Biotechnological Production of amino acids and biopeptids

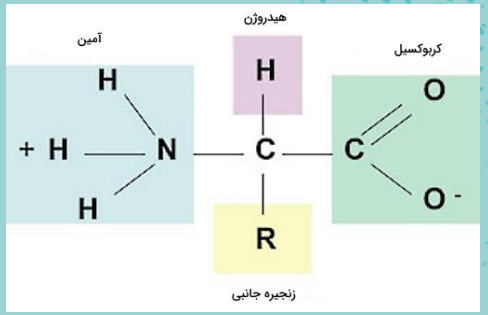
مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

گروه صنایع غذایی (کنترل کیفی و بهداشتی)

ارائه دهنده: مهدیه اسحاق زاده

استاد راهنما: دکتر پرنیان پزشکی

آمینو اسید



ضروری

لوسین، ایزولوسین، والین، لیزین، متیونین، فنیل آلانین، ترئونین، هیستیدین و تریپتوفان

نیمه ضروری

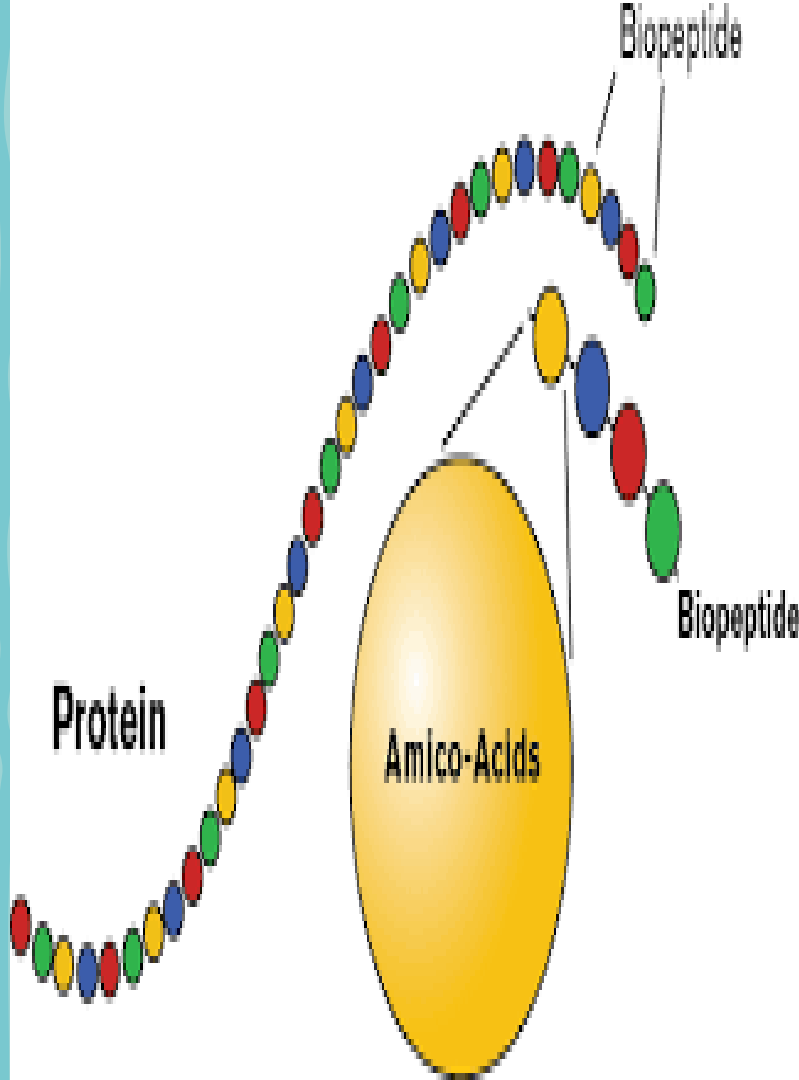
آرژینین، سیستئین، گلوتامین، تیروزین، گلایسین، پرولین و سرین

غیر ضروری

آلانین، آسپارژین، آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید، آرژنین، سیستئین، گلوتامین، گلایسین، پرولین، سرین و تیروزین

بیوپپتید

پپتیدهای زیست فعال پروتئین های کوچکی هستند که از توالی های کوتاهی از ۲-۲۰ اسید آمینه با پیوندهای کووالانسی معروف به پیوندهای آمیدی یا پپتیدی تشکیل شده اند و دارای جرم مولکولی ۰.۴-۲ کیلو دالتون هستند.



