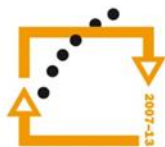




MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



**OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost**

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Zvyšování konkurenceschopnosti studentů oboru botanika a učitelství biologie

CZ.1.07/2.2.00/15.0316

PRODUKCE BIOCHEMICKÝCH LÁTEK HOUBAMI

- Houby produkují široké spektrum **BIOCHEMICKÝCH LÁTEK**, z nichž mnohé potřebují houby pro růst a metabolismus – primární metabolity. Ale existují i sekundární metabolity, které také produkují ale nejsou tak esenciální pro růst hub.
- Nejčastější látky produkované houbami - **ORGANICKÉ KYSELINY, ENZYMY, VITAMÍNY,**

PRODUKCE ORGANICKÝCH KYSELIN - KYSELINA CITRONOVÁ

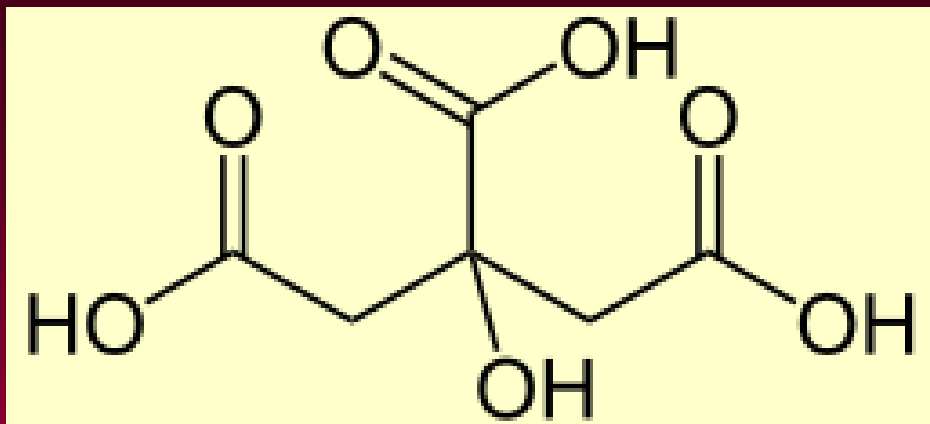
- Je široce využívána v potravinářském průmyslu k produkci nealkoholických nápojů, šumivých solí a léků, k stříbrným zrcadlům a jako aditivum do inkoustů, ale i v kosmetice a při výrobě kůže
- Dříve se vyráběla z citrusových plodů, ale nyní je z 99% z fermentace pomocí plísní.
- Nejčastěji je produkována dvěma kmeny r. *Aspergillus* – *A. niger* a *A. wentii*, ačkoliv i kvasinky *Saccharomycopsis (Yarrowia) lipolytica* se také zkouší použít pro produkci na necukerných substrátech. Mají větší rychlost fermentace, ale nevýhodou je, že produkují vysoký poměr isocitrátu než citrátu.
- Všechny aerobní mikroorganismy, u kterých je aktivní citrátový cyklus produkují kyselinu citronovou. Pro průmyslovou výrobu však tyto mikroorganismy musí tvořit tento produkt extracelulárně ve velkých koncentracích a s vysokým stupněm konverze cukru.
- Produkční kmen *Aspergillus niger* se průmyslově uchovává ve formě spor, které také slouží k přípravě vegetativního inokula (submerzní kultivace) nebo se jimi přímo očkuje médium (povrchová kultivace).

VÝROBA KYSELINY CITRONOVÉ Submerzní způsob

- Submerzní fermentace kyseliny citronové sestává nejprve z přípravy **SUBSTRÁTU**, což je v podstatě velmi důkladně dekontaminovaný **ROZTOK SACHARÓZY NEBO DEXTRÓZOVÉHO SIRUPU** v různých poměrech, který je dále řízeně doplněn o potřebné živiny a stopové prvky
- Použití **VEGETATIVNÍHO INOKULA** ve formě pelet (kuliček). V **PRVNÍ FÁZI** kultura **ROSTE** za současné produkce kyseliny citronové (produkce kyseliny je pomalejší než ve druhé fázi) až do vyčerpání některých pro růst důležitých živin (N, P). Ve **DRUHÉ FÁZI**, kdy již **KULTURA NEROSTE** se tvoří největší množství produktu. Míchání, chlazení (teplota kolem 30°C), větrání, pH (5, pak se spontánně snižuje).
- Proces je ukončen po **4-6 dní**, kvasné roztoky se oddělí od mycelia a jsou dále zpracovány v izolační části výroby.
- **IZOLACE KYSELINY CITRONOVÉ** z kvasného submerzního roztoku probíhá postupnými fyzikálně-chemickými operacemi. Kvasný roztok je ze skladových nádrží čerpán do srážecích reaktorů, kde se kyselina citronová **SRÁŽÍ** kontinuálně **VÁPNEM ZA VZNIKU CITRONANU**, resp. **HYDROGENCITRONANU VÁPENATÉHO**, který se z reakční směsi odfiltruje. V dalším procesu se **ROZKLADEM** citronanu, resp. hydrogencitronanu vápenatého **KYSELINOU SÍROVOU** získá roztok kyseliny citronové

