

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : الميكروبيولوجيا التطبيقية
و علوم التغذية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Sciences
de

La Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

**PRODUCTION DES VITAMINES PAR LES
MICROORGANISMES**

Membres du Jury

Président : Mr. KHENNOUF T.

Encadrante : Dr. AKROUM S.

Examinatrice : Dr. BOUCHEFRA A.

Présenté par :

M^{elle} : MACINA Mariétou



Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Je commence par remercier Dieu, le tout puissant, le miséricordieux de m'avoir donné la force et la patience pour pouvoir mener ce travail à terme.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mon plus vif respect à **Dr AKROUM** mon encadrante, de m'avoir fait l'honneur de m'encadrer et pour la qualité de l'encadrement qu'elle m'a fournie ainsi que pour ses multiples conseils et orientations tout au long de ce projet.

Sa gentillesse débordante, son soutien moral, sa patience et ses conseils judicieux pour m'aider à bien mener ce travail.

Je tiens à remercier également les membres du jury pour m'avoir fait l'honneur de juger et de corriger ce travail.

Je remercie tous mes chers professeurs que j'ai pu rencontrer pendant mon parcours universitaire.

Dédicace

À l'être le plus cher de ma vie, à la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : Ma mère. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit

À mon très cher père pour son amour et son sacrifice.

À mes tantes et mes oncles pour leurs encouragements, leurs soutiens, surtout pour leur amour afin que rien entrave le déroulement de mes études.

À toute ma famille paternelle et maternelle.

À mes ami(e)s : **Reynaldo, Hachimi, Fatim, Aminata, Houda, Steve.....**

À ma promotion. En souvenir de notre apprentissage ensemble, je vous souhaite plein de succès à tous. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mariétou 

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Types et biosynthèse des vitamines	
1 Définition des vitamines	3
1.1 Vitamines liposolubles	3
1.1.1 Vitamine A (Rétinal).....	3
1.1.1.1 Rôles	3
1.1.1.2 Carences.....	4
1.1.1.3 Fonctions	4
1.1.1.4 Sources.....	4
1.1.2 Vitamine D (Calciférol)	5
1.1.2.1 Rôles	5
1.1.2.2 Sources.....	5
1.1.2.3 Fonctions	5
1.1.2.4 Carences.....	6
1.1.3 Vitamine E (Tocophérol).....	6
1.1.3.1 Rôles	6
1.1.3.2 Sources.....	6
1.1.3.3 Carences.....	7
1.1.4 Vitamine k (Phylloquinone)	7
1.1.4.1 Fonctions	7
1.1.4.2 Sources.....	8
1.1.4.3 Carences.....	8
1.2 Vitamines hydrosolubles.....	8
1.2.1 Vitamine B2 (Riboflavine)	8
1.2.1.1 Rôles	9
1.2.1.2 Sources.....	9
1.2.1.3 Carences.....	9
1.2.2 Vitamine B3 (Niacine)	9
1.2.2.1 Rôles	10
1.2.2.2 Fonctions	10
1.2.2.3 Carences.....	10
1.2.3 Vitamine B5 (acide pantothénique).....	11
1.2.3.1 Rôles	11
1.2.3.2 Sources.....	11

1.2.4	Vitamine B6 (pyridoxine)	11
1.2.4.1	Rôle.....	12
1.2.4.2	Sources.....	12
1.2.5	Vitamine B8 ou B7 (Biotine)	12
1.2.5.1	Rôles	12
1.2.5.2	Sources.....	13
1.2.6	La Vitamine B9 (Acide folique)	13
1.2.6.1	Rôles	13
1.2.6.2	Carences.....	14
1.2.7	Vitamine B12 (Cobalamine)	14
1.2.7.1	Rôles	14
1.2.7.2	Sources.....	15
1.2.8	Vitamine C (acide ascorbique)	15
1.2.8.1	Fonctions	15
1.2.8.2	Sources.....	15
1.2.8.3	Carences.....	16
2	Biosynthèse des vitamines produites par les microorganismes	16
2.1	Riboflavine.....	16
2.2	Cobalamine	19
2.3	Pyridoxine	20
Chapitre 02: Microorganismes producteurs, milieux de culture et processus de production des vitamines		
1	Microorganismes producteurs	22
1.1	Vitamine A.....	22
1.2	Vitamine B2	22
1.3	Vitamine B3 (ou vitamine PP).....	22
1.4	Vitamine B5	22
1.5	Vitamine B6	23
1.6	Vitamine B8 (B7).....	23
1.7	Vitamine B9	23
1.8	Vitamine B12	23
1.9	Vitamine C	24
1.10	Vitamine D.....	24
1.11	Vitamine E	24
1.12	Vitamine k.....	24
2	Modifications génétiques réalisées chez les microorganismes	25
3	Milieux de culture	27
3.1	Vitamine A.....	27
3.2	Vitamine B2	29

