным нарушением ионного гомеостаза клетки [13, 14, 18, 21–23].

Выводы/Conclusions

В результате проведенных исследований установлены количественные закономерности влияния температуры, продолжительности культивирования и обеспеченности ионами кобальта на интенсивность микробного синтеза витамина B_{12} пропионовокислыми бактериями рода *Propionibacterium*. Показано, что варьирование физических параметров среды в диапазоне $25\text{--}35^\circ\text{C}$ и времени культивирования 12–20 ч оказывает статистически значимое влияние ($p < 0,05$) на накопление кобаламина в культуральной жидкости.

Экспериментально установлено, что для заквасочной культуры «Пропионикс» максимальное

содержание витамина B_{12} достигает $826,5 \pm \pm 1,3$ мкг/мл при температуре 30 °С и времени культивирования 16 ч, тогда как для культуры «Сассо» при аналогичных условиях оно составляет $621,6 \pm 1,6$ мкг/мл. Таким образом, биосинтетическая активность моноштаммовой культуры «Пропионикс» в оптимальных условиях превышает показатели комплексной культуры «Сассо» примерно в 1,3 раза, что указывает на существенное влияние штаммовых особенностей на эффективность кобаламинового биосинтеза.

Применение двухфакторного регрессионного анализа позволило определить область оптимума процесса в интервале 33–35 °С и 15–17 ч, при которых достигается максимальный выход витамина B_{12} без увеличения длительности ферментации и изменения состава питательной среды.

Дополнительно установлено, что введение хлорида кобальта в концентрации 0,003 г/10 мл среды приводит к увеличению содержания витамина B_{12} до $864,3 \pm 0,5$ мкг/мл для культуры «Пропионикс»

и $738,0 \pm 0,3$ мкг/мл для культуры «Сассо», что соответствует росту выхода кобаламина на 15–18% по сравнению с оптимальными условиями без добавления предшественника. При дальнейшем увеличении концентрации CoCl_2 до 0,005 г/10 мл наблюдается резкое ингибирование биосинтеза и снижение выхода витамина более чем в 5 раз, что подтверждает узкий диапазон физиологически допустимых концентраций кобальта.

Таким образом, показано, что целенаправленная оптимизация температурно-временных параметров культивирования в сочетании с рациональной микроэлементной поддержкой позволяет увеличить выход витамина B_{12} более чем на 40% без усложнения технологии. Полученные результаты имеют практическую значимость для разработки ресурсосберегающих и управляемых биотехнологических процессов микробного синтеза кобаламина и могут быть использованы при проектировании промышленных биореакторных систем и регламентов производства.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные. Все авторы внесли равный вклад в работу. Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data. All authors made an equal contribution to the work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 25-26-00278.

FUNDING

The research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation grant No. 25-26-00278.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Волобуева Е.С., Анискина М.В., Петенко А.И., Волкова С.А. Особенности культивирования штамма *Propionibacterium shermanii*. Научный журнал КубГАУ. 2015; 114: 1156–1169. EDN VHFLYV
2. Raux E., Schubert H.L., Warren M.J. Biosynthesis of cobalamin (vitamin B_{12}): a bacterial conundrum. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2000; 57(13–14): 1880–1893. <https://doi.org/10.1007/PL00000670>
3. Милентьева И.С., Козлова О.В., Еремеева Н.И. Исследование пробиотических свойств бактерий рода *Propionibacterium*. Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2021; 9(2): 83–92. EDN IIFQHD
4. Волкова Г.С., Толочкова А.А., Кукова Е.В., Серба Е.М. Создание ассоциации пропионовокислых бактерий для производства продукции, обогащенной витамином B_{12} . Пищевая промышленность. 2025; (7): 90–94. <https://doi.org/10.52653/PPI.2025.7.7.018>
5. Сахибгараева Л.Ф., Марахова А.И., Смагулова Д.К., Станишевская И.Е. Характеристика витамина B_{12} и основные продуценты при его получении. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015; (3): 104–107. EDN VVANYZ
6. Хапалюк А.В. Витамин B_{12} : биологическое значение, патогенетические механизмы и клинические проявления недостаточности. Лечебное дело. 2019; (4): 17–23. EDN RFSNWN
7. Fang H., Kang J., Zhang D. Microbial production of vitamin B_{12} : review and future perspectives. *Microbial Cell Factories*. 2017; 16: 15. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>
8. Sampaioles S., Briand L.E., De Antoni G., León Peláez A. The synthesis of soluble and volatile bioactive compounds by selected brewer's yeasts: Antagonistic effect against enteropathogenic bacteria and food spoiler — toxigenic *Aspergillus* sp. *Food Chemistry*: X. 2021; 13: 100193. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100193>