Povrchový způsob

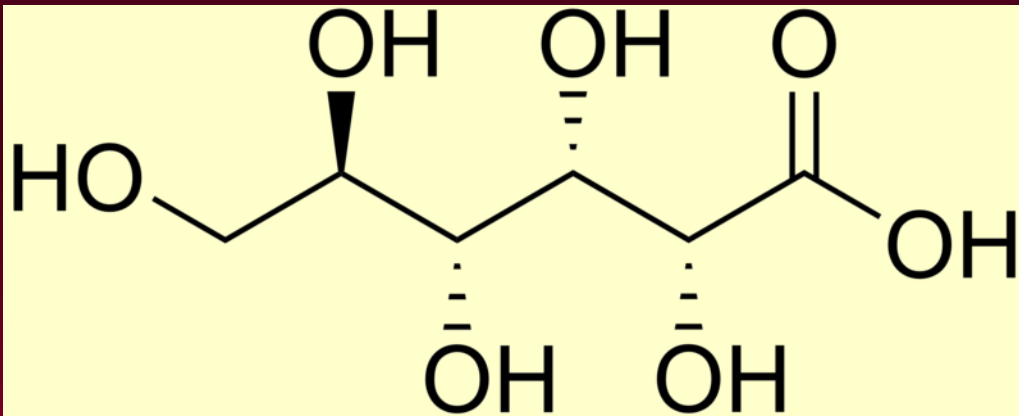
- Jako surovina se používá **MELASA** a z ní se připravuje melasové médium (značné nároky na kvalitu melasy). Náročná je příprava substrátu - varna, ředění melasy, přidavek živin.
- Médium nalité do nerezových mís umístěných v kvasných komorách se **OČKUJE SPORAMI** zavedenými do proudu vzduchu nad fermentační medium.
- První fáze je představena nárůstem mycelia. Proces je ukončen za 7 – 10 dní.



Kyselina citronová

GLUKONOVÁ KYSELINA

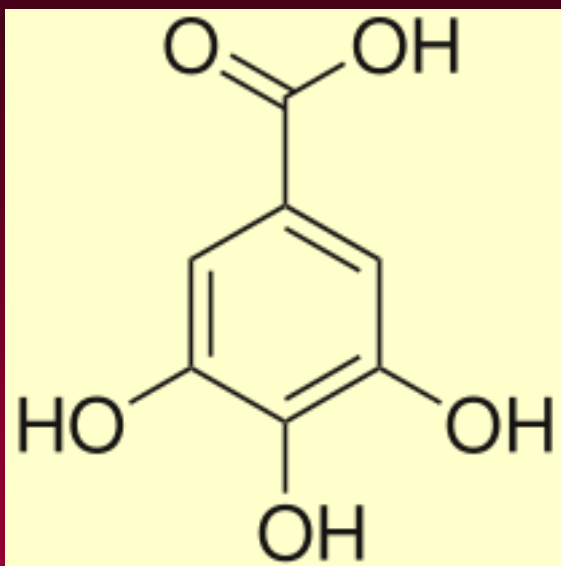
- Glukonová kyselina je široce používána v medicíně jako doplněk diety, ve formě vápenatých, měďnatých nebo zinečných solí. Je produkována hlavně druhem *Aspergillus niger* v submerzním kultivačním procesu, ačkoliv druh *P. chrysogenum* také může být použit s glukózou jako zdrojem uhlíku.
- pH při fermentaci je udržována mezi 6-7 (na hodnotě optimální pro glukosaoxidasu), je třeba od začátku limitovat růst kultury. Biosyntéza kyseliny zahrnuje přímou oxidaci glukózy.



Kyselina glukonová

KYSELINA GALOVÁ

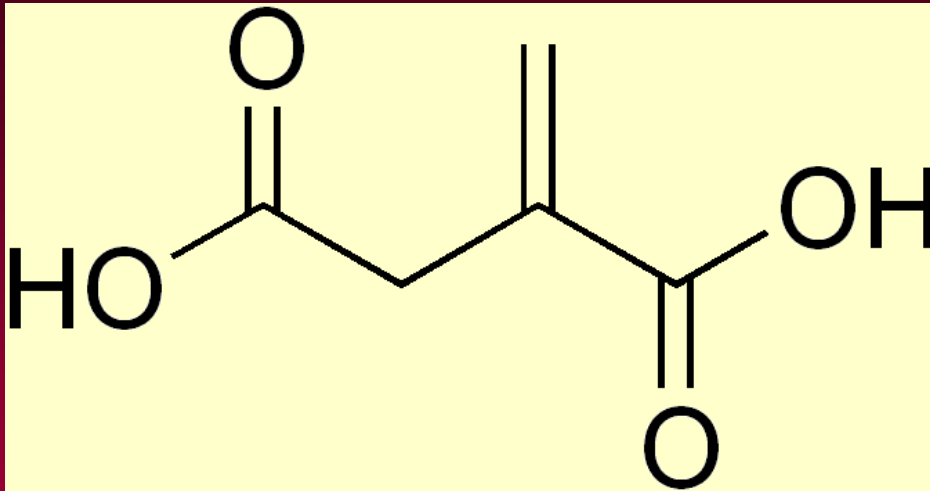
- Kyselina galová je připravována z galotaninu pomocí enzymu hydrolázy tanasy a je používána hlavně pro tisk a úpravu kůží. Tato kyselina má antimikrobiální účinky a působí jako antioxidant. Původně tato kyselina je produkována pomocí přirozených procesů ve vlhkých velkých hromadách žluklých ořechů.
- Houby se vyvíjely v této hromadě a v průběhu měsíce se tvoří kys. galová.
- Nyní je kys. galová produkována průmyslovými fermentačními metodami za použití *A. niger* a *P. chrysogenum*.



