

2. Aminosavak - treonin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az aminosavak felhasználása

- nátrium-glutamát → ízfokozó (Delikát, Vegeta)
- lizin, metionin, treonin, triptofán →
takarmány- és ételmeiszerkiegészítő
- aszparaginsav és fenilalanin →
aszpartám édesítőszer gyártásához
- cisztein és triptofán → antioxidáns
(gyümölcslé, tejpor)
- tápszerek, infúziós oldatok,
gyógyszerek

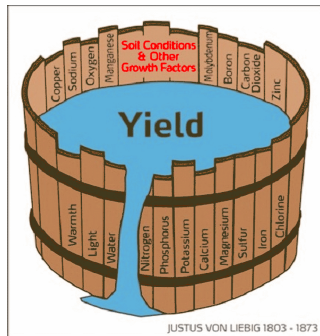


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Liebig minimumtvörvénye

Justus von Liebig (1873):
ha egyetlen tápanyagkomponensből is hiány van, a növények növekedése korlátozott, még akkor is, ha az összes többi tápanyag megfelelő mennyiségben jelen van. A növények növekedése akkor fokozódik, ha a hiányos tápanyagot hozzáadjuk.



JUSTUS VON LIEBIG 1803 - 1873



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Táp(lálék)kiegészítés

Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:

<Unbalanced barrel>

When animals are given feeds that are deficient in even one of the amino acids needed, the body cannot effectively use the other amino acids and they will be excreted.

<Barrel with added lysine>

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 4

Táp(lálék)kiegészítés

A növényi eredetű (gabona) takarmány nem teljes értékű fehérje – esszenciális aminosavakból kevés van benne. A hasznosulást mindig a legkisebb mennyiségben jelenlévő szabja meg (limitáló szubsztrát).

A teljes értékű fehérje (hallszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle → a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 5

Aminosavak előállítása

Fehérje-hidrolizátumokból: cisztein, leucin, aszparaginsav, tirozin, glutaminsav

Kémiai szintézissel: metionin, glicin, alanin, triptofán (rezolválás szükséges)

Biotechnológiai úton:

- Direkt fermentációval: vad törzs, auxotróf és regulátor-mutáns változatait használják pl: glutaminsav, lizin
- Prekurzor adagolással: + olyan vegyület, amelyet a sejt beépít a termék molekulába
- Enzimes, sejtes biotranszformációval: egyetlen biokémiai lépés

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 6

Az aminosavgyártás története

1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)
 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzsszel (Kinoshita, Japán)
 1981: a világon összesen 365.000 t aminosavat állítottak elő
 1998: évi 1,5 millió tonna = 1,7 milliárd USD
 A 17 nagy gyártó cégből 13 japán tulajdonú.
 2006-2007: az Ajinomoto a piac 60%-át uralja az utolsó pénzügyi évben nettó eladás 10¹⁰ USD
 23 országban 121 gyár 30000 munkahely
 Magyarországon is: Evonik (Degussa), Kaba, 40.000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

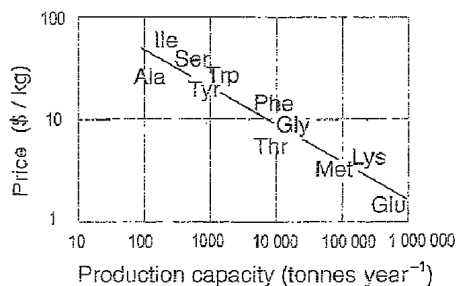
| Mennyiség t/év | Aminosav | Alkalmazott eljárás | Felhasználás |
|----------------|----------------|------------------------|------------------------------|
| 1.000.000 | L-Glutaminsav | Fermentáció | Ízfokozó |
| 350.000 | L-Lizin | Fermentáció | Tak.kiegészítő |
| 350.000 | D,L-Metionin | Kémiai szintézis | Tak.kiegészítő |
| 75.000 | L-Treonin | Fermentáció | Tak.kiegészítő |
| 10.000 | L-Asparaginsav | Enzimes konverzió | Aszpartám |
| 10.000 | L-Fenilalanin | Fermentáció | Aszpartám |
| 10.000 | Glicin | Kémiai szintézis | Tápl.kiegészítő, édesítőszer |
| 3.000 | L-Cisztein | Cisztin-redukció | Tápl.kiegészítő, gyógyszer |
| 1.000 | L-Arginin | Fermentáció, extrakció | Gyógyszergyártás |
| 500 | L-Leucin | Fermentáció, extrakció | Gyógyszergyártás |
| 500 | L-Valin | Fermentáció, extrakció | Gyógyszergyártás |
| 300 | L-Triptofán | Nyugósejtes konverzió | Gyógyszergyártás |
| 300 | L-Izoleucin | Fermentáció | Gyógyszergyártás |



