

VITAMINOK



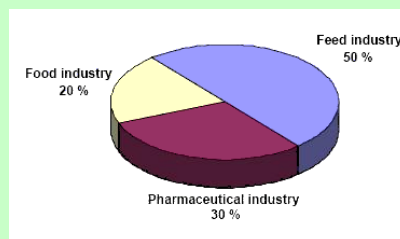
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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



B₂-vitamin (riboflavin)

1933-ban izolálták tejsavóból (laktoflavin)

Források: tej, tojás, máj, vese, zöldségek

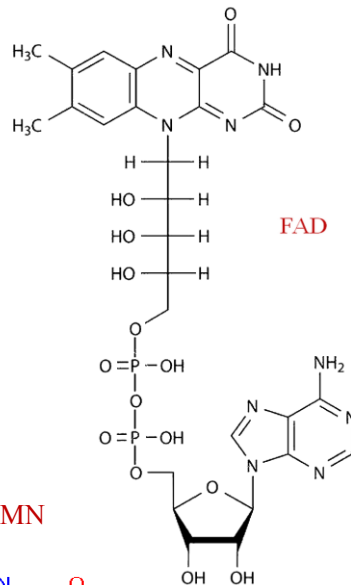
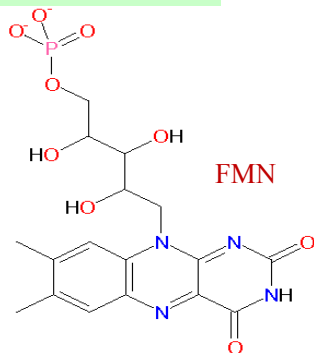
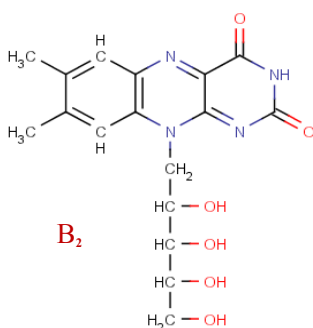
Hiánya növekedési ill. látászavart valamint dermatitist (bőrgyulladást, pellagrát) okoz.

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.



B₂-vitamin szerkezete

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



domány Tanszék

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> (VNII304, orosz)	4,5
<i>Bacillus subtilis</i> Y32 (kínai)	3
<i>Bacillus subtilis</i> RH33 (kínai)	12



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

A B₂-vitamin bioszintézise

A de novo bioszintézishez két fontos metabolitra van szükség:

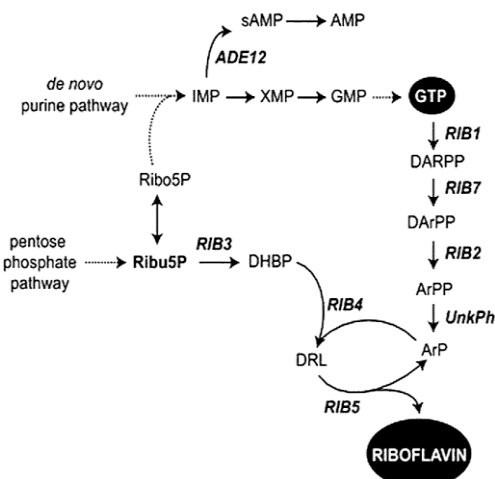
- GTP-re és
- Ribulóz-5-foszfátra.

Ezek túlermelését kell előidézni. A GTP-ét úgy, hogy a többi nukleotid ne akkumulálódjon, a pentóz-foszfát ciklust úgy, hogy Ru5P-t termeljen.

A feltüntetett enzimeket mind manipulálták.



BME Alkalmaz



Riboflavin fermentáció *B. subtilis* törzsszel

Rátáplálásos fermentációk, glükóz vagy melasz szénforráson.

A riboflavin kiválasztódik a fermentlébe és kikristályosodik (oldhatósága csak 80-100 mg/l).

Kristályfermentáció, 48 óra alatt eléri a 15 g/l-t is.

