



مرکز آموزش عالی
علوم پزشکی
وارسنگان
گروه علوم و منابع غذایی

تولید میکروبی ویتامین ها

استاد راهنما:

دکتر پرنیان پزشکی

ارائه دهنده:

علیرضا اسماعیل زاده



Microbial Production of vitamins

Supervisor:

Dr. Pezeshki

Presented by:

Alireza Esmaeilzadeh

ویتامین ها

کلمهٔ ویتامین از واژه یونانی ویتا به معنی «زندگانی» است.

فونک نام Vitalamine یعنی آمینی که حیاتی بوده و برای ادامه زندگی ضرورت دارد را برای موادی که سبب بهبود بیماری بری بری می‌شد و از گروه آمین بوده به کار برد.

Vitalamine → **Vitamin**

ریز مغذی های ضروری برای بدن

نیاز بدن به ویتامین ها کم اما ضروری

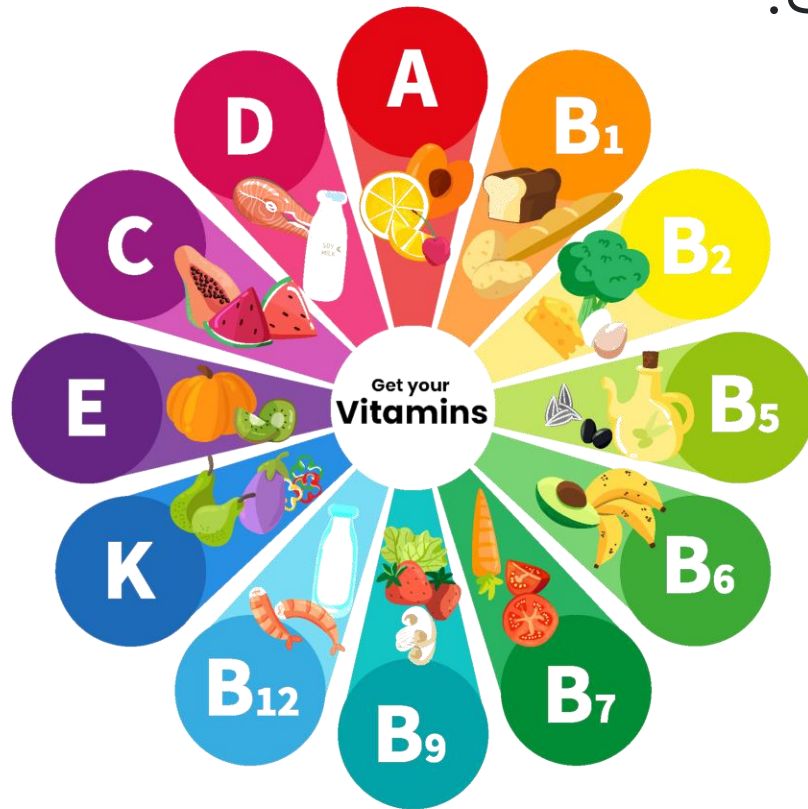
غذا بهترین منبع ویتامین هاست

تسهیل سوخت و ساز بدن یا متابولیسم

ویتامین ها

انواع ویتامین ها

تا به امروز ۱۳ نوع ویتامین شناخته شده است.