کاربرد های آمینو اسید

صنعت دارو

- آمینواسیدهای ضروری برای درمان بیماران پس از عمل به کار می روند.

صنعت غذا

- گلیسین و آلانین ← تقویت کننده طعم ومزه
- تریپتوفان و هیستیدین ← آنتی اکسیدان برای حفظ پودرشیر
- سیستئین ← آنتی اکسیدان برای حفاظت از آبمیوه ها

صنعت شیمیایی

- گلیسین به عنوان پیش ماده برای سنتز گلیفوسات و ترئونین برای ساخت ازترئونام
- پلی متیل گلوتامات برای تهیه چرم
- ساخت مواد آرایشی و بهداشتی

کاربرد های بیوپپتید

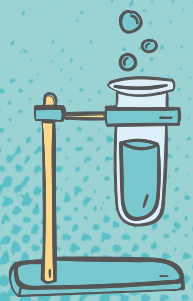
- سیستم گوارشی
- سیستم غدد درون ریز
- سیستم قلبی عروقی
- سیستم ایمنی و عصبی
- درمان بیماری ها و اختلالات مختلف
- افزودنی‌های غذایی

فرآیند های تولید آمینو اسید و پپتید

1 استخراج از پروتئین هیدرولیز شده	تولید صنعتی در مقیاس بزرگ تنها چند نوع اسید آمینه مانند L-leucine, L-cysteine, L-tyrosine
2 سنتز شیمیایی	برای تولید اسید های آمینه غیر کایرال مانند گلیسین یا مخلوط راسمیک L,D-متیونین یا L,D-آلانین
3 سنتز آنزیمی	فرآیند آنزیمی بر اساس عمل یک آنزیم یا ترکیبی از آنها برای کاتالیز کردن تولید اسید آمینه مورد نظر است.
4 تخمیر	اکثر فرآیندهای صنعتی فعلی برای تولید اسیدهای آمینه بر اساس مسیر تخمیر است. این فرآیند در مقایسه با روش های دیگر مزایای متعددی دارد.

جدول مقایسه فرآیند های تولید

فرآیند	روش	مزایا	معایب
استخراج از پروتئین هیدرولیز شده	• یک آمینو اسید را می‌توان از سایر اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌های هیدرولیز شده جدا کرد، اگر خواص آن با سایرین متفاوت باشد	• می توانند از محصولات جانبی یا ضایعات صنعتی استفاده کند • معرف های رایج مانند اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم	• تخریب احتمالی پروتئین • تولید فاضلاب • به در دسترس بودن منابع غنی از پروتئین طبیعی بستگی دارد
سنتز شیمیایی	اسیدهای آمینه که از طریق یک واکنش شیمیایی به دست می آیند	آمینو اسیدهای غیر کایرال تولید میکند	• قیمت کاتالیزور • منابع خطرناک
سنتز آنزیمی	کاربرد پروتئازها در هیدرولیز پپتید	• مقدار بسیار کمی محصول جانبی • فرآیند ساده پایین دست	• قیمت و بی ثباتی آنزیم • برای تولید اسیدهای لامینو در مقیاس صنعتی مطلوب نیست
تخمیر	• میکروارگانیسم ها قندهای موجود در یک بستر را به اسیدهای آمینه تبدیل می کنند	• تولید صنعتی در مقیاس بزرگ اکثر اسیدهای آمینه L • هزینه های پایین نگهداری کارخانه	• انرژی مورد نیاز برای انتقال و اختلاط اکسیژن • هزینه های عملیاتی بالا