A hozamok cukorra számolva alacsonyak, 5-10% között.

Feldolgozás: a sejteket hőkezeléssel előlik, majd differenciál centrifugálással elválasztják a sejtömeget és a sárga tús kristályokat. Meleg savas mosással 96%-os tisztaságú termék állítható elő. Átkristályosítással 99%-os, élelmiszer minőségű terméket kaphatunk.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

B₁₂-vitamin (kobalamin)

Minot és Murphy máj extraktummal már 1926-ban sikeresen gyógyította a vészes vérszegénységet (B₁₂-hiány). A bélmikroflóra is termeli a vastagbélben, de onnan nem szívódik fel.

Szerepe: THF-hez hasonlóan C₁-átvivő koenzim

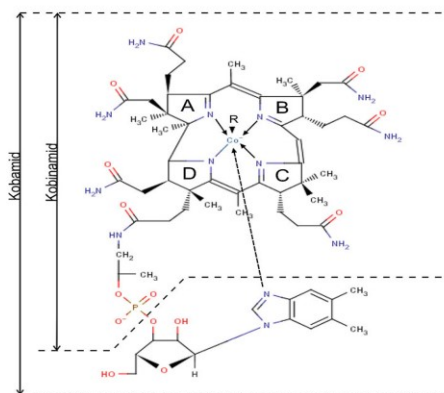
A kobalaminok szerkezetének alapját a porfirinekhez hasonló koringyűrű adja (tetrapirrol váz).

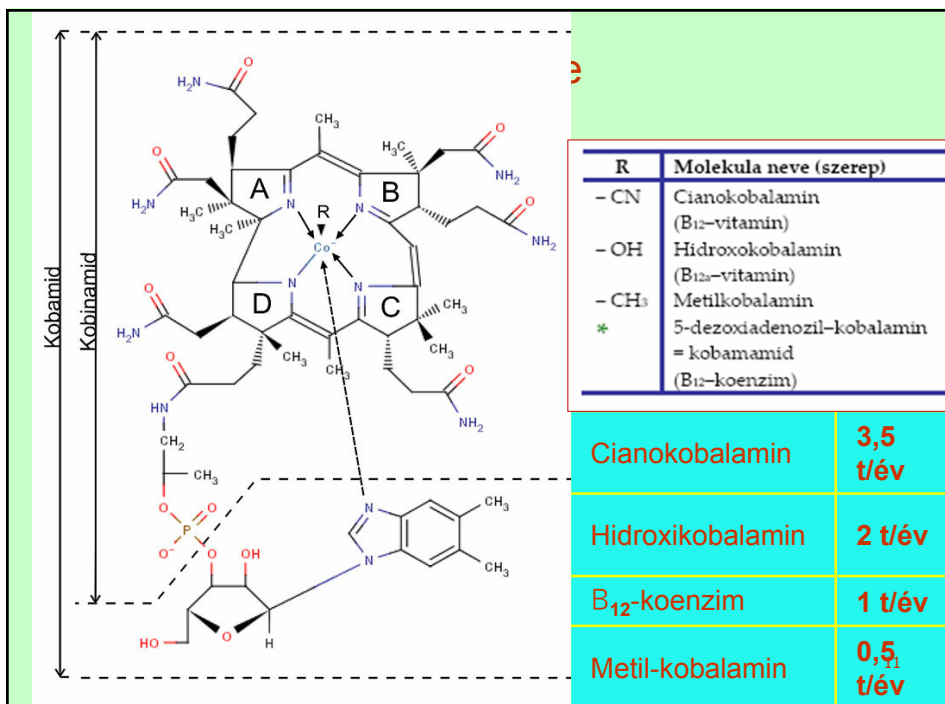


Szerkezete

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.