REFERENCES

1. Volobueva E.S., Aniskina M.V., Petenko A.I., Volkova S.A. Features of the cultivation of *Propionibacterium shermanii* strain. *Scientific Journal of KubSAU*. 2015; 114: 1156–1169 (in Russian). EDN VHFLYV
2. Raux E., Schubert H.L., Warren M.J. Biosynthesis of cobalamin (vitamin B_{12}): a bacterial conundrum. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2000; 57(13–14): 1880–1893. <https://doi.org/10.1007/PL00000670>
3. Milentyeva I.S., Kozlova O.V., Eremeeva N.I. Study of probiotic properties of bacteria of the genus *Propionibacterium*. *Bulletin of South Ural State University. Series "Food and Biotechnology"*. 2021; 9(2): 83–92 (in Russian). EDN IIFQHD
4. Volkova G.S., Toloknova A.A., Kuksova E.V., Serba E.M. Creation of propionic acid bacteria association for production of vitamin B_{12} -enriched products. *Food processing industry*. 2025; (7): 90–94 (in Russian). <https://doi.org/10.52653/PPI.2025.7.7.018>
5. Sahibgaraeva L.F., Marahova A.I., Smagulova D.K., Stanishevskaya I.E. Characteristics of Vitamin B_{12} and its main producers. *Drug development & Registration*. 2015; (3): 104–107 (in Russian). EDN VVANYZ
6. Khapaliuk A.V. Vitamin B_{12} : biological significance, pathogenetic mechanisms and clinical manifestations of vitamin insufficiency. *Lechebnoye delo*. 2019; (4): 17–23 (in Russian). EDN RFSNWN
7. Fang H., Kang J., Zhang D. Microbial production of vitamin B_{12} : a review and future perspectives. *Microbial Cell Factories*. 2017; 16: 15. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>
8. Sampaioles S., Briand L.E., De Antoni G., León Peláez A. The synthesis of soluble and volatile bioactive compounds by selected brewer's yeasts: Antagonistic effect against enteropathogenic bacteria and food spoiler — toxigenic *Aspergillus* sp. *Food Chemistry*: X. 2021; 13: 100193. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100193>