مراحل فرآیند تخمیر

1-Upstream

انتخاب سوبسترا مناسب

انتخاب میکروارگانیسم مناسب

2-Midstream

Fed-batch production ،
Continuous production

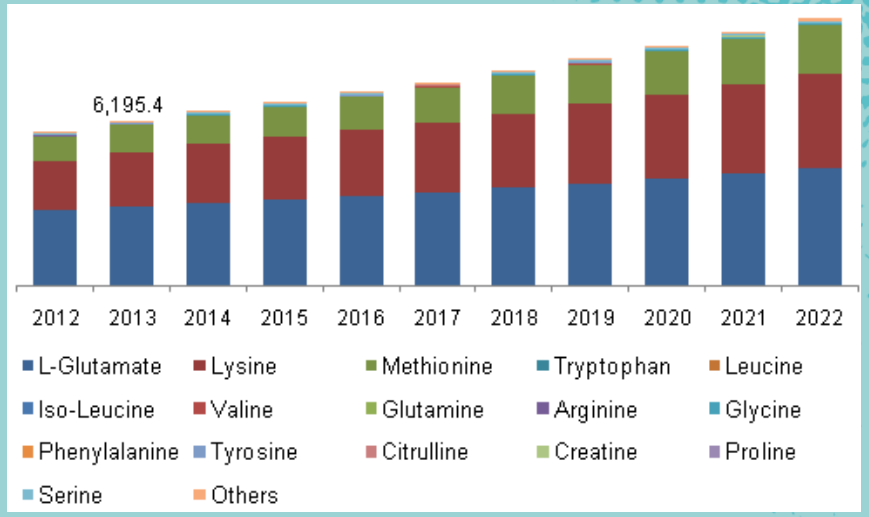
3-Downstream

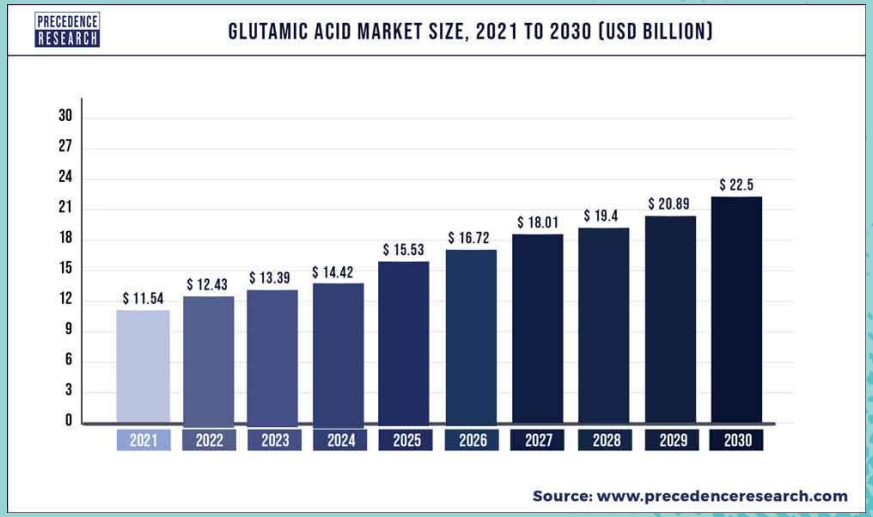
استخراج

میکروارگانیسم ها و اسیدهای آمینه هدف

میکروارگانیسم	اسید آمینه
C. glutamicum	L-Glutamic acid
E.coli	L-lysine
Pseudomonas dacunhae	L-Alanine
Bacillus subtilis	L-Arginine

