

VITAMINOK



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

VITAMINOK

Primer metabolitok, olyan létfontosságú mikrotápanyagok, amelyeket az emberi szervezet nem képes elegendő mennyiségben előállítani, ezért az étkezéssel kell bevinni.

Felhasználásuk:

- Gyógyszerként terápiában
- Élelmiszerek komplettálása
- Élelmiszeraladék (pl. színezék, antioxidáns)
- Takarmányozás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

VITAMINOK

Gyártási eljárások:

- Extrakció
- Kémiai szintézis
- Fermentáció

Legfontosabb biotechnológiai úton előállított vitaminok:

- B₂ vitamin
- B₁₂ vitamin
- C-vitamin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

B₂-vitamin (riboflavin)

1933-ban izolálták tejsavóból (laktoflavin)

Források: tej, tojás, máj, vese, zöldségek

Hiánya növekedési ill. látászavart valamint dermatitist (bőrgyulladást, pellagrát) okoz.

A B₂ vitamin a FAD és a FMN koenzim része (ld. citrát-kör). A molekula egy alloxazin-származék, amely redox-rendszert alkot. Az oxidált forma színes (vöröses-barna), a redukált forma viszont színtelen.

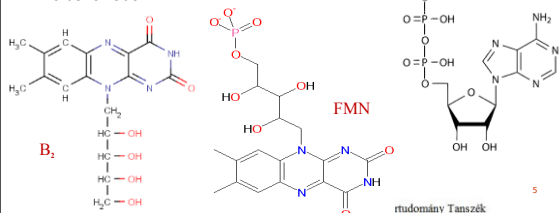


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

B₂-vitamin szerkezete

A molekula két részből áll: a 6,7-dimetil-izalloxazinnól és az ehhez N-glükózidos kötéssel kapcsolódó ribit (cukor-származék) oldalláncból.



5

A B₂-vitamin előállítása

Többféle úton:

- kémiai szintézis
- félszintetikus (ribóz + alloxazin)
- de novo fermentáció (túlnyomórészt)

Törzsek:	titer (g/l)
<i>Eremothecium ashbyii</i>	2,5
<i>Ashbya gossypii</i> (BASF)	6,5-15
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	17,4
<i>Bacillus subtilis</i> Marburg 168 (DSM)	15
<i>Bacillus subtilis</i> (VNI1304, orosz)	4,5
<i>Bacillus subtilis</i> Y32 (kínai)	3
<i>Bacillus subtilis</i> RH33 (kínai)	12



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

Szerkezete

A szerkezet erős hasonlóságot mutat a hem-csoporttal, de:

- Az A-D gyűrű között nincs metilén híd
- a tetrapirrol váz közepén itt egy kobalt ion helyezkedik el, amelyhez a váz síkja felett az adott kobalaminra jellemző R-csoport, a váz síkja alatt pedig egy benzimidazol gyűrű kötődik.

10

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

R	Molekula neve (szerep)
-CN	Cianokobalamin (B ₁₂ -vitamin)
-OH	Hidroxokobalamin (B ₁₂ -vitamin)
-CH ₃	Metilkobalamin
*	5-Dezoxidadenozil-kobalamin = kobamamid (B ₁₂ -koenzim)

Cianokobalamin	3,5 t/év
Hidroxikobalamin	2 t/év
B ₁₂ -koenzim	1 t/év
Metil-kobalamin	0,5 t/év

Előállítás

A tetrapirrol váz bioszintézise az elején azonos a B₁₂ vitaminnál, a hemnél és a klorofilloknál. Az ilyen bonyolult (30 lépés) és elágazó anyagcsereutaknál genetikai manipulációval sem lehet számottevő termékconcentrációt elérni (csak mg/l).