Kyselina gallová

KYSELINA ITAKONOVÁ

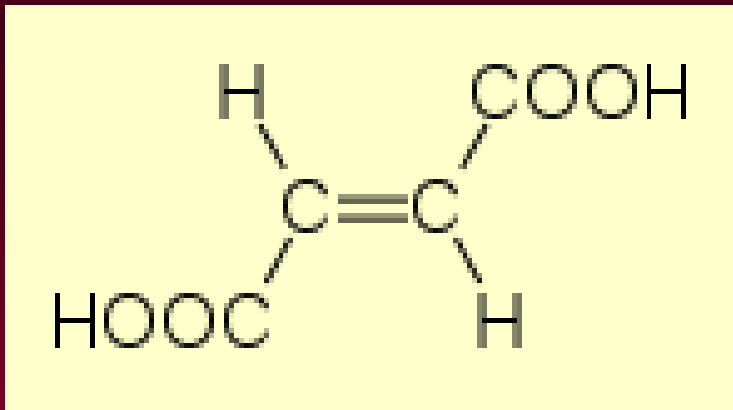
- Itakonová kyselina je používána pro produkci polymerů ve výrobě vláken, maleb, adhesiv a ztenčujících látek.
- Produkční metody jsou podobně těm, které se používají pro produkci kys. citronové, ale hlavní používaný organismus je *Aspergillus terreus* více než *A. niger*.
- Fermentace probíhá v míchacích tancích z nerezové oceli za použití glukosy nebo sukrosy jako suroviny. Úroveň kyselosti je udržována na pH 2, zatímco udržování správných hladin stopových kovů, jako je zinek a železo je kritické.



Kyselina itakonová

FUMAROVÁ KYSELINA

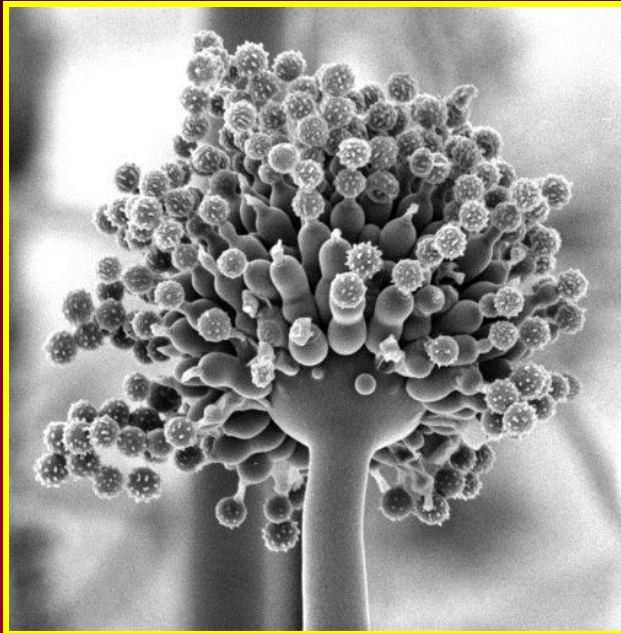
- Kyselina fumarová je produkována plísněmi *Mucor* a hlavně *Rhizopus*. Používaná jako zvlhčovač. Vzhledem k tomu, že chemická výroba je rychlejší a zatím efektivnější nejsou biotechnologické výroby řešeny s takovou intenzitou jako biosyntéza kyseliny citronové či mléčné.
- KYSELINA L(-)-JABLEČNÁ. Se dá výhodně vyrobit z kyseliny fumarové pomocí imobilizované fumarasy. Výrobu však určuje cena kyseliny fumarové.



Fumarová kyselina

ROD ASPERGILLUS

- Patří k nejrozšířenějším a nejhojněji se vyskytujícím rodům plísní, jednotlivé druhy mohou být izolovány z půdy, ze vzduchu, z potravin, z organických zbytků a mnoha dalších zdrojů.
- Je reprezentován značným počtem druhů fyziologicky rozdílných, z nichž řada disponuje metabolickými vlastnostmi vhodnými pro komerční využití.
- Tento rod zaujímá výjimečné postavení v historii mykologie a v biotechnologiích.
- Je řazen mezi deuteromycety, jeho vegetativní cyklus vede ke tvorbě konidií.



Zástupci tohoto rodu jsou producenty především:

- **ORGANICKÝCH KYSELIN** - citronová kyselina (*A. niger*), glukonová kyselina (*A. niger*), itakonová kyselina (*A. itaconicus*, *A. terreus*), jablečná kyselina (*Aspergillus* sp.), šťavelová kyselina (*A. niger*) a vinná kyselina (*A. niger*, *A. griseus*).
- **ENZYMŮ** – α -amylasa (*A. oryzae*, *A. niger*), glukoamylasa (*A. awamori*, *A. niger*), glukosaoxidasa (*A. niger*), katalasa (*A. niger*), laktasa (*A. niger*), naringinasa (*A. niger*), a proteasy (*A. oryzae*).
- **MANNITOLU** (*A. candidus*).
- **MYKOTOXINŮ** – terreová kyselina (*A. terreus*), ustová kyselina (*A. ustus*), asperthecin (*Aspergillus* sp.), aspergillová kyselina (*A. flavus*), flavacol (*A. flavus*), ochratoxiny (*A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. sclerotinum*), aflatoxiny (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*).

Mykotoxiny jsou příčinou masových otrav zvířat a lidí. Mezi nejzávažnější patří aflatoxiny, které mohou být akutně toxické, kancerogenní, mutagenní a teratogenní.

VYUŽITÍ KVASINEK K PRODUKCI ORGANICKÝCH KYSELIN

Častěji se sice pro výrobu organických kyselin používají vláknité houby, ale i kvasinky jsou sledovány pro tyto účely.

Candida lipolytica pro produkci kys. citronové

Torulopsis candida produkce brasylové kyseliny

Saccharomycopsis a *Aureobasidium pullulans* - pro produkci glukonové kyseliny

Candida hydrocarbofumarica – fumarová kyselina

Candida utilis – malová kyselina

ORGANICKÉ KYSELINY

Organické kyseliny produkované kvasinkami

Organismus

Candida guilliermondi

Candida lipolytica

Candida oleophila

Candida brumptii

Candida hydrocarbofumarica

Aureobasidium pullulans

Saccharomycopsis

Candida sp.

Rhodotorula sp.