محلول در آب

C-B

انواع ویتامین

محلول در چربی

D-E-K-A

کاربرد ویتامین ها

کاربرد در صنایع آرایشی و بهداشتی

انواع کرم ها و مواد آرایشی
بهداشتی غنی شده با
ویتامین ها



کاربرد در صنایع غذایی

غنی کننده در محصولات
غذایی مانند گندم، آرد و نان

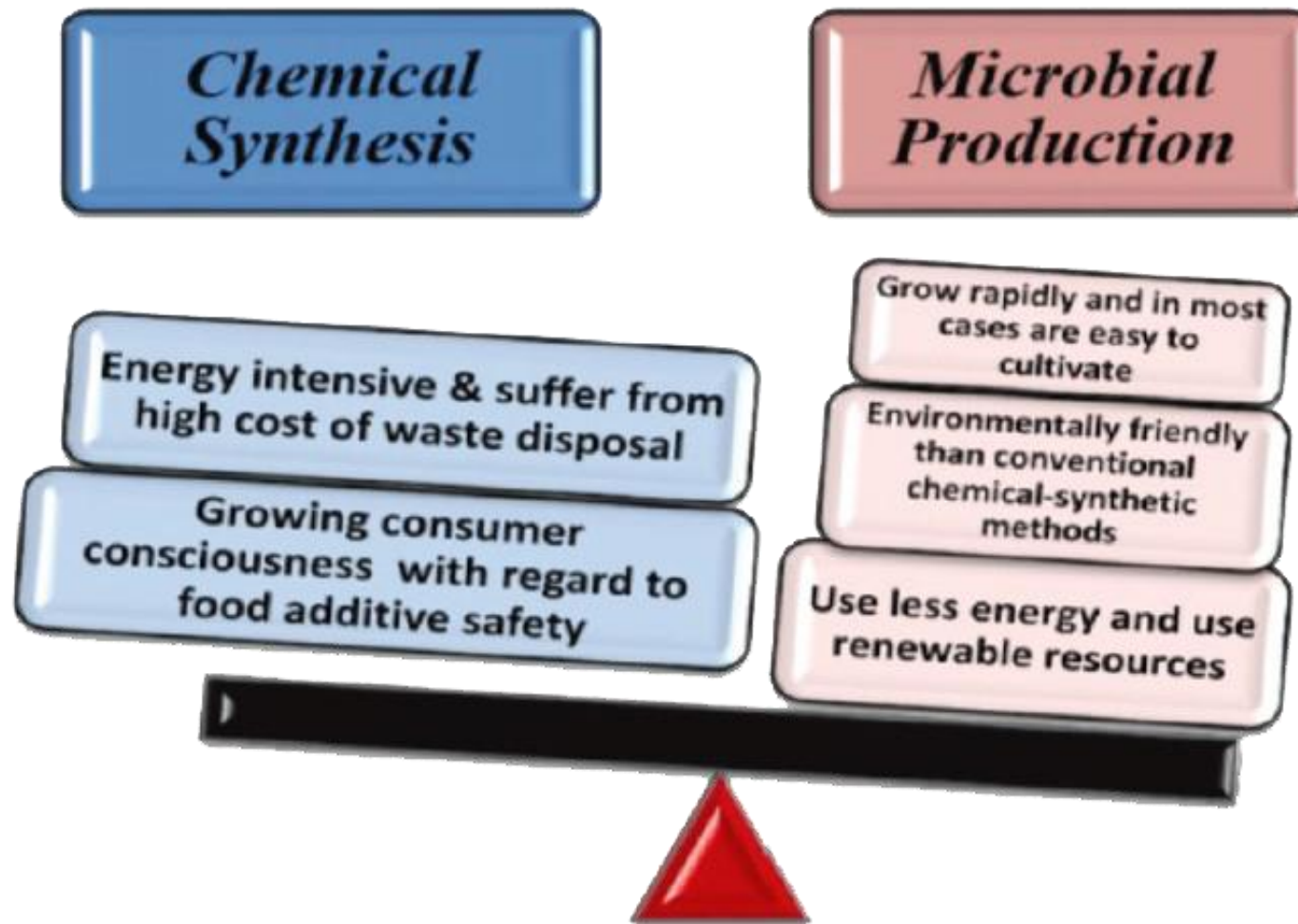


کاربرد در صنایع دارویی

مکمل های ویتامین مانند
ب کمپلکس
قرص های جوشان ویتامینی



روش های تولید و سنتز ویتامین ها



جدول ۱- برخی از ویتامین های میکروبی تولید شده

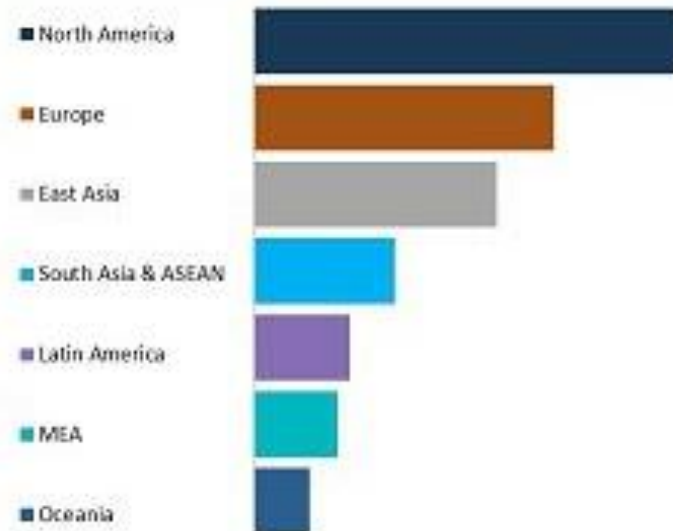
Vitamin	Biotechnological method	
	Enzyme/ microorganism used	Method
Fat-soluble vitamins		
Vitamin E (α -tocopherol)	Freshwater microalgae <i>Euglena gracilis</i>	Fermentative production from glucose
Vitamin K ₂	Mutated strain of <i>Bacillus subtilis</i>	Fermentation using soybean extract
Water-soluble vitamins		
Ascorbic acid (vitamin C)	2,5-diketo-D-gluconic acid reductase <i>Cynobacterium</i> sp.	Fermentative process to 2-keto-L-gulonic acid followed by chemical conversion to L-ascorbic acid
Biotin	Fermentation (<i>Serratia marcescens</i>)	Fermentative production from glucose by genetically engineered bacterium
