

# 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
- Élelmiszeradalék (pl. színezék, antioxidáns)
- Takarmányozás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

## VITAMINOK

### Gyártási eljárások:

- Extrakció
- Kémiai szintézis
- Fermentáció

### Legfontosabb biotechnológiai úton előállított vitaminok:

- B<sub>2</sub> vitamin
- B<sub>12</sub> vitamin
- C-vitamin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

## B<sub>2</sub>-vitamin (riboflavin)

1933-ban izolálták tejsavóból (laktoflavin)

Forrásai: tej, tojás, máj, vese, zöldségek

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

A B<sub>2</sub> 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.

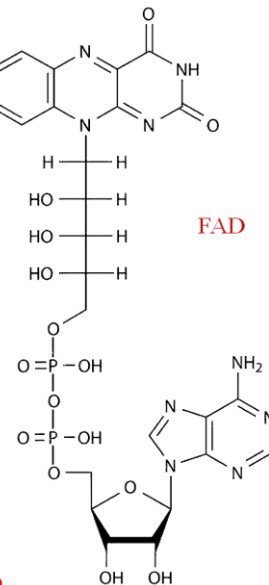
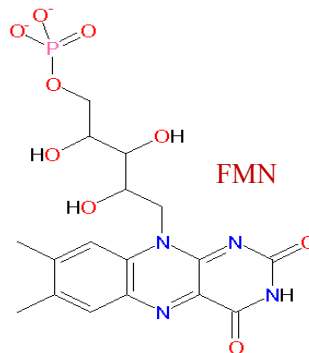
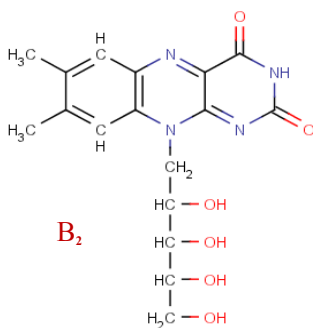


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## B<sub>2</sub>-vitamin szerkezete

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



rtudomány Tanszék

5

## A B<sub>2</sub>-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

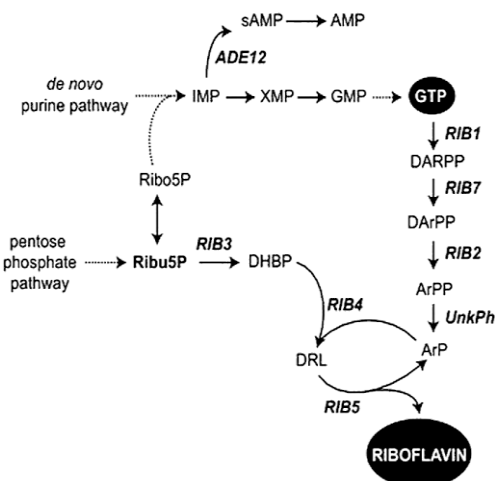
## A B<sub>2</sub>-vitamin bioszintézise

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 Alkalma

## 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

## B<sub>12</sub>-vitamin (kobalamin)

Minot és Murphy máj extraktummal már 1926-ban sikeresen gyógyította a vészes vérszegénységet (B<sub>12</sub>-hiány). A bélmikroflóra is termeli a vastagbélben, de onnan nem szívódik fel.

Szerepe: THF-hez hasonlóan C<sub>1</sub>-átvivő koenzim

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



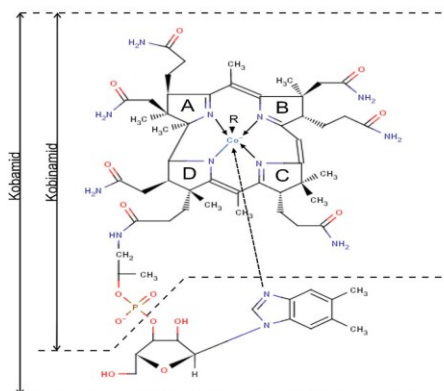
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

