

VITAMINOK



B₂-vitamin (riboflavin)

1933-ban izolálták tejsavóból (laktoflavin)

Forrásai: tej, tojás, máj, vese, zöldségek

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

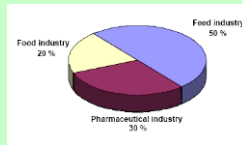
A B₂ vitamin a FAD és a FMN koenzim része (ld. citrát-kör). A molekula egy alloxazin-származék, amely redox-rendszert alkot. Az oxidált forma színes (vöröses-barna), a redukált forma viszont színtelen.

VITAMINOK

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

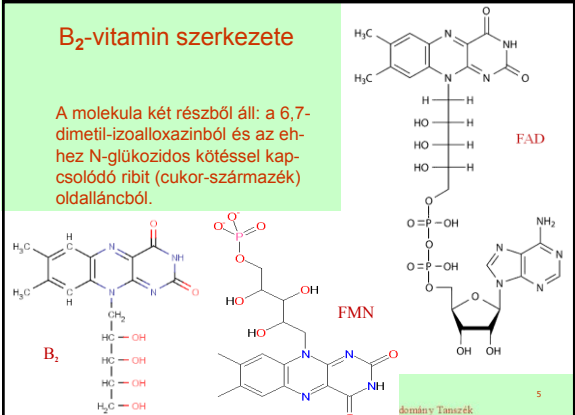
Felhasználásuk:

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



B₂-vitamin szerkezete

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



VITAMINOK

Gyártási eljárások:

- Extrakció
- Kémiai szintézis
- Fermentáció

Legfontosabb biotechnológiai úton előállított vitaminok:

- B₂ vitamin
- B₁₂ vitamin
- C-vitamin

A B₂-vitamin előállítása

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

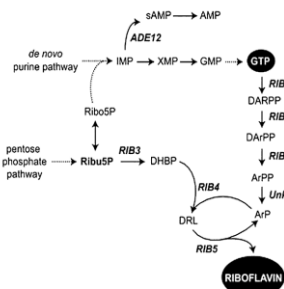
Törzsek:	titer (g/l)
<i>Eremothecium ashbyii</i>	2,5
<i>Ashbya gossypii</i> (BASF)	6,5-15
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	17,4
<i>Bacillus subtilis</i> Marburg 168 (DSM)	15
<i>Bacillus subtilis</i> (VNII304, orosz)	4,5
<i>Bacillus subtilis</i> Y32 (kínai)	3
<i>Bacillus subtilis</i> RH33 (kínai)	12

A B₂-vitamin bioszintézise

A de novo bioszintézishez két fontos metabolitra van szükség:

- GTP-re és
- Ribulóz-5-foszfátra.

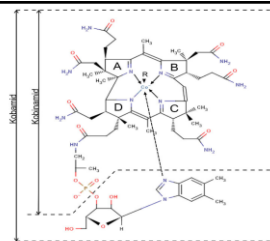
Ezek túlermelését kell előidézni. A GTP-ét úgy, hogy a többi nukleotid ne akkumulálódjon, a pentóz-foszfát ciklust úgy, hogy Ru5P-t termeljen. A feltüntetett enzimeket mind manipulálták.



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.



Riboflavin fermentáció *B. subtilis* törzsszel

Rátáplálásos fermentációk, glükóz vagy melasz szénforráson.

A riboflavin kiválasztódik a fermentálé 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.

R	Molekula neve (szerep)
-CN	Cianokobalamin (B ₁₂ -vitamin)
-OH	Hidroxokobalamin (B ₁₂ -vitamin)
-CH ₃	Metilkobalamin
*	5-dezoxiadenozil-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

B₁₂-vitamin (kobalamin)

Minot és Murphy máj extraktummal már 1926-ban sikeresen gyógyította a 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).

Előállítás

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

Vad törzseknel:

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

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,
Hidroxi kobalamin → cianokobalamin konverzió

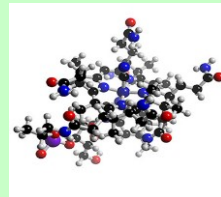


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

B₁₂- felhasználás

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

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. *Rhodospseudomonas protamicius*

Protaminobacter ruber és a *Rhodospseudomonas sphaeroides* hibridje, mesterséges törzs



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

C-vitamin

Szent-Györgyi Albert

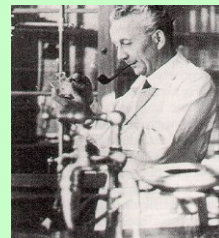
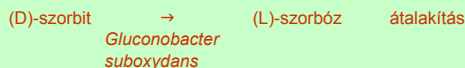
1928 mellékveséből

Redox-rendszer (antioxidáns),
gyökfogó

Az éves világtermelés:

60-70 000 t/év

Többlépcsős a kémiai szintézis,
benn egyetlen biokonverziós lépés a:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

Fermentációs technológiák

4. Metanolhasznosító vegyes tenyészetekkel

Szennyvíziszapból metanolal 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, steri-
lizálni (MeOH), óriási tartályok.

Sejtfeltárás hőkezeléssel

A hidroxikobalaminat cianidral alakítják át.

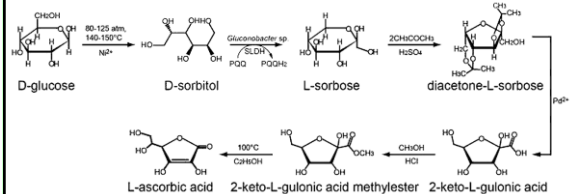


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

C-vitamin gyártás

Hat lépéses szintézis, nagyon vegyeses:

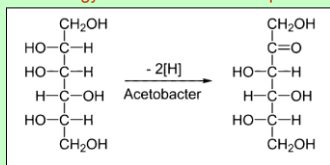


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

C-vitamin gyártás

Benne egyetlen biokonverziós lépés a:



(D)-szorbít → (L)-szorbóz
Gluconobacter suboxydans

Bertrand-szabály!

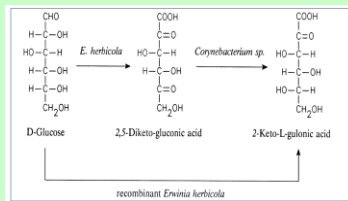


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

C-vitamin gyártás

Alternatív út: a glükózból két konverziós lépésben:



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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20