3.3	Vitamine B8 (B7).....	30
3.4	Vitamine C	30
3.5	Vitamine E	31
3.6	Vitamine K.....	31
3.7	Vitamine B12	32
4	Processus de production des vitamines.....	32
4.1	Vitamine A.....	32
4.2	Vitamine B2	34
4.3	Vitamine B12	36
	Conclusion.....	40
	Références bibliographiques.....	41
	Glossaire	

Liste des abréviations

4PHT : 4-Phospho-Hydroxy-L-Thréonine

ALO : D-Arabinono-1,4-Lactone Oxydase

APAB : Acide Para-Amino-Benzoïque

ARP : 5-Amino-6-Ribityl-amino-2,4(1H,3H) Pyrimidinedione

ARPP : 5-Amino-6-Ribityl-amino-2,4 (1H,3H) Pyrimidinedione-5'-Phosphate

CM : Cramer et Mayers

CoA : Coenzyme A

DARPP : 2,5-Di-Amino-6-Ribosyl-amino-4(3H) Pyrimidinedione-5'-Phosphate

DHBP : 3,4-Di-Hydroxy-2-Butanone-4-Phosphate

DMBI : 5,6-Di-Méthyl-Benzimidazole

DRL : 6,7-Diméthyl-8-Ribityl-Lumazine

DXP : Désoxy-Xylulose-5-Phosphate

DXS : 1-Desoxy-Xylulose-5-phosphate Synthase

EPD : Erythrose-4-Phosphate Déshydrogénase

FAD : Flavine Adénine Di-nucléotide

FMN : Flavine Mono-Nucléotide

G3P : Glycéraldéhyde-3-Phosphate

GDP : Guanosine Di-Phosphate

GMP : Guanosine Mono-Phosphate

GTP : Guanosine Triphosphate

HAD : Halo-Acides Déshydrogénases

LDL : Lipoprotéine de basse densité

NR : Nitrate Réductase

NRK : Nicotinamide **R**iboside **K**inase

P5P : Pyridoxal-**5**-**P**hosphate

Pan : Pantothénate

PNP : Purine Nucleoside **P**hosphorylase

rib : Gène qui code pour la **ribo**flavine (opéron *rib* : opéron de la biosynthèse de la riboflavine)

Ribu5P : Ribulose-**5**-**P**hosphate

SHM : Sérine Hydroxy-**M**éthyltransférerase

URH : Uridine **H**ydrolase

β-Ala : β-**A**lanine

Liste des figures

Figure 1. Structure chimique de la vitamine A.....	3
Figure 2. Structure chimique de la vitamine D.....	5
Figure 3. Structure chimique de la vitamine E.....	6
Figure 4. Structure chimique de la vitamine k.....	7
Figure 5. Structure chimique de la vitamine B2.....	8
Figure 6. Structure chimique de la vitamine B3.....	9
Figure 7. Structure chimique de la vitamine B5.....	10
Figure 8. Structure chimique de la vitamine B6.....	11
Figure 9. Structure chimique de la vitamine B7.....	12
Figure 10. Structure chimique de la vitamine B9.....	12
Figure 11. Structure chimique de la vitamine B12.....	13
Figure 12. Structure chimique de la vitamine C.....	14
Figure 13. Schéma de la biosynthèse de la riboflavine par <i>B. subtilis</i> et <i>Ashbya gossypii</i> ..	17
Figure 14. Représentation schématique des voies de biosynthèse aérobie et anaérobie de la cobalamine.....	19
Figure 15. Biosynthèse de la vitamine B6 par <i>Escherichia coli</i> et <i>Bacillus subtilis</i>	21
Figure 16. Organigramme de la production de caroténoïdes	34
Figure 17. Organigramme général de la production industrielle de cobalamine applicable au procédé aérobie chez <i>P. denitrificans</i>	39