Vad törzseknel:

- sztreptomycin fermentáció levében melléktermékeként (1 mg/l) (*Streptomyces olivaceus*)
- szennyvíztisztító anaerob rothasztójából vett iszap (2-5 mg/kg biomassa)

12

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Fermentációs technológiák

De novo bioszintézissel:

1. *Propionibacterium freudenreichii* (200 mg/l),
Propionibacterium shermanii (60 mg/l)

Kétlépcsős fermentáció:

1. Anaerob szakasz, 2-4 nap
 2. Aerob szakasz 1-3 nap
- Termékinhibíció, mert sok propionsavat termel (10%)
Intracelluláris termék, feltárás 10-30 p, 80-120 °C,
Hidroxikobalamin → cianokobalamin konverzió



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

Fermentációs technológiák

2. *Pseudomonas denitrificans*

2 éves törzsfeljesztés: 0,6 → 60 mg/l, de 2-3 nap alatt
Átvitt gének heterológ expressziója
Növekedéshez kötött termékképzés
5,6-benzimidazol (prekurzor) + betain (permeabilitás)

3. *Rhodopseudomonas protamivicus*
Protaminobacter ruber és a *Rhodopseudomonas spheroides* hibridje, mesterséges törzs



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Fermentációs technológiák

4. Metanolhasznosító vegyes tenyészetekkel
Szennyvíziszapból metanollal szelektálják a törzseket
→ mert C1-átvivő

Vegyes metanolhasznosítók: együtt jobb a termelés,
mint izolálva (~35 mg/kg) Richter, Dorogon
Anaerob, félfolytonos
Igen olcsó, mert nem kell levegőztetni, kevertetni, sterilizni (MeOH), óriási tartályok.

Sejtfeltárás hőkezeléssel
A hidroxikobalaminat cianiddal alakítják át.

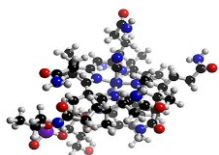


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

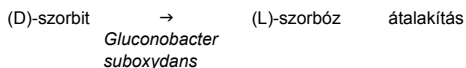
B₁₂- felhasználás

- Humán gyógyászat – vészes vérszegénység
- Takarmányozás – növényi takarmányok komplementálása (nem kell izolálni, mehet a sejtömegeggel együtt)



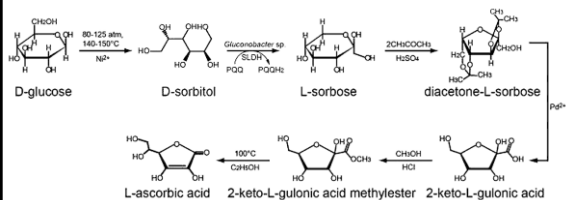
C-vitamin

Szent-Györgyi Albert
 1928 mellékveséből
 Redox-rendszer (antioxidáns),
 gyökfogó
 Az éves világertermelés:
 60-70 000 t/év
 Többlépcsős a kémiai szintézis,
 benne egyetlen biokonverziós lépés a:



C-vitamin gyártás

Hat lépéses szintézis, nagyon vegyéses:



C-vitamin gyártás

Benne egyetlen biokonverziós lépés a:

$$\begin{array}{ccc}
 \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} & \xrightarrow[\text{Acetobacter}]{-2[\text{H}]} & \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} \\
 \text{(D)-sorbit} & \rightarrow & \text{(L)-sorboz} \\
 & \text{Gluconobacter} & \\
 & \text{suboxydans} &
 \end{array}$$

Bertrand-szabály!

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

C-vitamin gyártás

Alternatív út: a glükózból két konverziós lépésben:

$$\begin{array}{ccccc}
 \begin{array}{c} \text{CHO} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} & \xrightarrow{E. \text{hereticus}} & \begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} & \xrightarrow{\text{Corynebacterium sp.}} & \begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} \\
 \text{D-Glucose} & & \text{2,5-Diketo-gluzonon acid} & & \text{2-Keto-L-gulonon acid} \\
 & & & & \text{recombinant Erwinia herbicola}
 \end{array}$$

A második enzimet klónozták az Erwinia-ba – egy lépésben megy.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20