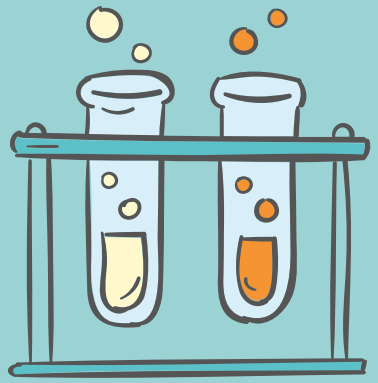
بازارجهانی اسید های آمینه





گلوتامیک اسید

- گلوتامیک اسید (Glu/E) (شکل یونی به نام گلوتامات شناخته می شود) یک αآمینو اسید است که تقریبا توسط همه موجودات زنده در بیوسنتز پروتئین ها استفاده می شود.
- این یک ماده مغذی غیر ضروری برای انسان است، به این معنی که بدن انسان می تواند به اندازه کافی برای استفاده از آن سنتز کند.
- همچنین فراوان ترین انتقال دهنده عصبی در سیستم عصبی مهره داران است.
- این ماده در سال ۱۸۶۶ توسط شیمیدان آلمانی کارل هاینریش ریتاوزن کشف و شناسایی شد.



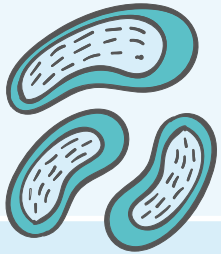
- جوانه زدن بذر
- سنتز کلروفیل
- سنتز اسیدهای آمینه دیگر
- انتقال دهنده عصبی
- پیش سازGABA
- تقویت کننده طعم