Liste des tableaux

Tableau 1. Les modifications génétiques réalisées chez les bactéries afin d'améliorer leur production des vitamines.....	25
---	----

Introduction

Introduction

Les vitamines sont des composés organiques essentiels à la croissance et à la nutrition de l'être humain et des animaux. Elles sont nécessaires en petites quantités dans l'alimentation ; surtout quand elles ne peuvent pas être synthétisées par l'organisme. Les plantes et les micro-organismes produisent naturellement une grande diversité de vitamines et en quantités assez importantes selon leur conditions de culture. Tandis que les humains et les animaux ont besoin d'en consommer (**Ledesma-Amaro et al. 2013**). L'absence de quantités suffisantes en ces composés dans l'alimentation entraîne différents problèmes de santé et cause un impact économique énorme, notamment en perte d'animaux de fermes. Ainsi, au cours des dernières décennies, une vaste industrie liée à la production des vitamines s'est développée avec succès dans le monde entier. Actuellement, les vitamines sont produites industriellement par les microorganismes en quantités suffisantes pour couvrir les besoins humains et animaux, mais aussi pour permettre leur utilisation comme additifs alimentaires, agents cosmétiques, agents thérapeutiques et produits de santé (**Fujii et al. 2020**).

Traditionnellement, les vitamines sont produites par synthèse chimique organique, mais cela nécessite souvent un nombre élevé de réactions, utilisant des appareils coûteux ainsi que des solvants qui sont généralement des polluants indésirables nocifs à l'environnement. Pour surmonter ces inconvénients, la production biologique de vitamines a été développée, en identifiant les microorganismes producteurs naturels, en trouvant les conditions de cultures les plus rentables et en augmentant la production. Ainsi, la biotechnologie apparaît comme un moyen écologique sain afin d'augmenter la production des vitamines, d'enrichir les sources naturelles ou d'en créer de nouvelles molécules plus adaptées à des fins industrielles. En ce sens, la biotechnologie « verte » peut produire des cultures à haute teneur en vitamines, qui peuvent être extraites ou utilisées directement comme source alimentaire de vitamines, tandis que la biotechnologie « blanche » est capable de modifier les microorganismes grâce au génie génétique, en les transformant en vitamines producteurs (**Rana et al. 2019 ; Abd-El Gawad et al. 2020**).

La production microbienne présente plusieurs avantages car les microorganismes offrent une grande rapidité de croissance et de production. Aussi, ils ne dépendent pas des conditions climatiques et des saisons, mais plutôt des conditions physico-chimiques qu'on leur applique ; ils sont peu exigeants et peuvent être réutilisés plusieurs fois pour la même production. De plus, ils ne sont pas en concurrence avec les besoins alimentaires humains (**Huang et al. 2021**).

Introduction

De nombreuses disciplines et techniques sont développées par la communauté scientifique pour tenter d'encourager l'amélioration rapide de la biotechnologie « blanche », comme l'ingénierie métabolique, la bioinformatique, la fluxomique, la métabolomique, la biologie des systèmes, la biologie synthétique, etc. La plupart des vitamines sont produites par voie microbiologique et cette utilisation des germes continue à se développer de plus en plus. En effet, des approches à l'échelle moléculaire et génétique continuent d'être appliquées sur les microorganismes en vue d'améliorer la production des vitamines, notamment leur quantité et leur diversité ; et ce, toujours dans le but d'améliorer le rendement de production **(Balabanova *et al.* 2021)**.

Dans cette étude, nous avons effectué une recherche sur les vitamines et leurs différents types, nous avons défini leur importance pour l'être humain, puis nous avons déterminé les microorganismes appropriés pour la production de chaque vitamine en citant des exemples de biosynthèse. Dans un dernier lieu, nous avons précisé les améliorations génétiques qui sont actuellement appliquées sur les germes afin d'augmenter leur production industrielle de vitamines.

*Chapitre 1 : Types et
biosynthèse des
vitamines*

1 Définition des vitamines

Ce sont des substances organiques de faible poids moléculaire, sans valeur énergétique, indispensables à la croissance, à la reproduction et au fonctionnement de l'organisme qui ne peut les synthétiser lui-même. Elles doivent donc être fournies par l'alimentation, exceptées la vitamine D1 synthétisée par la peau et les vitamines B8 et K dont une partie est synthétisée par la flore bactérienne du gros intestin. Leur présence est nécessaire à la plupart des réactions biochimiques responsables de la vie cellulaire (**Fujii et al. 2020**).