## Szerkezete

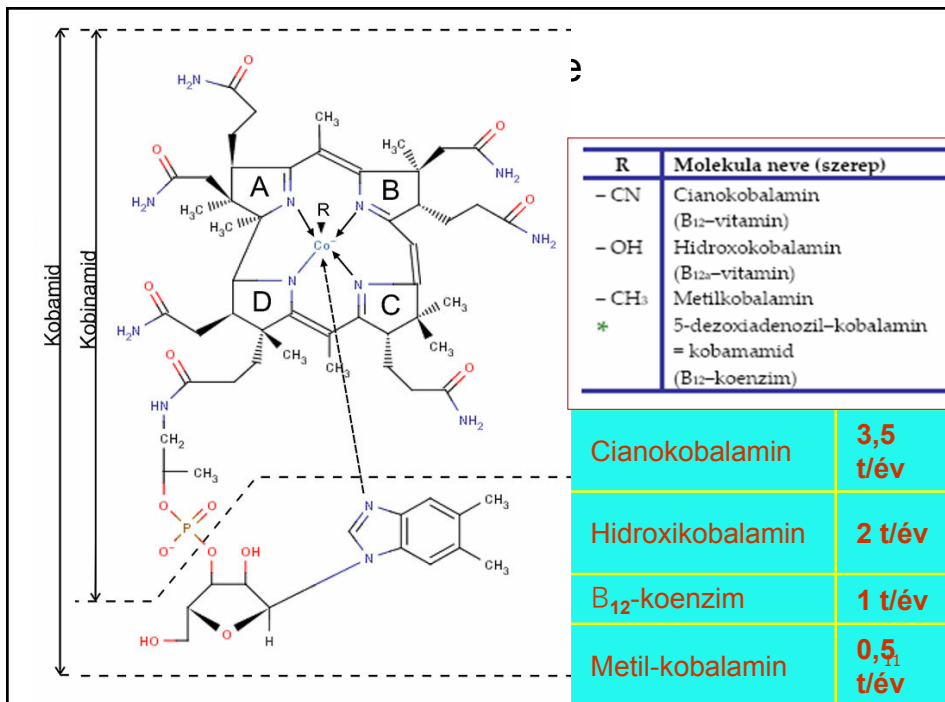
A szerkezet erős hasonlóságot mutat a hem-csoporttal, de:

- 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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10



## Előállítás

A tetrapirrol váz bioszintézise az elején azonos a B<sub>12</sub> vitaminnál, 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,  
Hidroxi kobalamin → cianokobalamin konverzió



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

## 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



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, steri-  
 lezni (MeOH), óriási tartályok.

Sejtfeltárás hőkezeléssel  
 A hidroxikobalamint cianiddal alakítják át.

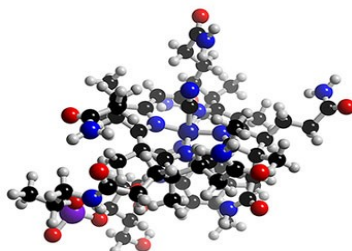


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

## B<sub>12</sub>- felhasználás

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



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*

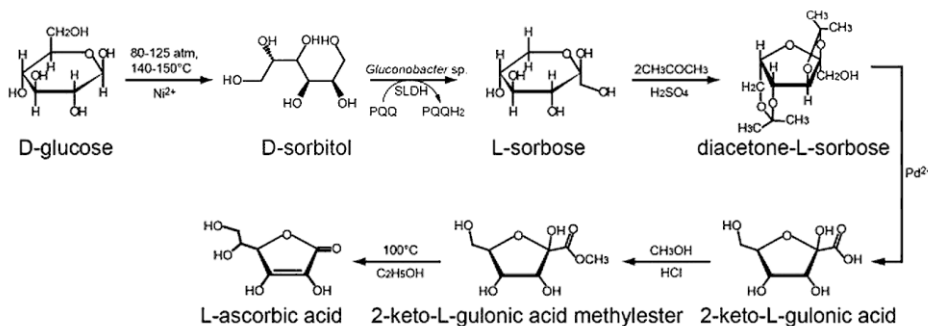


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

## C-vitamin gyártás

Hat lépéses szintézis, nagyon vegyéses:

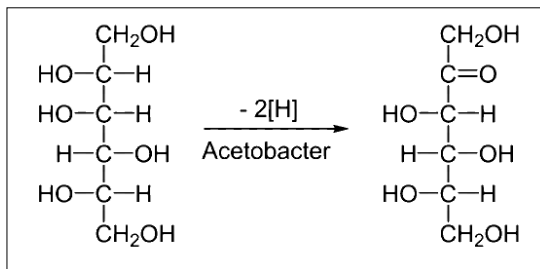


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

## C-vitamin gyártás

Benne egyetlen biokonverziós lépés a:



(D)-szorbit → (L)-szorbóz

*Gluconobacter  
suboxydans*

Bertrand-szabály!

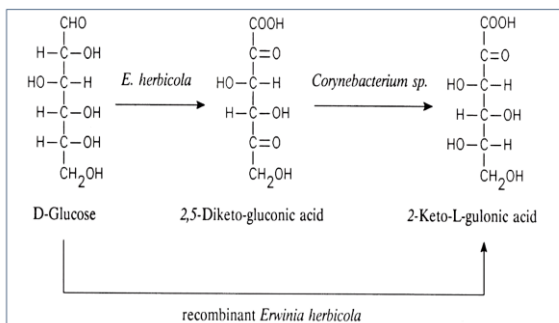


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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