	Multiple enzyme system (<i>Bacillus sphaericus</i>)	Conversion from diaminopimelic acid using the biotin biosynthetic enzyme system of mutant of (<i>Bacillus sphaericus</i>)
Riboflavin	Fermentation (<i>Eremothecium ashbyii</i> , <i>Ashbya gossypii</i> , <i>Bacillus</i> sp., etc.)	Fermentative production from glucose
Vitamin B ₁₂	Fermentation (<i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Pseudomonas denitrificans</i>)	Fermentative production from glucose

بازار جهانی تولید ویتامین ها در سال ۲۰۲۲ و چشم انداز ۲۰۳۲

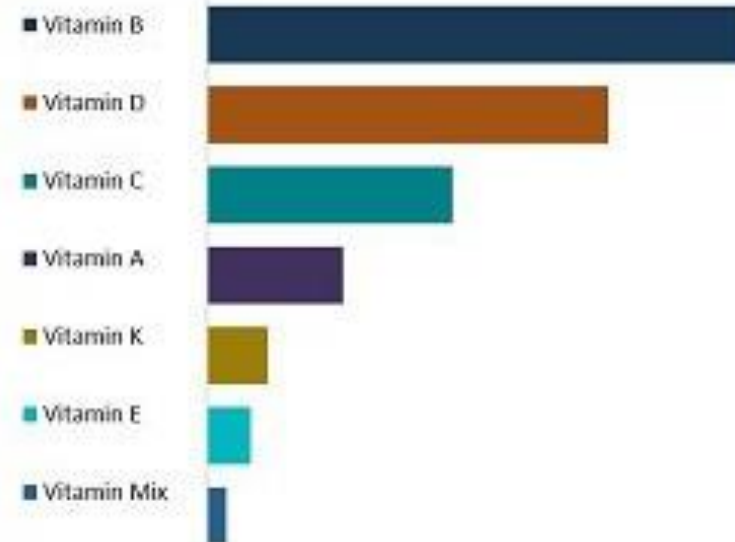
Global Vitamin Shots Market Forecast, 2022-32



Market Split by Regions, 2022



Market Split by Product Type, 2022



Source : Fact.MR

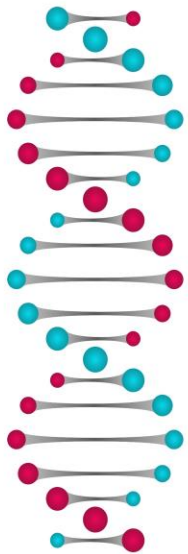


ویتامین B12

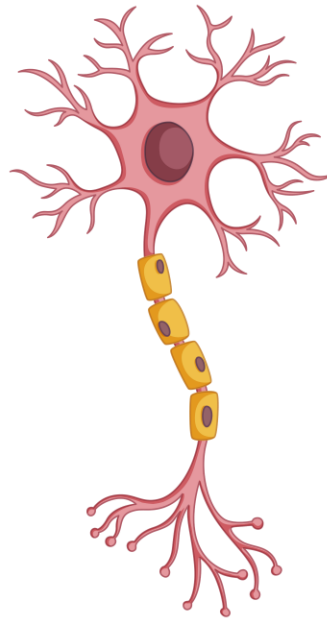
- در سال ۱۹۲۶ توسط مینوت و مورفی شناسایی شد.
- فاکتور ضد کم خونی
- به طور عمده به دو فرم بیولوژیکی:
 - آدنوزیل کوبالامین
 - متیل کوبالامین
- سیانوکوبالامین فرم تجاری ویتامین B12 که به صورت صنعتی تولید میشود.