Kyselina

k. citronová

k. citronová

k. citronová

k. L (+) isocitronová

k. α -ketoglutarová

k. glukonová

k. glukonová

k. itakonová

k. itakonová

BAKTERIÁLNÍ MIKROORGANISMY POUŽÍVANÉ K PRODUKCI ORGANICKÝCH KYSELIN

KYSELINA OCTOVÁ – *Acetobacter* – potravinářství, chemický a farmaceutický průmysl

KYSELINA MLÉČNÁ – *Lactobacillus* – potravinářství, textilní a kožedělný pr.

KYSELINA PROPIONOVÁ – *Propionibacterium* – konzervace krmiv, proti plísním.

KYSELINA MÁSELNÁ – *Clostridium butyricum* – potravinářství, kosmetika, vyr. umělých hmot

PRŮMYSLOVÉ ALKOHOLY

- Nejčastěji je produkován etanol – i co do objemu i ceny.
- Většina z této produkce se týká výroby vína a piva, ale i průmyslový alkohol je široce produkován jako chemická surovina.
- **Gasohol** – čistý etanol je typem průmyslového alkoholu. Je produkován v Brazílii fermentací cukrové třtiny kvasinkami, gasohol je široce používán jako pohonná hmota do aut.
- Když vypukla ropná krize, pokusila se Brazílie snížit dovoz ropy využitím nadměrné produkce cukrové třtiny a kasavy. Zkvašením rostlinné hmoty získali ethanol. Jeho smíšením s benzínem pak začali vyrábět palivo gasohol. Výrobní náklady paliva však převyšují cenu normálního benzínu. Aby byl gasohol prodejný, nezbylo než aby stát tento program dotoval několika miliardami USD ročně.
- Podobná produkce průmyslového etanolu je známá z USA, ale v tomto případě jako surovina je využíván kukuřičný škrob.
- Alternativní potenciální substráty pro produkci průmyslového alkoholu zahrnuje lignocelulosy, syrovátka a bramborovým odpadem.
- Přímá fermentace celulózy a celulózu obsahujících odpadů se testuje houba *Monilia*. Pouze několik vláknitých hub může přímo zkvašovat obilninovou slámu na ethanol.

Produkce ethanolu kvasinkami za použití potenciálních surovin

Organismus

Produkční systémy

Saccharomyces cerevisiae

substrát (surovina)

třtinová melasa

kukuřice a obilky

Experimentální systémy

Candida tropicalis

Candida wickerhamii

Kluyvermyces marxianus

Pachysolen tannophilus

Saccharomyces cerevisiae

hemicelulose hydrolyzáty

celobiosa

třtinový sirup

xylóza

syrovátkový hydrolyzáty

xylóza, xylóza isomeráza

POLYHYDRICKÉ ALKOHOLY

- Mnoho kvasinek produkuje polyhydrické alkoholy, jako je glycerol, erythritol, arabitol, mannitol a xylitol.
- Glycerol je široce využíváný pro produkci syntetických rezinů, kosmetiky, a zubních past.
- Ale díky využívání chemických procesů, je produkce glycerolu pomocí fermentace nyní bezvýznamná.

Produkce polyhydrických alkoholů

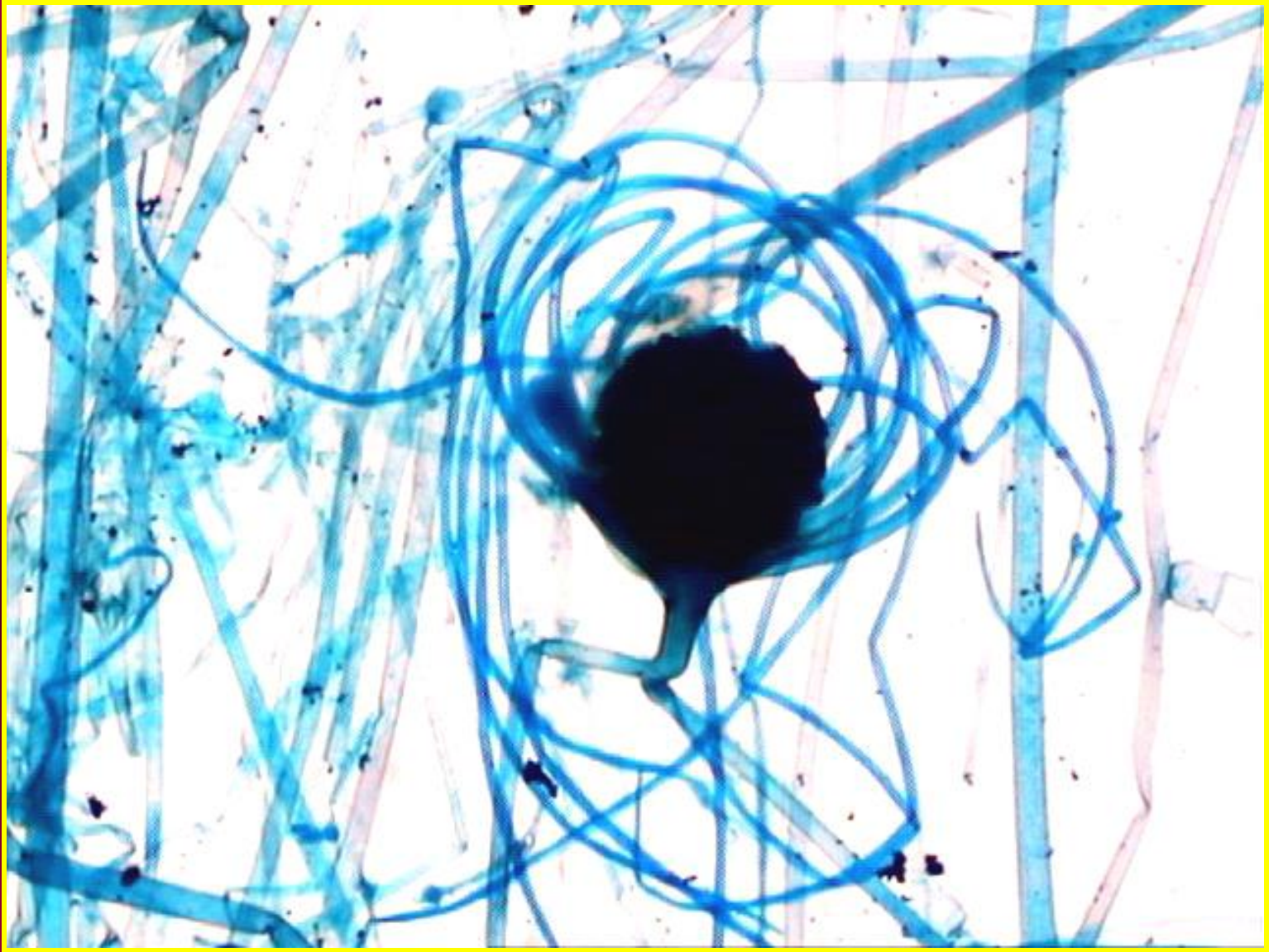
Alkohol	Druh
Glycerol	<i>Saccharomyces cerevisiae, S. bailii, S. rouxii, Torulopsis magnoliae</i>
Arabitol	<i>Endomycopsis capsularis, E. chodattii</i>
Erythritol	<i>Candida zeylanoides, Trichosporonoides oedocephalis</i>
Manitol	<i>Candida lipolytica</i>