Les vitamines se classent en deux groupes principaux : les liposolubles et les hydrosolubles. Celles qui sont produites par les microorganismes peuvent être définies comme suit :

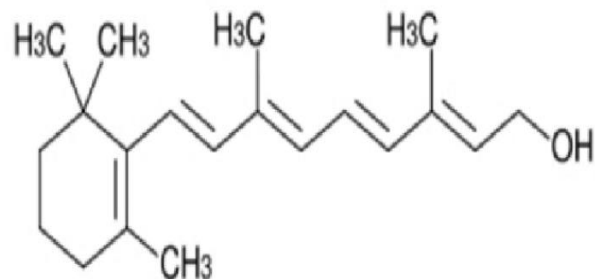
1.1 Vitamines liposolubles

Les vitamines liposolubles sont très vitales pour le bon fonctionnement du corps. Leurs carences ont été impliquées dans plusieurs troubles de santé. L'apport journalier recommandé des vitamines liposolubles A, D, E et K est 8000–1000 µg/jour, 8000–5000 µg/jour, 8–10 µg/jour et 70–140 µg/jour respectivement (**Kamangar et Emadi, 2012**).

1.1.1 Vitamine A (Rétinal)

La vitamine A est une vitamine liposoluble. Dans l'organisme, elle existe sous forme de rétinol, de rétinol, d'acide rétinoïque (trétinoïne) et de phosphate de rétinyle. Ces molécules sont altérées par l'oxygène de l'air, altérations accélérées par la lumière et la chaleur (**Khadim et al. 2021**). La structure chimique du rétinol est représentée dans la figure 1.

Figure 1. Structure chimique de la vitamine A (rétinol) (**Khadim et al. 2021**).



1.1.1.1 Rôles

Le bêta-carotène est converti en vitamine A dans le foie. Il sert principalement à protéger les yeux en cas d'infections et contribue à la vision en cas de faible luminosité. La vitamine A se combine avec la protéine opsine pour former rhodopsine dans les bâtonnets rétiens. Lorsque

les niveaux de la vitamine sont insuffisants, le manque de la rhodopsine rend difficile la vision dans la pénombre (**Gräslund et al. 2008**). Cette vitamine est également impliquée dans la fonction physiologique des épithéliums et des glandes, mais aussi dans la différenciation cellulaire normale. La vitamine A soutient la croissance osseuse et les fonctions immunitaires (**Wiseman et al. 2017**).

1.1.1.2 Carences

Une carence en cette molécule peut entraîner une cécité nocturne en raison d'une mauvaise régénération du pigment visuel dans les bâtonnets rétiniens. Si on laisse la déficience persister, les bâtonnets dégénèrent et une xérophtalmie se développe, conduisant à une véritable cécité (**Saari, 2016**), la xérose et la dégradation des muqueuses intestinales et pulmonaires, ainsi que le dysfonctionnement immunitaire, entraînent des infections fréquentes et une anémie inflammatoire chronique, hyperkératose folliculaire, anorexie, retard de croissance, infections respiratoires et intestinales (**Surman et al. 2020**).

L'excès de vitamine A peut provoquer des nausées, des vomissements, et l'anorexie (**Abrha et al. 2016**).

1.1.1.3 Fonctions

La vitamine A, a de multiples fonctions pour le corps humain : elle est importante pour la croissance et le développement de la croissance osseuse, le développement des dents, la vision (en particulier dans l'obscurité en aidant les yeux à s'adapter aux changements de lumière), la reproduction, la division cellulaire, l'expression des gènes et pour le maintien du système immunitaire (**Gräslund et al. 2008**). Essentiellement, la peau, les yeux et les muqueuses de la bouche, du nez, de la gorge et des poumons dépendent de la vitamine A pour rester humides. La vitamine A est également un composé antioxydant important qui pourrait jouer un rôle dans la prévention de certains cancers (**Khadim et al. 2021**).

1.1.1.4 Sources

Les sources de vitamine A sont les légumes à feuilles vertes, les céréales à germination et légumineuses, la viande, le poisson, la mangue verte, la papaye, la citrouille, les fruits et les légumes jaunes. D'autres sources sont les œufs, les épinards, les choux, les carottes, l'amarante, les huiles de foie d'angle, de morue et de flétan (**Abrha et al. 2016**).