اهمیت ویتامین B12

تشکیل DNA



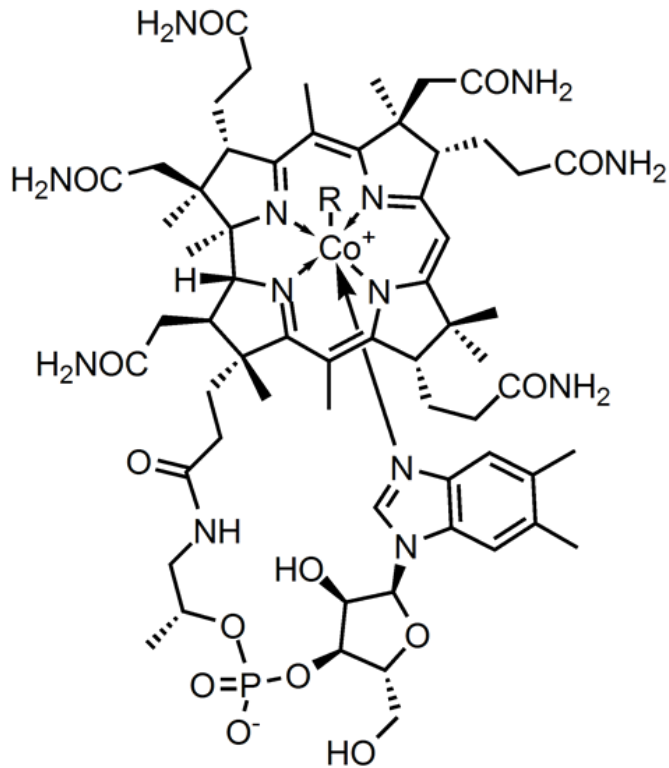
تشکیل رشته های عصبی



تولید سلول های خونی



ویتامین B12



- در علم تغذیه و داروشناسی، ویتامین ب ۱۲ واژه ای عام است که برای همه ی کورینوئیدهای دارای فعالیت بیولوژیکی در انسان ها به کار میرود.
- ویتامین ب ۱۲ برای شیمیدان ها فقط به معنای کوبالامین است.