POLYSACHARIDY

- Mikrobiální polysacharidy jsou ve zvýšené míře používány v lékařských přípravcích a v potravinářství na produkci gelů , které stabilizují a zahušťují potravinářské produkty.
- Dva polysacharidy houbového původu, skleroglukan a pululan jsou v současnosti produkovány na průmyslovém základě.
- Skleroglukan je produkován houbou *Sclerotium rolfii* a je β -glukan.
- Pululan je α -(1-4) glukan produkován houbou *Aureobasidium pullulans*. Je používán v Japonsku k produkci filmových obalů potravin obalujících materiálů.
- Extracelulární ve vodě rozpustné fosfomanany z kvasinky rodu *Hansenula* mají také potencionální zájem při použití ve vodě rozpustných gum. Zástupci rodů *Hansenula*, *Pichia* a *Pachysolen* produkuje extracelulární fosforylated manázy, které jsou značně rezistentní k mikrobiálnímu útoku a které jsou užitečné v zahušťování, stabilizaci a jako rozptylovací látka.
- Levany jsou přírodní polymery cukerné fruktózy a jsou produkovány jako nechtěné vedlejší produkty při výrobě ovocných džusů. Mají značný potenciál jako zahušťovadla, průmyslové gumy a sladidla a pro výrobu náhrady krevní plasmy. Levany mají široké použití v potravinářském, farmaceutickém, kosmetickém a malířském průmyslu. Jsou produkovány řadou bakterií a kvasinek ale i vláknitými houbami *Aspergillus sydowii* a *A. versicolor*.

CHITOSAN POMOCÍ FERMENTACE

- Chitin je extrémně nerozpustná látka, které do dnešních dnů není v průmyslu nijak široce využívána. Derivát chitinu - **CHITOSAN**, je nacházen méně často v přírodě, ale je potenciálně více využíván v průmyslu.
- V Japonsku chitin ze skořápek krabů je získáván a přeměňován na chitosan
- Je používán jako flokulant pro **ČIŠTĚNÍ SPLAŠKŮ, LEPIDLO V CHIRURGII, SCHOPNOST VÁZAT TUKY** – součást diet.
- V současnosti **KORÝŠI** poskytují hlavní zdroj chitosanu – ale jeho dostupnost je variabilní a sezónní.
- Zástupci řádu **MUCORALES** obsahují chitosan v jeho buněčných stěnách. Druhy jako *Mucor rouxii* a *Absidia coerulea* snadno rostou na mediích obsahující melasu a amonné soli, s pH udržovaném na 4,5 pomocí amonných plynů. Sklizeň probíhá před završením růstové fáze, protože po té už je obtížné chitosan extrahovat.
- Po té, co jsou buňky vymyty, jsou zbaveny proteinů vařením v 2% hydroxidu sodném jednu hodinu a potom ošetřeny sodium borohydrite aby se inhibovala oxidace. Pokud jsou použity optimální podmínky, hyfy produkují téměř čistý chitosan.



Absidia coerulea

AMINOKYSELINY

- Mikroorganismy jsou ve zvýšené míře používány pro produkci aminokyselin za pomoci fermentace.
- Nejčastěji jsou používány kmeny kvasinky *Rhodotorula*.
- *Saccharomyces cerevisiae* produkuje až 20% lyzinu,
- Tryptofan je produkován kvasinkou *C. tenuis* a *C. parapsolosis*
- *Hansenula*, *Torulopsis utilis*, i vláknitá houba *Fusarium roseum* produkuje tryptofan

ENZYMY

- Houby produkují velké množství různých enzymů do svého okolí, což jim umožňuje trávit potravu nebo rozpouštět některé látky ve svém okolí. Nejčastěji průmyslově využívané houbové enzymy jsou amylázy, invertázy, proteázy, pektinázy, lipázy a celulózy.
- Široké spektrum enzymů bylo izolováno z odpadního mycelia *A. niger*, používaného pro produkci kyseliny citronové, tyto zahrnují kyselou fosfatázu, pektinázy, proteázy, celulózy a glukonázy.

AMYLÁZA se podílí na hydrolýze škrobu na dextriny a cukr a je používána při přípravě adheziv a čištění rostlinných džusů.

INVERTÁZA katalyzuje hydrolýzu glukózy a fruktózy, a je používána při výrobě cukrovinek a přípravě sirupů, které nekrystalizují.