1.1.2 Vitamine D (Calciférol)

La vitamine D a la structure représentée dans la figure 2. Elle existe sous deux formes: D₂ (ergocalciférol) produite par les végétaux, et D₃ (cholécalfiérol) présente dans les produits d'origine animale et certains lichens (**Figure 2**). Ces deux molécules sont des 9,10-sécostéroïdes (**Christakos et al. 2016**).

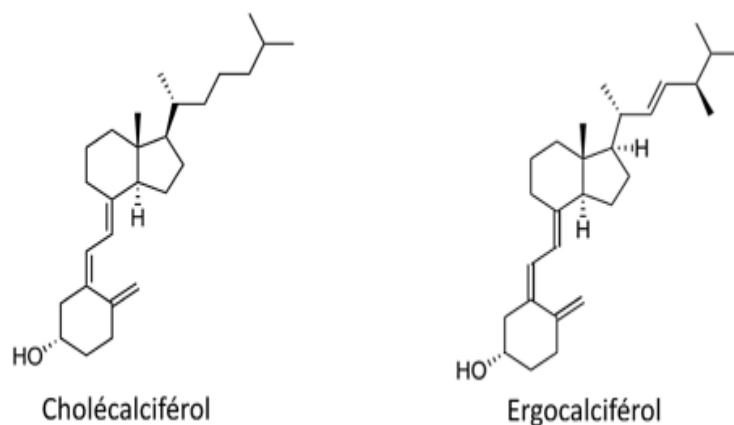


Figure 2. Structure chimique de la vitamine D (**Christakos et al. 2016**).

1.1.2.1 Rôles

Elle est utilisée pour contrôler la concentration de phosphore et du calcium dans le sang. Pour l'homme, la majeure partie de l'apport en vitamine D provient de sources animales ou est synthétisée suite à une exposition au soleil. La vitamine D₂ est formée en exposant l'ergostérol à la lumière ultraviolette. La vitamine D₃ est la vitamine D naturelle présente dans l'huile de poisson et formée dans la peau de l'homme et des animaux suite à une exposition au soleil. Ce peut être formé par l'irradiation du 7-déhydrocholestérol. Les vitamines D₂ et D₃ sont connues sous le nom de vitamères. La vitamine D améliore l'absorption du phosphore et du calcium de l'intestin et leur dépôt dans les os (**Nair et Maseeh, 2012**).

1.1.2.2 Sources

Les sources de vitamine D sont l'exposition au soleil, le foie, les œufs, le beurre, le fromage, l'huile de foie de poisson, les aliments enrichis, le lait et margarine (**Christakos et al. 2015**).

1.1.2.3 Fonctions

La vitamine D stimule la minéralisation normale des os et augmente la réabsorption tubulaire du phosphate. Elle possède également des propriétés antioxydantes (**Gaman et al. 2019**). Le vieillissement diminue la capacité de la peau à produire de la vitamine D₃. Dans le

tempéré zone, la production cutanée de vitamine D3 est limitée par la réduction des ultraviolettes disponibilités des radiations. En l'absence d'exposition solaire, environ 400 à 600 UI de vitamine D semblent être nécessaires quotidiennement pour maintenir le métabolisme osseux normal (Kennel *et al.* 2010).

1.1.2.4 Carences

Une carence en vitamine D peut affecter le développement osseux. Chez les enfants, une carence en vitamine D provoque le rachitisme, un trouble dans lequel les os se détériorent et se plient sous la pression. Chez l'adulte, une carence en vitamine D entraîne une ostéomalacie (os mous) qui augmente le risque de fractures osseuses (Christakos *et al.* 2015).

1.1.3 Vitamine E (Tocophérol)

La vitamine E est un facteur anti-stérilité et un antioxydant naturel. Les noms structurellement apparentés de la vitamine E incluent les tocophérols ou les tocotriénols, (Gheorghe *et al.* 2019). Sa structure chimique est représentée par la figure 3.