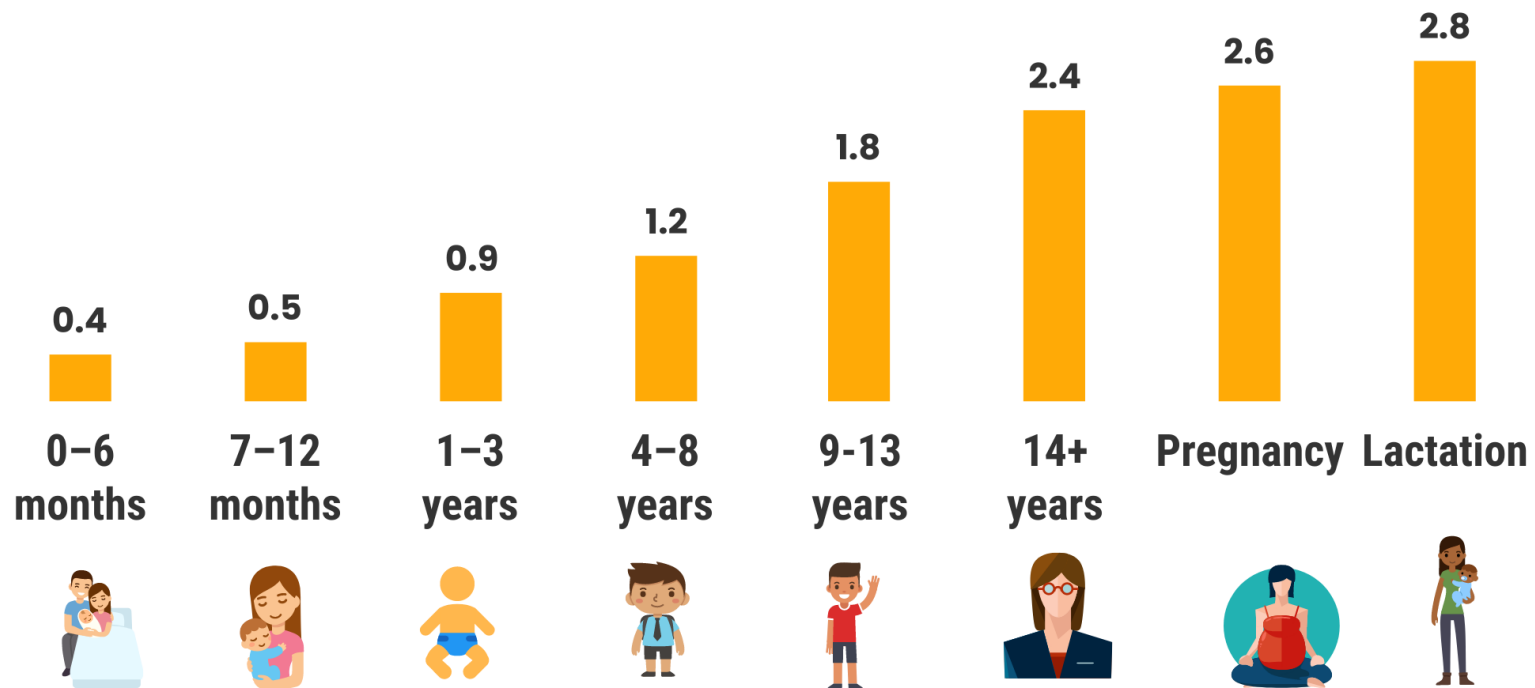
منابع ویتامین B12

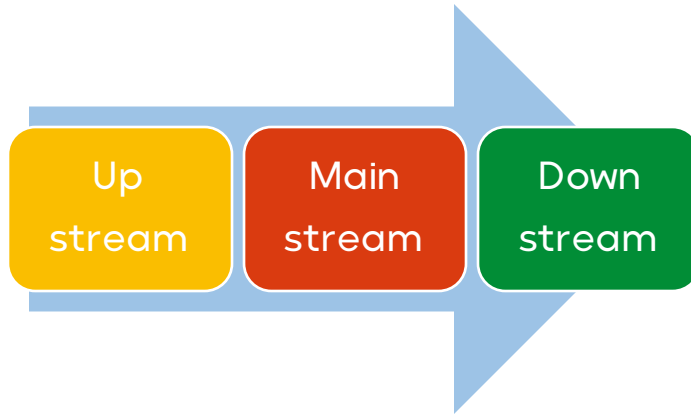


MEAT	SEAFOOD	FISH	DAIRY	EGGS
Beef liver	Octopus	Mackerel	Hard cheese	Egg yolk
				
0,06 mg	0,02 mg	0,012 mg	0,003 mg	0,001 mg

نیاز روزانه ویتامین B12 (بر حسب میکرو گرم)