تولید گلوتامیک اسید به روش تخمیر

۱-Up Stream

۱-۱انتخاب سوبسترا

- C
- N
- فاکتور رشد

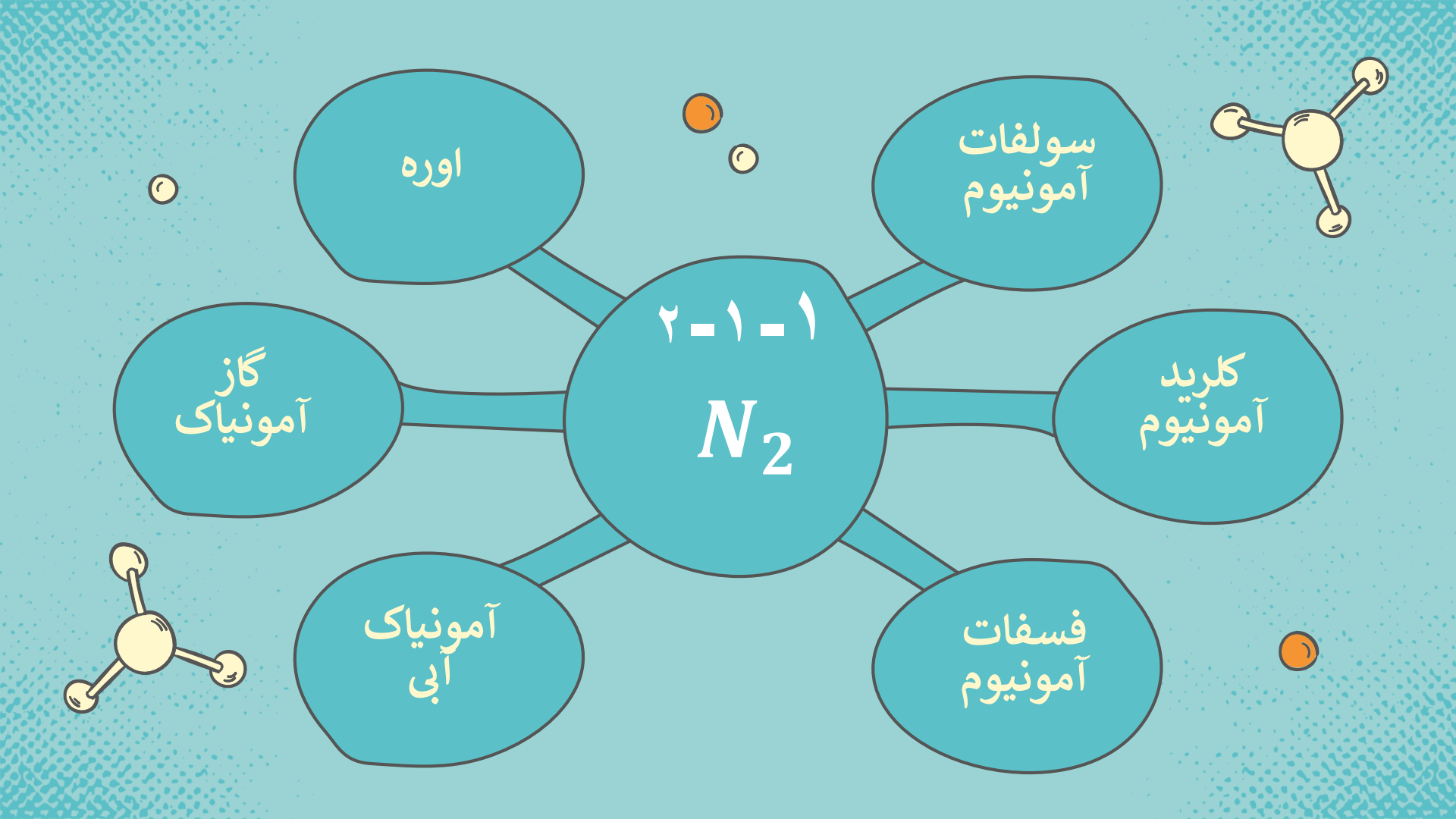


۱-۲ انتخاب میکروارگانیسم

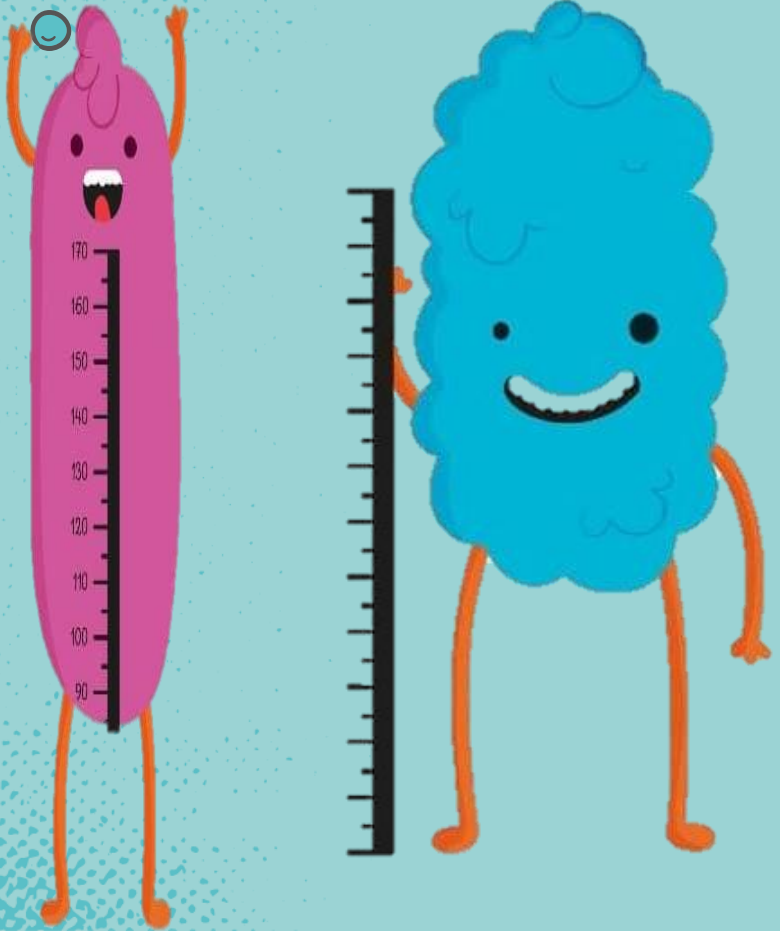
- C. glutamicum

۱-۱-۱ منابع کربن

- گلوکز و ساکارز به طور مکرر استفاده می شود. با این حال، هیدرولیزهای نشاسته، فروکتوز، مالتوز، ریبوز و زایلوز نیز کمتر مورد استفاده قرار می گیرند.
- علاوه بر این می توان از ساکارز، ملاس نیشکر، ملاس چغندرقند نیز استفاده کرد.
- پنی سیلین یا مشتقات اسیدهای چرب باید به محیط تخمیر اضافه شود، زمانی که ملاس ها در آماده سازی محیط استفاده می شوند.