9. Calvillo A., Pellicer T., Carnicer M., Planas A. Bioprocess Strategies for Vitamin B₁₂ Production by Microbial Fermentation and Its Market Applications. *Bioengineering*. 2022; 9(8): 365. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9080365>
10. Calvillo Á., Pellicer T., Carnicer M., Planas A. Developing a single-stage continuous process strategy for vitamin B₁₂ production with *Propionibacterium freudenreichii*. *Microbial Cell Factories*. 2023; 22: 26. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02029-x>
11. Abdel-Baki R.M.M., Ahmed M.N., Barakat O.S., Khalafalla G.M. Enhanced vitamin B₁₂ production by isolated *Bacillus* strains with the application of response surface methodology. *BMC Biotechnology*. 2024; 24: 90. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00919-5>
12. Dudko D., Milker S., Holtmann D., Buchhaupt M. Identification of vitamin B₁₂ producing bacteria based on the presence of *bluB/cobT2* homologues. *Biotechnology Letters*. 2023; 45(4): 563–572. <https://doi.org/10.1007/s10529-023-03362-2>
13. Xia W., Chen W., Peng W.-f., Li K.-t. Industrial vitamin B₁₂ production by *Pseudomonas denitrificans* using maltose syrup and corn steep liquor as the cost-effective fermentation substrates. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2015; 38(6): 1065–1073. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1348-5>
14. Gomes Soares M., Bevilacqua G.C., Marcondes Tassi É.M., Reolon Schmidt V.C. Fermented foods and beverages: a potential *in situ* vitamin B₁₂ biofortification — a literature review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2023; 74(6): 655–667. <https://doi.org/10.1080/09637486.2023.2248422>
15. Moore S.J. *et al.* Elucidation of the anaerobic pathway for the corrin component of cobalamin (vitamin B₁₂). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110(37): 14906–14911. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308098110>
16. Zhang R. *et al.* Oxygen determines the requirement for cobalamin but not riboflavin in the growth of *Propionibacterium freudenreichii*. *Scientific Reports*. 2025; 15: 27679. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-12983-8>
17. Zhou J. *et al.* VB12Path for Accurate Metagenomic Profiling of Microbially Driven Cobalamin Synthesis Pathways. *mSystems*. 2021; 6(3): e0049721. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00497-21>
18. Woodson J.D., Zayas C.L., Escalante-Semerena J.C. A New Pathway for Salvaging the Coenzyme B₁₂ Precursor Cobinamide in Archaea Requires Cobinamide-Phosphate Synthase (CbiB) Enzyme Activity. *Journal of Bacteriology*. 2003; 185(24): 7193–7201. <https://doi.org/10.1128/jb.185.24.7193-7201.2003>
19. Yang Y., Tsui H.-C.T., Man T.-K., Winkler M.E. Identification and Function of the *pdxY* Gene, Which Encodes a Novel Pyridoxal Kinase Involved in the Salvage Pathway of Pyridoxal 5'-Phosphate Biosynthesis in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*. 1998; 180(7): 1814–1821. <https://doi.org/10.1128/jb.180.7.1814-1821.1998>
20. Woodson J.D., Reynolds A.A., Escalante-Semerena J.C. ABC transporter for corrinoids in *Halobacterium* sp. strain NRC-1. *Journal of Bacteriology*. 2005; 187(17): 5901–5909. <https://doi.org/10.1128/jb.187.17.5901-5909.2005>
21. Kanehisa M., Goto S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*. 2000; 28(1): 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
22. Rebezov M.B. Application of mathematical modeling methods in the design of fermented milk products. *Вестник Инновационного Евразийского университета*. 2024; (3): 61–69. EDN LOPCTH
23. Rebezov M.B., Temerbayeva M.V., Uryumtseva T.I. Results of mathematical analysis of experimental data fermentation of skimmed milk to produce a fermented milk product. *Вестник Инновационного Евразийского университета*. 2022; (3): 65–71. EDN WONJPW
24. Morris J.A., Lickey B.S., Liptak M.D. Insertion of cobalt into tetrapyrroles. *Vitamins and Hormones*. 2022; 119: 1–22. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.01.013>
25. Zhang Y., Li X., Wang Z., Wang Y., Ma Y., Su Z. Metabolic Flux Analysis of Simultaneous Production of Vitamin B₁₂ and Propionic Acid in a Coupled Fermentation Process by *Propionibacterium freudenreichii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021; 193(10): 3045–3061. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03584-y>
26. Balabanova L., Averianova L., Marchenok M., Son O., Tekutyeva L. Microbial and Genetic Resources for Cobalamin (Vitamin B₁₂) Biosynthesis: From Ecosystems to Industrial Biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(9): 4522. <https://doi.org/10.3390/ijms22094522>
9. Calvillo A., Pellicer T., Carnicer M., Planas A. Bioprocess Strategies for Vitamin B₁₂ Production by Microbial Fermentation and Its Market Applications. *Bioengineering*. 2022; 9(8): 365. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9080365>
10. Calvillo Á., Pellicer T., Carnicer M., Planas A. Developing a single-stage continuous process strategy for vitamin B₁₂ production with *Propionibacterium freudenreichii*. *Microbial Cell Factories*. 2023; 22: 26. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02029-x>
11. Abdel-Baki R.M.M., Ahmed M.N., Barakat O.S., Khalafalla G.M. Enhanced vitamin B₁₂ production by isolated *Bacillus* strains with the application of response surface methodology. *BMC Biotechnology*. 2024; 24: 90. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00919-5>
12. Dudko D., Milker S., Holtmann D., Buchhaupt M. Identification of vitamin B₁₂ producing bacteria based on the presence of *bluB/cobT2* homologues. *Biotechnology Letters*. 2023; 45(4): 563–572. <https://doi.org/10.1007/s10529-023-03362-2>
13. Xia W., Chen W., Peng W.-f., Li K.-t. Industrial vitamin B₁₂ production by *Pseudomonas denitrificans* using maltose syrup and corn steep liquor as the cost-effective fermentation substrates. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2015; 38(6): 1065–1073. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1348-5>
14. Gomes Soares M., Bevilacqua G.C., Marcondes Tassi É.M., Reolon Schmidt V.C. Fermented foods and beverages: a potential *in situ* vitamin B₁₂ biofortification — a literature review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2023; 74(6): 655–667. <https://doi.org/10.1080/09637486.2023.2248422>
15. Moore S.J. *et al.* Elucidation of the anaerobic pathway for the corrin component of cobalamin (vitamin B₁₂). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110(37): 14906–14911. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308098110>
16. Zhang R. *et al.* Oxygen determines the requirement for cobalamin but not riboflavin in the growth of *Propionibacterium freudenreichii*. *Scientific Reports*. 2025; 15: 27679. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-12983-8>
17. Zhou J. *et al.* VB12Path for Accurate Metagenomic Profiling of Microbially Driven Cobalamin Synthesis Pathways. *mSystems*. 2021; 6(3): e0049721. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00497-21>
18. Woodson J.D., Zayas C.L., Escalante-Semerena J.C. A New Pathway for Salvaging the Coenzyme B₁₂ Precursor Cobinamide in Archaea Requires Cobinamide-Phosphate Synthase (CbiB) Enzyme Activity. *Journal of Bacteriology*. 2003; 185(24): 7193–7201. <https://doi.org/10.1128/jb.185.24.7193-7201.2003>
19. Yang Y., Tsui H.-C.T., Man T.-K., Winkler M.E. Identification and Function of the *pdxY* Gene, Which Encodes a Novel Pyridoxal Kinase Involved in the Salvage Pathway of Pyridoxal 5'-Phosphate Biosynthesis in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*. 1998; 180(7): 1814–1821. <https://doi.org/10.1128/jb.180.7.1814-1821.1998>
20. Woodson J.D., Reynolds A.A., Escalante-Semerena J.C. ABC transporter for corrinoids in *Halobacterium* sp. strain NRC-1. *Journal of Bacteriology*. 2005; 187(17): 5901–5909. <https://doi.org/10.1128/jb.187.17.5901-5909.2005>
21. Kanehisa M., Goto S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*. 2000; 28(1): 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
22. Rebezov M.B. Application of mathematical modeling methods in the design of fermented milk products. *Bulletin of the Innovative University of Eurasia*. 2024; (3): 61–69. EDN LOPCTH
23. Rebezov M.B., Temerbayeva M.V., Uryumtseva T.I. Results of mathematical analysis of experimental data fermentation of skimmed milk to produce a fermented milk product. *Bulletin of the Innovative University of Eurasia*. 2022; (3): 65–71. EDN WONJPW
24. Morris J.A., Lickey B.S., Liptak M.D. Insertion of cobalt into tetrapyrroles. *Vitamins and Hormones*. 2022; 119: 1–22. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.01.013>
25. Zhang Y., Li X., Wang Z., Wang Y., Ma Y., Su Z. Metabolic Flux Analysis of Simultaneous Production of Vitamin B₁₂ and Propionic Acid in a Coupled Fermentation Process by *Propionibacterium freudenreichii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021; 193(10): 3045–3061. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03584-y>
26. Balabanova L., Averianova L., Marchenok M., Son O., Tekutyeva L. Microbial and Genetic Resources for Cobalamin (Vitamin B₁₂) Biosynthesis: From Ecosystems to Industrial Biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(9): 4522. <https://doi.org/10.3390/ijms22094522>