PEROXIDÁZA dokáže odbarvovat barvy látek, z hub je produkována např. houbou r. *Coprinus*.

PROTEÁZY dovedou rozkládat proteiny. Proteolytické enzymy jsou používány při měkčení kůže, čištění piva, při ztekucování lepidla a produkci detergentů.

PEKTINÁZY jsou používány při čištění rostlinných džusů a urychlení macerace lněných stonků při výrobě lněných vláken.

LIPÁZY hydrolyzují lipidy na glycerol a mastné kyseliny. Lipázy z rodu *Rhizopus* jsou používány pro zlepšení chuti některých potravin.

CELULÁZY hydrolyzují celulózu na celobiózu, a jsou používány při výrobě potravin.

- Pro průmyslovou výrobu byla využita řada kultivačních technik. Nejčastěji se jedná o submersní procesy v běžných míchaných bioreaktorech (asi 90 % vyráběných enzymů). Kultivace na pevných substrátech se mohou uplatnit v případech, kdy produkčním mikroorganismem je vláknitá houba.

ALFA-GALAKTOZIDÁZA

je produkována např. houbou *Aspergillus niger*, a je aktivní složkou přípravku „Beano“, který je prevencí při nadýmání při požívání fazolí nebo brukvovité zeleniny.

- Mnoho lidí nedovede metabolizovat galaktózu z potravin a ta je v trávicím traktu fermentována bakteriemi. Přípravek „Beano“ rozkládá galaktózu a tak je prevencí při akumulaci plynů v trávicím traktu.



Enzymy

Příklady průmyslových enzymů z hub

Enzym	Využití	Produkční druh
Alpha-amyláza	Výroba chleba	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. awamori</i>
Glukoamyláza	výroba sladu	<i>A. niger</i> , <i>A. foetidus</i> , <i>Rhizopus foetidus</i>
Laktáza	přídavek do potravin, pomoc při zažívání	<i>A. oryzae</i> , <i>A. niger</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i>
Invertáza	konverze sukrózy	<i>A. oryzae</i> , <i>A. niger</i> , <i>S. cerevisiae</i>
Pektinázy	úprava ovoce	<i>A. niger</i> , <i>A. wentii</i> , <i>Rhizopus sp.</i>
Lipázy	dodatek pro pankreatickou lipázu	<i>P. roquefortii</i> , <i>Rhizopus delmar</i>
Penicilin acylázy	semisyntetický penicilín	<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>A. ochraceus</i> ,
Kyselé proteázy	Výroba chleba, chladová úprava piva	<i>A. saitoi</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Mucor pusilus</i>
Mikrobiální renin	výroba sýrů	<i>Endothia parasitica</i> , <i>Mucor meihei</i> , <i>M. pusilus</i>
Celulázy	výzkum	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Aspergillus niger</i>

LIPIDY

- Mikroorganismy, které produkují **oleje (tuky)** v určitém množství se nazývají **oleaginní**.
- Tyto organismy musí obsahovat okolo **25% tuků** pro produkci, aby byly ekonomicky realizovatelné.
- Aby bylo dosaženo vysoké produkce tuků, **oleaginní houby** rostou na mediích obsahující zdroje uhlíku, a nějaký limitní faktor (obvykle dusík). Vyčerpání limitních živin přinese syntézu proteinů a nukleových kyselin houbou a nakonec jsou syntetizovány tuky.
- Tuků produkující fermentace může zahrnovat dávkovanou nebo kontinuální kulturu.
- Výtěžek produkce tuků u mikroorganismů je nízký, okolo **22-24%**, přičemž optimum produkce se pohybuje okolo **40%**.
- Tuků sice produkuje více mikroorganismů, ale pod tlakem ekonomiky jsou upřednostňovány organismy, které produkují i vysoce kvalitní tuky i single-celled proteiny.

- I vláknité houby i kvasinky jsou používány pro produkci tuků. Tuky extrahované z kvasinek sestávají primárně z triacylglycerolu, další tuky produkovány kvasinkami jsou kys. oleová, palmitová, linolenová a stearová. Vláknité houby produkují daleko širší spektrum lipidů a mastných kyselin. Některé plísně produkují velký podíl mastných kyselin s krátkým řetězcem (C12 a C14) zatímco jiné obsahují vysoký podíl poly nenasycených kyselin (C18.2 –C18.3)
- Některé kvasinky mají potenciál sloužit jako komerční zdroj tuků podobných kakaovému máslu (*Candida curvata*).

GIBBERELINY

- Gibereliny jsou houbové sekundární metabolity, které se vyskytují jako endogenní hormony u rostlin.
- Mohou být izolovány z nedospělých semen fazolu a dalšího rostlinného materiálu. Gibereliny jsou vyráběny za použití houby *Fusarium moniliforme*, které má pohlavní stádium *Gibberella fujikuroi*.
- Tato houba způsobuje chorobu mladé rýže, která je typická prodlužováním internodů, což způsobí kolaps rostlin.
- Produkce kyseliny giberelové pomocí *F. moniliforme* je dosahováno na substrátu, který obsahuje směs karbohydrátů a má nízký obsah dusíku. Glycerol je přidáván a má tendenci zvyšovat výnos.
- Používá se v zemědělství při dozrávání plodů, a zlepšování velikosti a kvality úrody

VITAMINY

- Vitaminy jsou látky, pro které nemá lidský metabolismus biosyntetické dráhy a přitom jsou pro něj nezbytné. Tyto látky musíme přijímat z vnějšího prostředí, nejčastěji potravou.
- Pro průmyslovou výrobu některých vitaminů jsou využívány mikrobiální biotechnologie. Výhradně „biotechnologicky“ je vyráběn vitamin B12 – kyanokobalamin.
- Mikrobiálními technologiemi jsou z větší či menší míry připravovány: riboflavin, pantothenová kyselina, pyridoxin, askorbová kyselina, retinol, kalciferol, tokoferol a polynenasycené mastné kyseliny.