۲-۱-۱
N_2
اوره
سولفات آمونیوم
گاز آمونیاک
کلرید آمونیوم
آمونیاک آبی
فسفات آمونیوم

۱-۱-۳ فاکتور رشد



- مهمترین فاکتور رشد بیوتین است.
- غلظت بهینه آن بستگی به منبع کربن مورد استفاده دارد.
- در محیط های با غلظت گلوکز کمتر، به طور قابل ملاحظه ای کمتر است.
- برخی از سویه ها به ال سیستین به عنوان فاکتور رشد اضافی نیاز دارند.

2-۱-اکسیژن

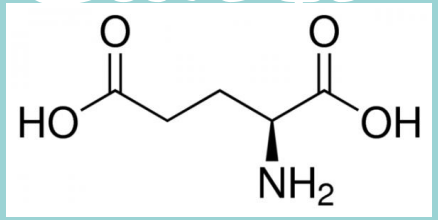
- غلظت اکسیژن نباید کم باشد و نه خیلی زیاد باشد.
- در اثر کمبود اکسیژن دفع فلاکتات و سوکسینات رخ می دهد.
- اکسیژن اضافی در اثر کمبود یون های آمونیوم باعث مهار رشد و تولید α– کتوگلوتارات می شود.

pH- ۲-۲

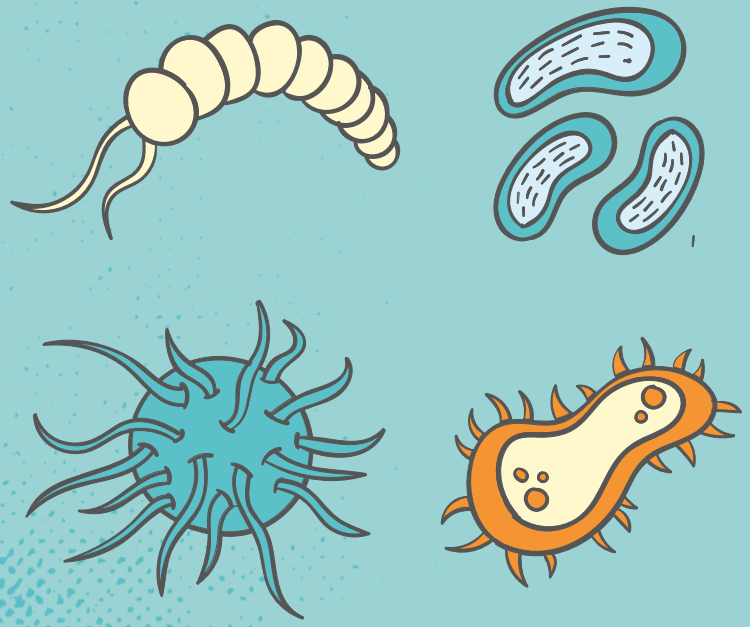
- pH بهینه برای رشد و تولید اسید گلوتامیک 8.0– ۷/۰است.