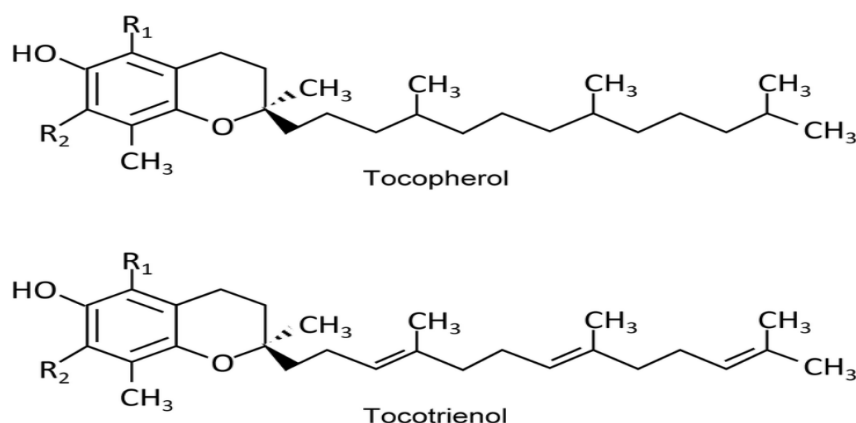


Figure 3. Structure chimique de la vitamine E (Niki et Abe , 2019).

1.1.3.1 Rôles

Elle est impliquée dans la cicatrisation des plaies et dans l'immunité (Birringer *et al.* 2019).

1.1.3.2 Sources

La vitamine E est principalement synthétisée par les plantes et se trouve, par conséquent, dans les produits végétaux tels que les fruits à coque (amandes, graines de tournesol, huiles végétales, grains entiers, olives et haricots) et les légumes à feuilles

(asperges et épinards). Des quantités importantes de cette vitamine peuvent également être obtenues à partir d'autres types d'aliments tels que le riz brun, le maïs, les œufs, les algues, le lait et la viande (Combs et McClung, 2022).

1.1.3.3 Carences

La carence en vitamine E est associée chez l'homme à la mucoviscidose, à l'ataxie et à l'abétalipoprotéïnémie (trouble qui interfère avec l'absorption normale des graisses et des vitamines liposolubles provenant des aliments) et aux avortements habituels et à la dégénérescence testiculaire chez les animaux de laboratoire. En outre, une carence en vitamine E peut entraîner une hémolyse accrue des globules rouges et une anémie macrocytaire chez les prématurés (Coleman, 2019).

Les effets de doses excessives de vitamine E entraînent une interférence avec l'utilisation des vitamines A et K, un temps de prothrombine prolongé, une irritabilité intestinale, des maux de tête, de la fatigue et des étourdissements (Schmölz *et al.* 2018).

1.1.4 Vitamine k (Phylloquinone)

Toutes les vitamines K ont un noyau naphthoquinone (2-méthyl-1-4-naphthoquinone) substitué en position 3 ; par une chaîne phytyl (phytoménadione ou vitamine K1) ou par des résidus prényl (ménaquinone ou vitamine K2) ou substitué seulement par un hydrogène (dans le cas de la ménadione ou vitamine K3) (Halder *et al.* 2019). La structure chimique de la vitamine K est représentée dans la figure 4.

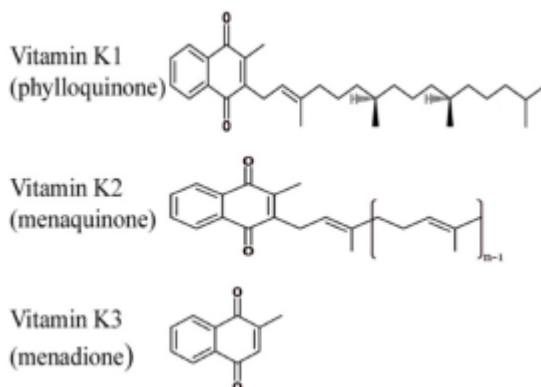


Figure 4. Structure chimique de la vitamine K (Halder *et al.* 2019).

1.1.4.1 Fonctions

La fonction principale de la vitamine K est la formation de prothrombine dans le foie ainsi que d'autres facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K, à savoir : VII, IX, X, protéines C et S qui sont essentielles à la coagulation sanguine normale (Reddy et Jialal, 2018).

1.1.4.2 Sources

Les sources alimentaires de phylloquinone comprennent les légumes, en particulier les légumes à feuilles vertes, les huiles végétales et certains fruits. La viande, les produits laitiers et les œufs qui contiennent de faibles niveaux de phylloquinone mais des quantités modestes de ménaquinones (**Elder *et al.* 2006**). Le natto (un aliment traditionnel japonais à base de soja fermenté) contient de grandes quantités de ménaquinones (**Booth, 2012**). D'autres aliments fermentés comme le fromage, contiennent également des ménaquinones. Cependant, les formes et les quantités de vitamine K dans ces aliments varient probablement en fonction des souches bactériennes utilisées pour fabriquer les aliments et de leurs conditions de fermentation (**Walther *et al.* 2013**).