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Itt is érvényes a mennyiség-ár kapcsolat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering

A primer metabolitok előállításánál a génállományt úgy változtatják meg, hogy:

1. A bioszintézis út elágazásait lezárják, ezáltal minden anyag a céltermék irányába áramlik (auxotróf mutánsok)
2. A terméket továbbalakító reakciólépéseket eliminálják (auxotróf mutánsok).

Ha ezek létfontosságú molekulák előállítását érintik, akkor leaky (szívárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

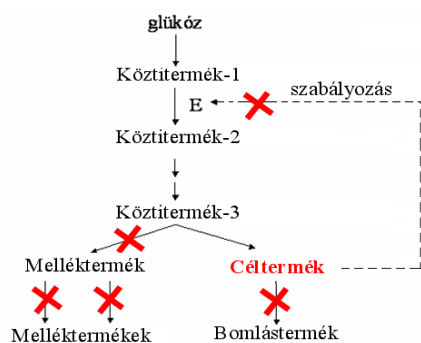
3. Felfüggesztik a túltermelést megakadályozó mechanizmusokat (antimetabolit rezisztens mutánsok)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

Ipari mutáns törzsek jellemzői

| AS | Törzs | Genetikai jellemzők | Kihoz (g/l) | C-forrás |
|-----|-----------------------------------|---|-------------|-------------------|
| Arg | <i>Brevibacterium flavum</i> | Gua ^r , Ta ^r | 35 25 | Glükóz Ecetsav |
| Glu | <i>Corynebacterium glutamicum</i> | Vad törzs | >100 | Glükóz |
| | <i>Brevibacterium flavum</i> | | 98 | Ecetsav |
| | <i>Arthobacter paraffineus</i> | | 82 | n-paraffin |
| Lys | <i>Corynebacterium glutamicum</i> | Hom ^r , Leu ^r , AEC ^r | 39 | Glükóz |
| | <i>Brevibacterium flavum</i> | AEC ^r | 57 | Szacharóz |
| | <i>Brevibacterium flavum</i> | Hom ^{leaky} , Thr ^r | 75 | Ecetsav |
| Trp | <i>Corynebacterium glutamicum</i> | Phe ^r , Tyr ^r , 5MTrp ^r , 6FTrp ^r | 12 | Glükóz |



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

Tipikus fermentációs technológia

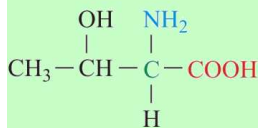
A fermentáció:
 Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m³)
 Rátáplálásos technológia
 pH szabályozás (lúg, karbamid, ammónia)
 Steril körülmények
 Fágok elleni védekezés
 AS feldolgozás jellemző műveletei: izoelektromos ponton történő kicsapás, ioncserés kromatográfia, elektro dialízis, szerves oldószeres extrakció