Recommended Daily Intake





تولید ویتامین B12

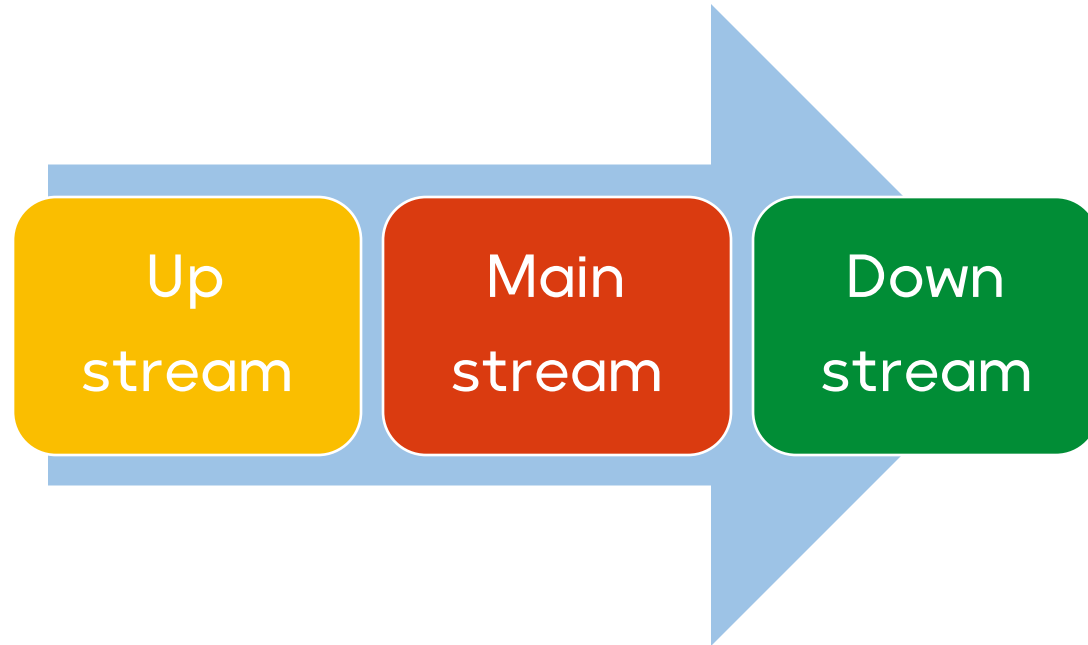
شیمیایی

تولید شیمیایی ویتامین ب ۱۲ بسیار پیچیده و شامل ۷۰ مرحله است.

میکروبی

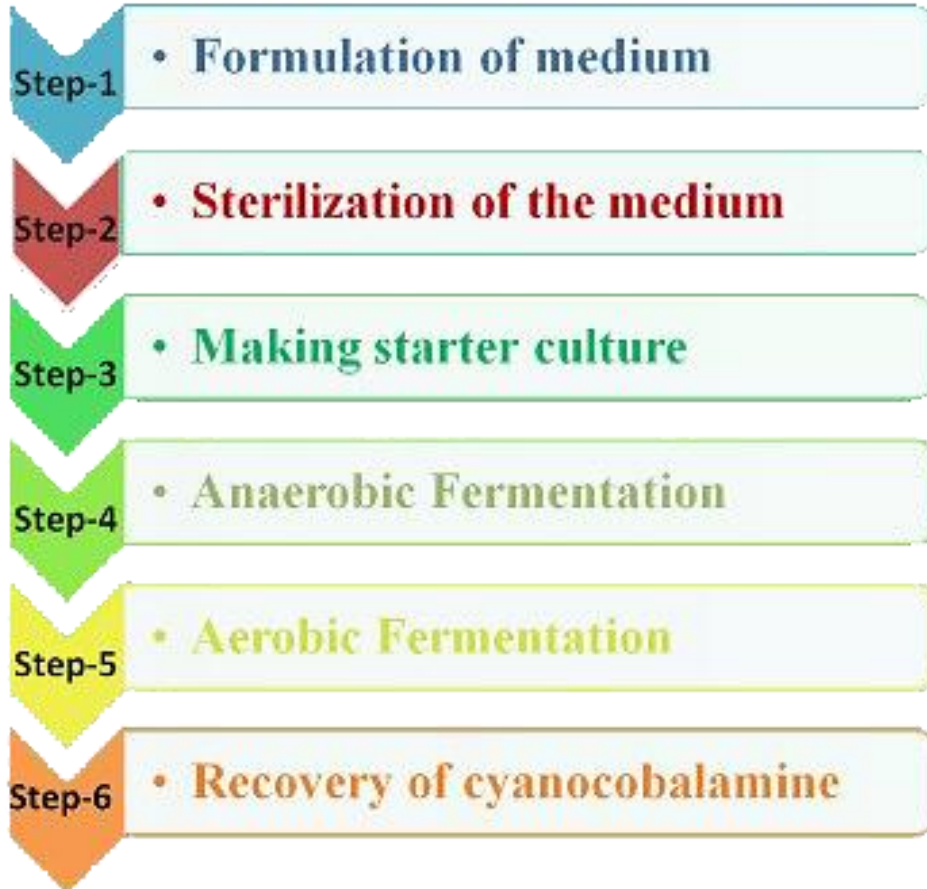
بنابراین تولید صنعتی این ویتامین محدود به فرایند تخمیر با پروپیونی باکتریوم فرئودنریچی زیرگونه ی شرمانی ارجحیت دارد به این دلیل که جزء فهرست GRAS قرار دارد.

تولید میکروبی ویتامین B12



مراحل تولید میکروبی ویتامین B12

Steps involved in Microbial Cyanocobalamine production



منابع کربن و فاکتور های رشد

گلوکز ذرت مایع

ملاس چغندر

کبات

بتائین

منابع ازت

آمونیم فسفات

آمونیم هیدروکساید



استریلیزاسیون محیط کشت

استفاده از محیط کشت استریل شده برای تخمیر
استریلیزاسیون محیط کشت با اتوکلاوگذاری



- برای آماده سازی محیط کشت، مواد مغذی و توده تلقیح شده را به تانک نخمیر اضافه میکنیم
- در برخی موارد به مخلوط محیط کشت **عامل ضد کف** اضافه میکنند.