Medium composition	–C-source: Glucose, fructose, sucrose –Molasses: crop hydrolysates... –N source: urea
Excretion Induction	–Biotin-limited medium –Addition of detergents, antibiotics –Temperature upshocks
Culture conditions	–pH: 7.0-8.0, controlled (production of acid) –T: 30-34°C –Oxygen
Operation mode	–Stirred tank bioreactor –Batch, fed batch
Downstream processing	–Cell separation –Concentration –Crystallization: pH decrease

تولید تجاری اسید گلوتامیک



تولید تجاری:

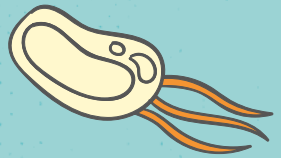


۱. انتخاب یک سویه مناسب از C. Glutamicum.
۲. تلقیح در محیط استریل شده.
۳. کشت تا ۱۶ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه می شود.
۴. پس از رشد کافی، تقریباً ۶ درصد حجمی تلقیح به تخمیر تولیدی اضافه می شود.
۵. تخمیر تقریباً به مدت ۴۰-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انجام می شود.
۶. pHروی ۷/۰-۸/۰ تنظیم شده است.
۷. اوره به طور متناوب در طول تخمیر اضافه می شود.

3-Down Stream

شستشو با NaOH انجام می شود تا مستقیماً گلوتامات مونوسدیم(MSG) در محلول تشکیل شود و مبدل آنیونی بازی بازسازی شود.

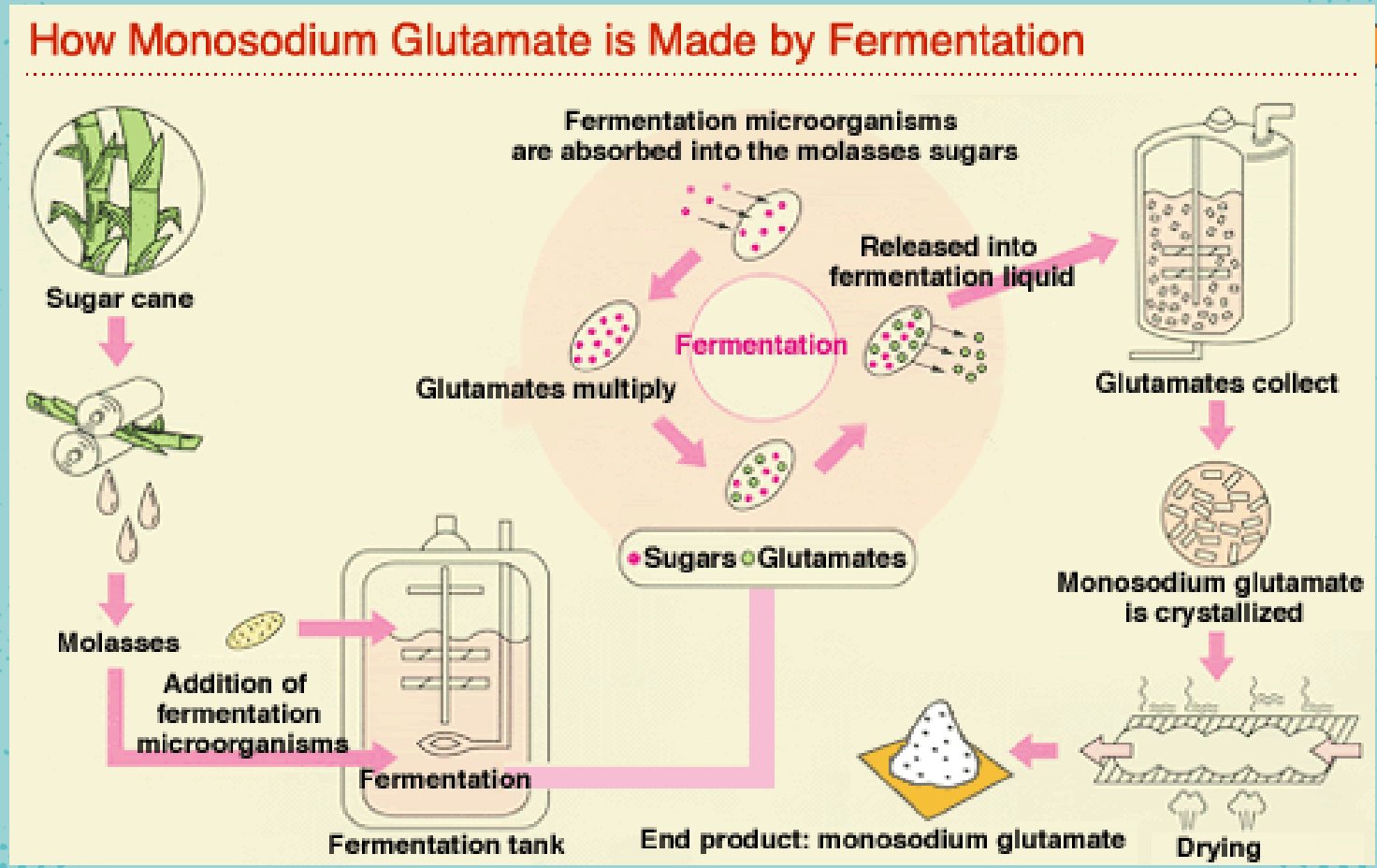
از مایع شستشو، MSGممکن است مستقیماً متبلور شود و به دنبال آن مراحل تهویه بیشتر مانند رنگ‌زدایی و ارائه یک کیفیت غذایی از MSGانجام شود.