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

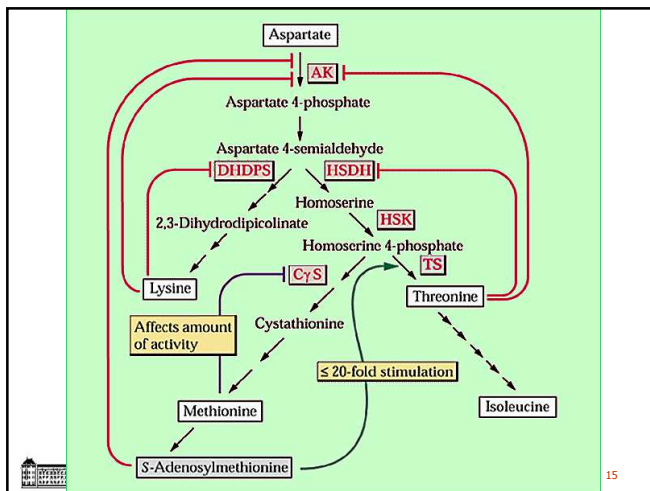


Felhasználása: takarmány kiegészítő. Esszenciális aminosav, a kukoricában nagyon kevés van (csíra: 0,38%, szójadara: 1,81%). A megfelelő: 0,75% → érdemes komplettálni. A harmadik legnagyobb mennyiségben fermentált aminosav, ~80.000 t/év. Az ár erősen ingadozik 2-7 USD/kg között.
 Törzs: *E. coli*, erős genetikai manipulációval



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14



15

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

A modern anyagcsere-mérnökség is hasonlóan dolgozik, mint a klasszikus:

- meg kell akadályozni az anyagáramot Lys és Met irányába
- meg kell akadályozni a továbbalakulást:
 - Ile irányába (leaky mutáns, ~1% enzimaktivitás maradt)
 - megszüntetni a Thr-dehidrogenáz termelést (→ Gly)
- hibás szabályozású mutánsokat keresnek antimetabolit-rezisztenciával (α -amino- β -hidroxivaleriansav, AHV)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Emellett:

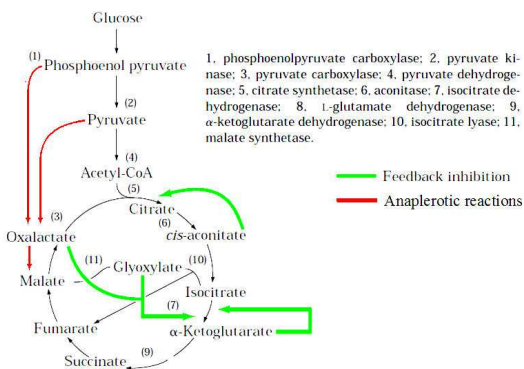
- a treonin út utolsó három enzimét (thrABC operon) pluszban plazmidaal viszik be, sok kópiában.
- fokozzák az aminosav transzportot kifelé a sejtől, és gyengítik befelé
- Az anaplerotikus reakció (PEP-karboxiláz) szabályozását (Asp) megszüntetni
- a fordított anaplerotikus lépést (oxálacetát → PEP + CO₂), (külön enzim, külön génje van) is ki kell ejteni



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

Anaplerotikus reakciók



18

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Fermentáció:

Az optimális biotin szint itt is alapvető (adásával háromszorosára nőtt a Thr termelés).

Igen jó keverés-levegőztetés szükséges, mert az *E. coli* érzékeny az aerob-anaerob váltásokra → ne legyen holt tér

Rátáplálásos és félfolytonos-rátáplálásos technikák.

Termék: ~65 g/l (laborban: ~100 g/l) hozam: ~0,48

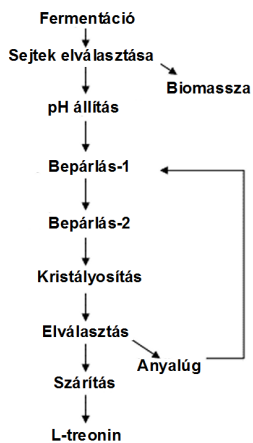


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Feldolgozás: nem bomlékony anyag, bepárlással koncentrálnálható



BME Alkalmazott Biotechnol