ОБ АВТОРАХ

Ринат Ильгидарович Фаткуллин¹

кандидат технических наук, доцент кафедры
пищевых и биотехнологий
fatkullinri@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1498-0703>

Ирина Валерьевна Калинина¹

доктор технических наук, профессор кафедры пищевых
и биотехнологий, доцент
kalininaiv@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6246-9870>

Наталья Владимировна Науменко¹

доктор технических наук, профессор кафедры
пищевых и биотехнологий, доцент
naumenkonv@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9520-3251>

Георгий Константинович Одинцов²

аспирант
georgy.poluyan@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0009-7267-7591>

Софья Александровна Ханнанова²

аспирант
soficoooo@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4970-3634>

Нелли Ильгидаровна Фаткуллина¹

студент кафедры пищевых и биотехнологий,
9085792711@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-5312-3856>

¹Южно-Уральский государственный университет,
пр-т им. Ленина, 76, Челябинск, 454080, Россия

²Университет ИТМО,
Кронверкский проспект, д. 49, литер А, Санкт-Петербург,
197101, Россия

ABOUT THE AUTHORS

Rinat Ilgidarovich Fatkullin¹

Candidate of Technical Sciences,
Associate Professor,
fatkullinri@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1498-0703>

Irina Valerievna Kalinina¹

Doctor of Technical Sciences,
Professor, Associate Professor,
kalininaiv@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6246-9870>

Natalya Vladimirovna Naumenko¹

Doctor of Technical Sciences,
Associate Professor,
naumenkonv@susu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9520-3251>

Georgiy Konstantinovich Odintsov²

PhD student
georgy.poluyan@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0009-7267-7591>

Sofya Alexandrovna Khannanova²

PhD student
soficoooo@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4970-3634>

Nelli Ilgidarovna Fatkullina¹

student
9085792711@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-5312-3856>

¹South Ural State University,
76 Lenin Prospect, Chelyabinsk, 454080, Russia

²ITMO University,
49A Kronverksky Prospect, Saint Petersburg, 197101, Russia

Подпишитесь на печатные выпуски «АГРАРНОЙ НАУКИ» с любого месяца и на любой срок

» В РЕДАКЦИИ по тел. +7 (495) 777-67-67, доб. 1453,
по agrovetpress@inbox.ru

» В АГЕНТСТВЕ ПОДПИСКИ
ООО «Урал-Пресс Округ»
<https://www.ural-press.ru/catalog/>

» БЕСПЛАТНАЯ ПОДПИСКА
НА ЭЛЕКТРОННУЮ ВЕРСИЮ
на отраслевом портале
<https://agrarayanauka.ru/rassylka-zhurnala/>

» ПОДПИСКА НА АРХИВНЫЕ НОМЕРА
И ОТДЕЛЬНЫЕ СТАТЬИ
на сайте Научной электронной библиотеки
www.elibrary.ru