سلول‌های باکتری از هم جدا می‌شوند و مایع تخمیر از طریق یک رزین تبادل آنیون پایه عبور می‌کند.

آنیون های اسید گلوتامیک به رزین متصل می شوند و آمونیاک آزاد می شود.

تانک تخمیر


How Monosodium Glutamate is Made by Fermentation
Fermentation microorganisms are absorbed into the molasses sugars
Released into fermentation liquid
Sugar cane
Fermentation
Glutamates multiply
Glutamates collect
Sugars
Glutamates
Monosodium glutamate is crystallized
Molasses
Addition of fermentation microorganisms
Fermentation
Fermentation tank
End product: monosodium glutamate
Drying

نتیجه گیری...

- با توجه به مزیت های اقتصادی و زیست محیطی و همچنین توسعه تکنیک های جدید مهندسی ژنتیک، تخمیر بیشترین استفاده را در مقیاس صنعتی دارد.

- این رویکردها امکان تبدیل انواع سوبستراها و ضایعات ارزان قیمت را به پروتئین های با کیفیت بالا و غنی از اسیدهای آمینه ضروری می دهد. این ویژگی‌ها آن‌ها را کاندیدای عالی برای تولید مکمل‌های پروتئینی در تغذیه انسان یا غذا می‌کند که نشان‌دهنده یک روند نوآورانه برای آینده است.

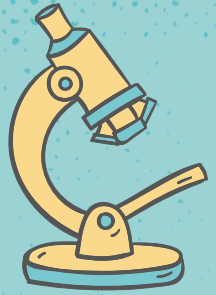
منابع

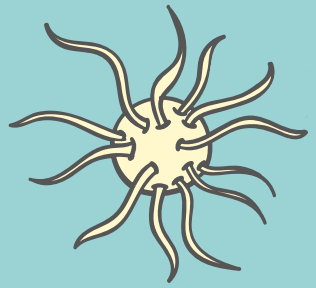
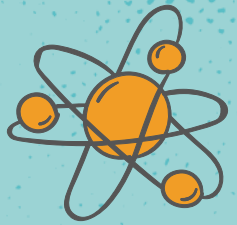
Jong-Bang Eun, Jesus Simal-Gandara, Ahmed A. Zaky , (20 January 2022). Bioactivities, Applications, Safety, and Health Benefits of Bioactive Peptides From Food and By-Products

Alfredo Vázquez , Adrián Sánchez , (12 April 2017). Bioactive peptides

D'Este, M., Alvarado-Morales, M., & Angelidaki, I. (2018). Amino acids production focusing on fermentation technologies – A review. Biotechnology Advances, 36(1), 14-25.

Dr. Ekta Khare Department of Microbiology Institute of Biosciences & Biotechnology, CSJM University, Kanpur. L-Glutamic acid Production



با تشکر از توجه شما