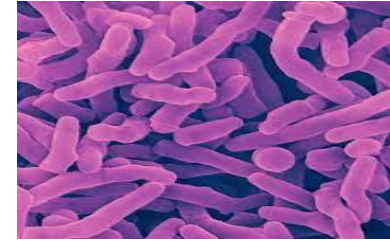
جدول ۲- میکروارگانیزم های تولید کننده ویتامین B12

Table 2. Species of microbial producers and microbiological processes recommended for the production of vitamin B₁₂

Species of microorganism	Main component of culture medium	Conditions of fermentation	Vitamin B ₁₂ production/(mg/L)
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Glucose	Anaerobiosis, 5,6-dimethyl benzimidazole	206.0
<i>Rhodopseudomonas protamicus</i>	Glucose	5,6-dimethyl benzimidazole	135.0
<i>Propionibacterium shermanii</i>	Glucose	5,6-dimethyl benzimidazole	60.0
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Sucrose	Aerobiosis, betaine	60.0
<i>Nocardia rugosa</i>	Glucose	Aerobiosis	18.0
<i>Rhizobium cobalaminogenum</i>	Sucrose	Aerobiosis	16.5
<i>Micromonospora</i> sp.	Glucose	5,6-dimethyl benzimidazole	11.5
<i>Streptomyces olivaceus</i>	Glucose	5,6-dimethyl benzimidazole	6.0
<i>Nocardia gardneri</i>	Hexadecane	Aerobiosis	4.5
<i>Butyribacterium methylotrophicum</i>	Methanol	Anaerobiosis	3.6
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methanol	5,6-dimethyl benzimidazole	3.2
<i>Arthrobacter hyalinus</i>	Isopropanol	5,6-dimethyl benzimidazole	1.1

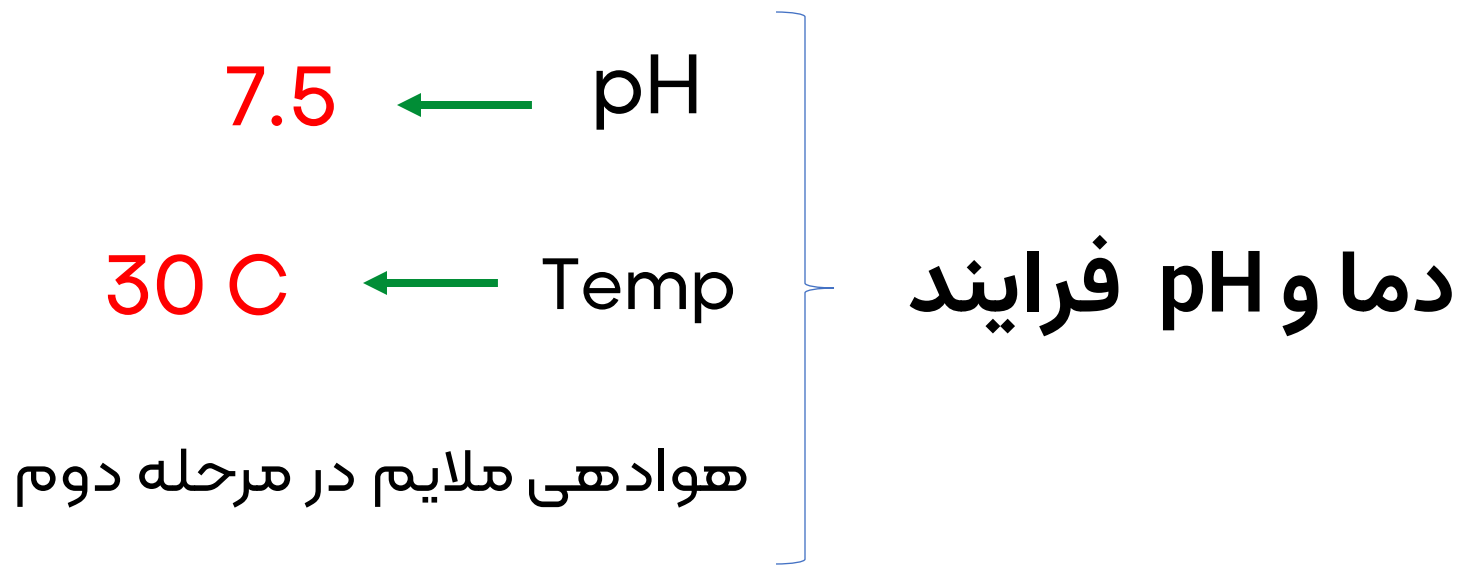
میکروارگانیزم های معمول مورد استفاده در تولید ویتامین B12

- *Propionibacterium freudenreichii* →



- *Pseudomonas denitrificans* →





فرایند تخمیر برای تولید ویتامین B12

continuous

Batch

روش های تخمیر میکروبی
مورد استفاده در تولید
ویتامین B12

- اما در تولید صنعتی با میزان تولید بالا روش پیوسته (Continue) استفاده میشود زیرا این روش دارای راندمان بالاتری نسبت به سایر روش ها است.