1.1.4.3 Carences

Une carence en vitamine K peut entraîner des saignements généralisés, le développement d'une maladie hémorragique du nouveau-né et un temps de coagulation prolongé chez les adultes. Comme la vitamine K est nécessaire à la carboxylation de l'ostéocalcine dans les os, une carence en vitamine K pourrait également réduire la minéralisation osseuse et contribuer à l'ostéoporose (**Reddy et Jialal, 2018**).

Des doses excessives de vitamine K peut entraîner une hyperbilirubinémie chez les nourrissons et des vomissements chez les adultes (**Jagannath *et al.* 2013**).

1.2 Vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles sont un groupe de substances organiques dont l'homme a besoin en petites quantités pour prévenir les troubles du métabolisme. Une carence en ces vitamines peut entraîner des troubles du système nerveux (**Chawla et kvamberg, 2014**).

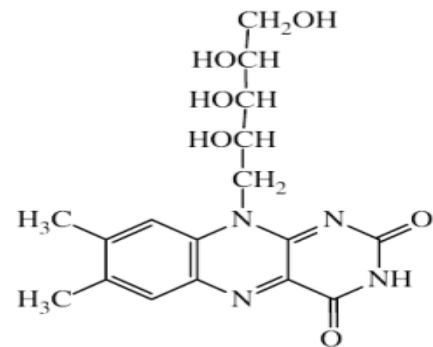
Les apports nutritionnels recommandés pour les vitamines hydrosolubles, y compris la thiamine, la riboflavine, la pyridoxine, la niacine, la biotine, l'acide ascorbique et l'acide pantothénique sont 1 mg/jour, 1,2 mg/jour, 2–2,2 mg/jour, 13 milliéquivalents, 100–200 µg/jour, 60 µg/jour et 4–7 mg/jour respectivement (**Kamangar et Emadi, 2012**).

1.2.1 Vitamine B2 (Riboflavine)

La vitamine B₂, correspondant à la riboflavine, ou lactoflavine, est une vitamine hydrosoluble nécessaire à la synthèse de la Flavine Adénine Dinucléotide (FAD) et de la Flavine Mono-Nucléotide (FMN), deux cofacteurs essentiels

aux flavoprotéines (Binod *et al.* 2010). La structure chimique de la vitamine B2 est représentée dans la figure 5

Figure 5. Structure chimique de la riboflavine (Binod *et al.* 2010).



1.2.1.1 Rôles

Cette vitamine convertit les glucides en glucose pour la production d'énergie, de même, elle neutralise gratuitement les radicaux qui agissent comme antioxydants (Pinto et Rivlin, 2013).

1.2.1.2 Sources

La riboflavine est une substance cristalline jaune. Elle se trouve dans les céréales, le lait, les œufs, le foie, l'avoine et les légumes verts verdoyants. Il est impliqué dans la respiration des tissus. Ses dérivés sont le FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) dans son état oxydé) et le FADH2 (FAD dans sa forme réduite). FADH2 donne deux ATP dans la chaîne de transport d'électrons. FAD et FADH2 sont impliqués dans des réactions d'oxydoréduction. Un FADH2 est obtenu dans le cycle TCA .Ceux-ci agissent comme des coenzymes dans les complexes alpha-céto glutarate déshydrogénase et succinate déshydrogénase (Barile *et al.* 2016).

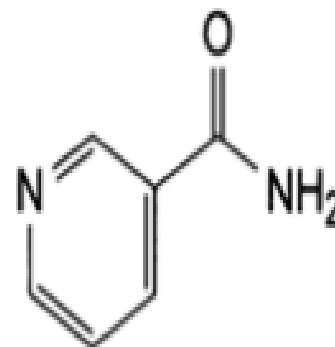
1.2.1.3 Carences

La carence en vitamine B2 entraîne une maladie connue sous le nom d'ariboflavine. Cette dernière se caractérise par une chéilose (desquamation texturée de la peau autour de la bouche), une glossite (rouge vif et douloureux de la langue), une douleur aux lèvres, des troubles oculaires et une photophobie (sensibilité à la lumière), une peau grasse du nez, une dermatite scrotale (Henriques et coll, 2010).