RIBOFLAVIN

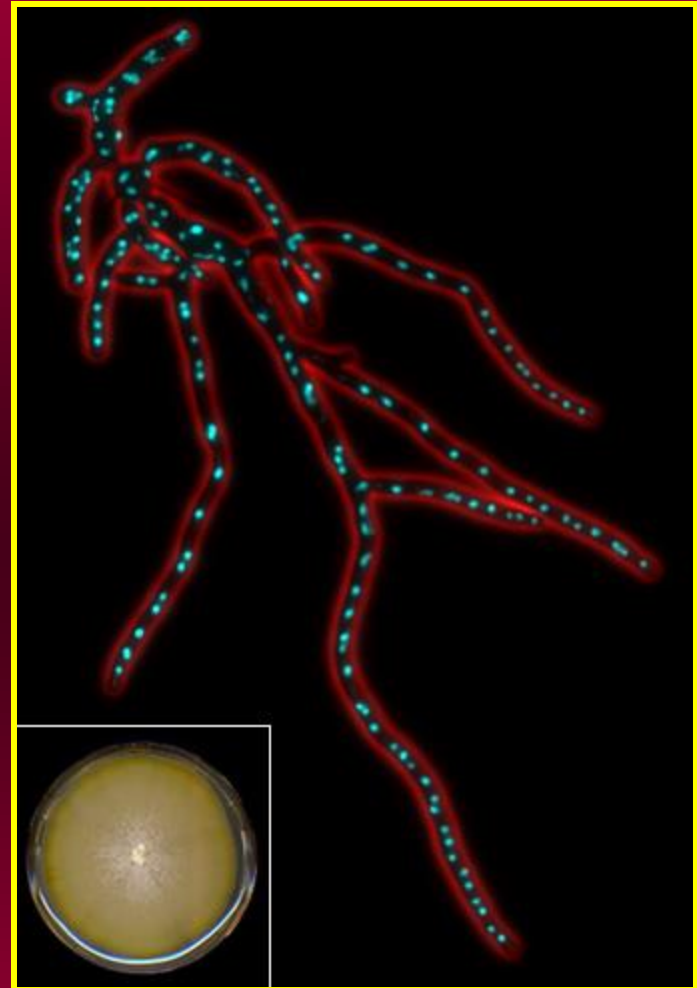
PRŮMYSLOVÁ PRODUKCE

▪ Riboflavin produkuje celá řada mikroorganismů. Jako průmyslové kmeny byly využity askomycety *Eremothecium ashbyi* a *Ashbya gossypii* (produkce 10 až 15 g l⁻¹). Dále byl připraven také rekombinantní kmen bakterie *Bacillus subtilis*.

▪ *Kultivační media*: zdroj uhlíku - glukosa, sacharosa, maltosa, rostlinné oleje; zdroj dusíku - peptony, corn-steep, kvasničný extrakt. Jako stimulant produkce působí glycin (stimulace syntézy GTP); stimulanty růstu jsou biotin, inositol, thiamin.

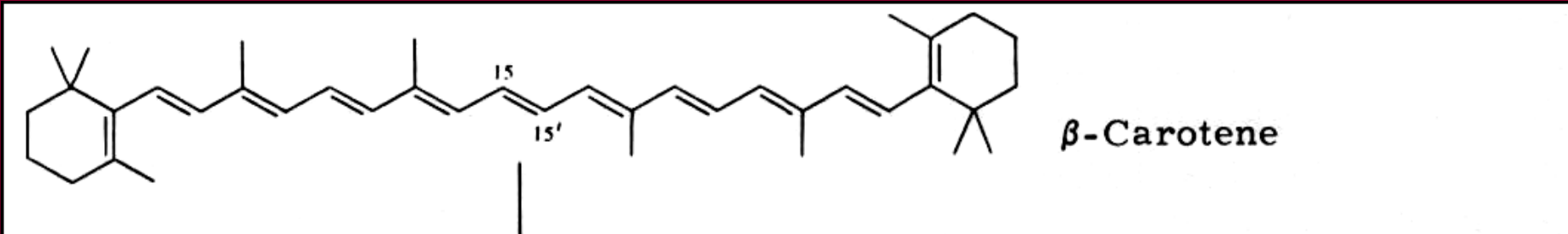
▪ Aerobní kultivační proces (teplota 26 až 29 °C, ca 120 hodin) má následující fáze:

- pokles pH z 6,5 na 4,5, tvorba mycelia, ojedinele vznikají sporangia
- rychlá spotřeba C-zdroje, tvorba spor, počátek flavigenese
- C-zdroj je spotřebován, vzrůst pH, maximální produkce riboflavinu
- lyze populace, tvorba dalšího riboflavinu – objevují se krystalky B₂.