Előállítás

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

Vad törzseknél:

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



Fermentációs technológiák

De novo bioszintézissel:

1. *Propionibacterium frendenreichii* (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



Fermentációs technológiák

2. *Pseudomonas denitrificans*

2 éves törzsfelnevelés: 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 protamicus*

Protaminobacter ruber és a *Rhodopseudomonas spheroides* hibridje, mesterséges törzs



Fermentációs technológiák

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

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

Sejtfeltárás hőkezeléssel
 A hidroxikobalamint cianiddal alakítják át.

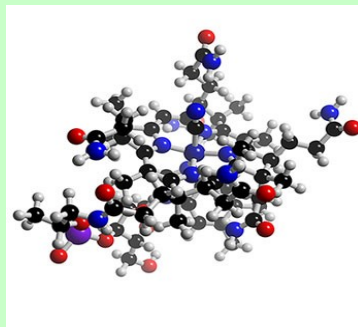


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

B₁₂- felhasználás

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

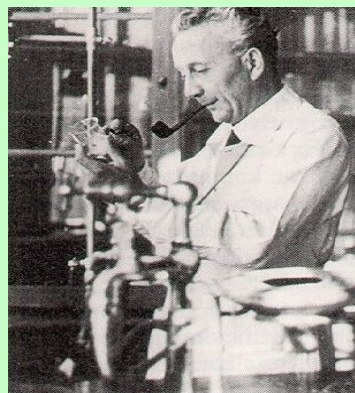


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

C-vitamin

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



(D)-szorbit → (L)-szorbóz átalakítás
Gluconobacter suboxydans

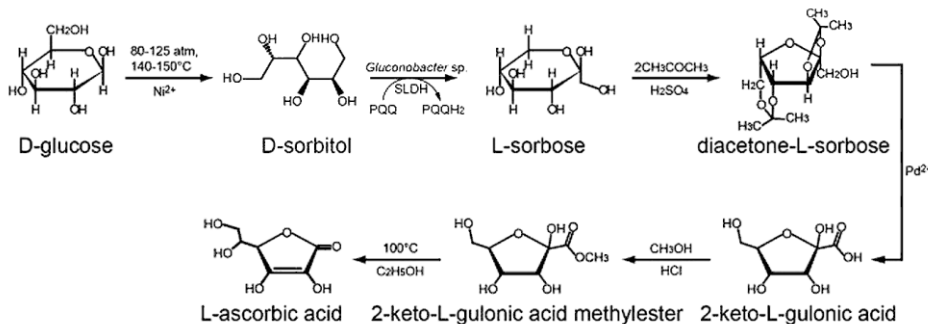


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

C-vitamin gyártás

Hat lépéses szintézis, nagyon vegyéses:

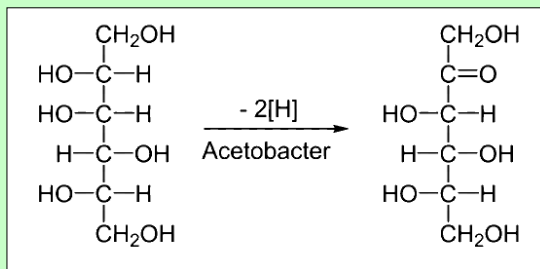


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

C-vitamin gyártás

Benne egyetlen biokonverziós lépés a:



(D)-szorbit → (L)-szorbóz

*Gluconobacter
suboxydans*

Bertrand-szabály!

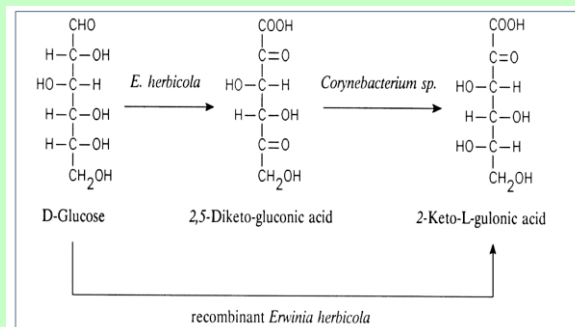


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

C-vitamin gyártás

Alternatív út: a glükózból két konverziós lépésben:



A második enzimet klónozták az Erwiniába – egy lépésben megy.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20