۱- مرحله رشد بی هوازی

رشد بی هوازی باکتری به مدت ۳ روز



کوبامید تولید میشود

۲- مرحله رشد هوازی

تکمیل فرآیند تولید ویتامین B12 در شرایط هوازی به مدت ۱-۳ روز



تولید ۵ و ۶ دی متیل بنزیمیدازول



۵ و ۶ دی متیل بنزیمیدازول به کوبامید متصل و ویتامین B12 تولید میشود

فرایند تولید تخمیری

ویتامین B12 توسط

پروپیونی باکتریوم

فرئودنریچی شامل ۲

مرحله هوازی و بی

هوازی است.

استخراج

- ویتامین ب ۱۲، متابولیت ثانویه ی درون سلولی است
- به این منظور باید برای استخراج از درون سلول تمهیداتی اندیشیده شود

مراحل استخراج ویتامین B12 از درون سلول

برداشت سوسپانسیون مایع حاوی آبگوشت سلول ها



حرارت دادن سوسپانسیون در دمای ۸۰ - ۱۲۰ به مدت ۱۰ - ۳۰ دقیقه در
pH: 6.5 - 8.5



پارگی دیواره سلول و خارج کردن ویتامین B12 به همراه ناخالصی ها

خالص سازی

روش های مورد استفاده

فیلتراسیون

تیمار با هیدروکسید روی

استفاده از سیانید پتاسیم

تیمار با هیدروکسید روی

تیمار با هیدروکسید روی $Zn(OH)_2$



رسوب ویتامین B12 با افزودن عوامل کمک کننده مثل کروسول یا اسید تانیک



تولید محصولی با خلوص ۸۰٪

ادامه خالص سازی با روش تیمار با هیدروکسید روی

تولید محصولی با خلوص ۸۰٪



استفاده از حلالهای ارگانیک مثل کروسول، تتراکلریدکربن و آب- اتانول



با جذب سطحی روی کربن فعال و تبادل یونی کامل میشود



در نهایت ویتامین ب ۱۲ با افزودن حلالهای ارگانیک، کریستاله میشود



تولید محصولی با کیفیت مطلوب با خلوص ۹۵٪ برای مصارف غذایی و کاربردهای دارویی

برخی نمونه های تجاری ویتامین B12



نتیجه گیری

همانگونه که ذکر شد، ویتامین ب ۱۲ فاکتور ضد کم خونی است که بیوسنتز آن یکی از پیچیده ترین مسیرهای متابولیکی میباشد. به منظور بیوسنتز صنعتی ویتامین ب ۱۲، گونه های میکروبی مختلفی از جمله پروپیونی باکتریوم و سودوموناس دنیتریفیکانس بکار میروند. از آنجایی که کمبود ویتامین منجر به بیماری و یا حتی مرگ شده و کمبود ویتامین ب ۱۲ نیز باعث اختلالات خونی و عصبی میشود، لازم است تمهیداتی اندیشیده شود تا بتوان مواد غذایی پرمصرف در رژیم غذایی افراد را با ویتامین ب ۱۲ غنی سازی نمود و در حجم صنعتی تولید کرد.

Calvillo, Á.; Pellicer, T.; Carnicer, M.; Planas, A. Bioprocess Strategies for Vitamin B12 Production by Microbial Fermentation and Its Market Applications. *Bioengineering* **2022**, 9, 365.

Eitenmiller, R., Ye, R. L. and Landen, W. (2007). *Vitamin analysis for the health and food sciences*: CRC.

Herbert, V. (1996). *Vitamin B12 in Present Knowledge in Nutrition* 17th ed Washington.

Martens, J. H., Barg, H., Warren, M. and Jahn, D. (2002). Microbial production of vitamin B12. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **58**(3): 275-285.

ممنون از توجه تون!