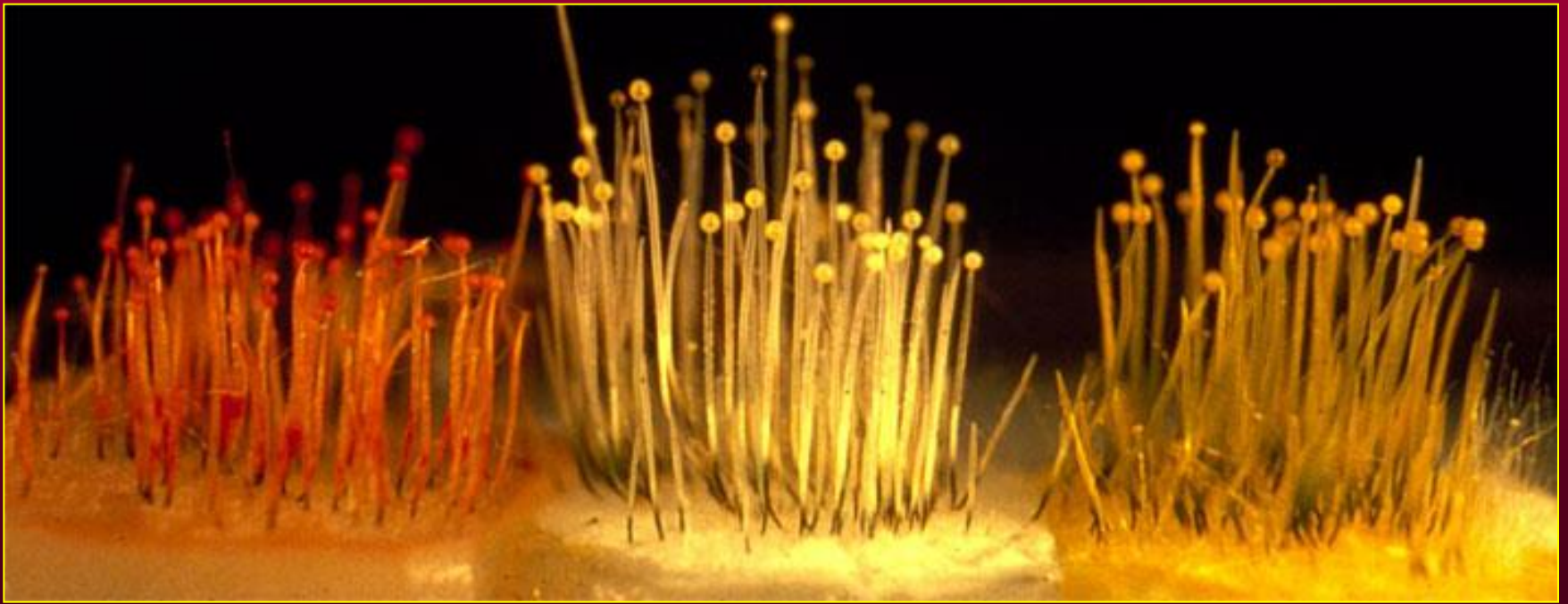


Ashbya gossypii

β -KAROTEN (PROVITAMIN A)



- Jedná se o látky oranžově-červené barvy, dobře rozpustné v tucích (hydrofobních kapalinách). Retinol – vlastní vitamin A – se mimo jiné účastní redox reakcí odehrávajících se v oční sítnici.
- Synthesa probíhá metabolickou dráhu terpenoidů z acetyl-CoA přes kyselinu mevalonovou za vzniku isopentenylpyrofosfátu („isoprenová jednotka“). Karoteny produkuje velké množství mikroorganismů.
- V průmyslových podmínkách se uplatnily zvláště *Phycomyces blakesleanus*, *Blakeslea trispora* a také mořská řasa *Dunaliella salina*.



Phycomyces sporangiophores (fruiting bodies) in the wild type and color mutants



Blakeslea trispora

PRŮMYSLOVÝ PROCES VÝROBY

- Uvedené houby se vyskytují ve dvou sexuálních formách. Pro dosažení vysoké nadprodukce β -karotenu je nezbytná oddělená příprava inokula obou těchto forem, které se na počátku produkčního procesu smíchají.
- Jinou možností je inokulace pouze „minus“ formou za současného přidavku trisporových kyselin (sekundární metabolity produkované těmito houbami).
- Synthesa β -karotenu je dále stimulována přidavkem látek obsahujících β -iononový kruh (ten se však do molekuly karotenu nezabuduje).
- Produkční medium vyžaduje vysokou koncentraci živin a vysokou viskozitu (lihové výpalky, škrob, rostlinné oleje ap.). Důležitá je přítomnost antioxidantu, který zabraňuje v průběhu aerobního procesu rozkladu β -karotenu. Po 7 až 8 denní kultivaci je dosahováno výtěžku 2,5 až 3,0 g l⁻¹.

Izolace

Výše uváděné mikroorganismy produkují β -karoten jako intracelulární produkt. Izolace produktu pro potravinářské a farmaceutické účely zahrnuje následující operace: permeabilizace buněk (hydrolyza, dehydratace); extrakce lipidického podílu; saponifikace; extrakce (petrolether, hexan ap.); purifikace; krystalizace.

ERGOSTEROL (PROVITAMIN D2)

- Ergosterol je převáděn do aktivního stavu zahříváním, resp. UV zářením. Jedná se opět o terpenickou sloučeninu, rozpustnou v organických rozpouštědlech. Vitamin D2 se účastní metabolismu resorpci vápníku a fosforu ze střeva a jejich ukládání v živočišných tkáních, zejména kostech. Významnými producenty jsou převážně kvasinky rodů *Saccharomyces* a *Candida*.

Průmyslová produkce

- **Běžné pekařské droždí obsahuje 1-3 % v sušině.** Dále byly připraveny speciální kmeny, případně nalezeny modifikované kultivační podmínky (C-zdroj ethanol ap.), poskytující ještě několikanásobné zvýšení výtěžnosti ergosterolu.
- **Vlastní produkční proces se realizuje v submersních dokonale míchaných systémech známých například z výroby droždí.**

Izolace

Ergosterol je opět intracelulárním produktem. Jeho izolace probíhá v následujících jednotkových operacích: permeabilizace buněk (roztok amoniaku, dimethylamin); odstranění nečistot, vysušení buněk (methanol); extrakce (ether, ethylacetát); saponifikace; reextrakce etherem; krystalizace.

Vitamíny

Produkce vitamínů některými kvasinkami

Organismus

Ashbya gossypii

Candida flareri

Eremothecium ashbyii

Pichia guilliermondii

Saccharomyces cerevisiae

Rhodotorula sp.

Vitamín

Riboflavin

Riboflavin

Riboflavin

Riboflavin

Ergosterol

Karoten