1.2.2 Vitamine B3 (Niacine)

La vitamine B3, également connue sous le nom de (nicotinamide, acide nicotinique, niacine ou PP) est le 3-pyridinecarboxamide (Figure 6).

Figure 6. Structure chimique de la vitamine B3 (Mehmel *et al.* 2020).



1.2.2.1 Rôles

La vitamine B3 est nécessaire à la respiration cellulaire, à une bonne circulation et à une peau saine, au fonctionnement du système nerveux et à la sécrétion normale des liquides biliaires et gastriques (Mehmel *et al.* 2020).

1.2.2.2 Fonctions

Elle aide à réduire le cholestérol LDL, réduit le risque des maladies cardiovasculaires, soulage l'arthrite. Cette vitamine se trouve dans les aliments d'origine animale tels que la viande rouge maigre, la volaille et le foie. Le beurre de pois est une excellente source de niacine. D'autres sources utiles comprennent les céréales à grains entiers, le thé au pain, le café, le maïs (maïs doux) (Kirkland et Meyer-Ficca, 2018).

Dans le corps, la niacine est convertie en coenzyme NAD (Nicotinamide Adénine Dinucléotide). Ces coenzymes sont impliquées dans les réactions d'oxydoréduction. Ils agissent comme des coenzymes de l'isocitrate complexes déshydrogénase, alpha-cétoglutarate déshydrogénase et malate déshydrogénase. C'est une vitamine hydrosoluble essentielle à l'alimentation humaine, mais qui peut être synthétisée dans l'organisme à partir du tryptophane (Ronsein *et al.* 2016).

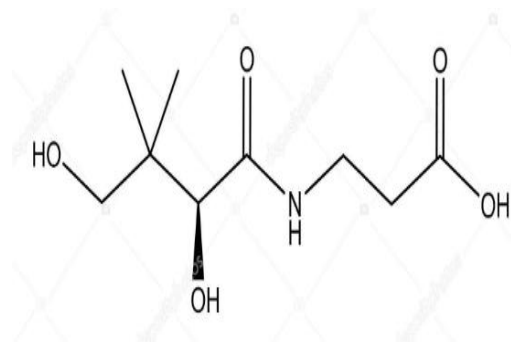
1.2.2.3 Carences

Sa carence conduit à une condition connue sous le nom de pellagre. La niacine a des effets hypolipémiants et peut être utilisée dans le traitement du diabète sucré (Elam *et al.* 2000).

1.2.3 Vitamine B5 (acide pantothénique)

La vitamine B₅, correspondant à l'acide panthoténique, ou panthénol, est une vitamine hydrosoluble. C'est un précurseur métabolique de la coenzyme A, essentielle à la synthèse et au métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Peterson *et al.* 2020).

Figure 7. Structure chimique de la vitamine B5 (Peterson *et al.* 2020).



1.2.3.1 Rôles

L'acide pantothénique est un composant clé de Coenzyme A, un cofacteur qui porte des groupes acyle pour de nombreux processus enzymatiques, et de la phosphopantéthéine dans les protéines porteuses d'acyle, un composant du complexe synthase des acides gras (Gregory ,2011).

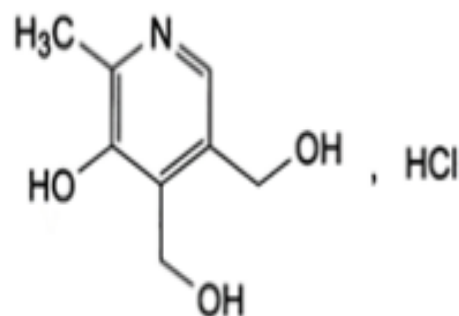
1.2.3.2 Sources

Elle provient du beurre d'arachide, foie, rognons, arachides, amandes, son de blé, fromage et homard. La grande majorité est déjà incorporée dans la coenzyme A (CoA) et sous forme de phosphopantéthéine. Les patients présentant un déficit en acide pantothénique peuvent développer une insuffisance surrénalienne, une entérite ou des affections dermatologiques (alopécie, dermatite, etc.) (Lykstad et Sharma, 2019).

1.2.4 Vitamine B6 (pyridoxine)

La vitamine B₆, également connue sous le nom de pyridoxine hydrochloride, est le chlorhydrate de 3-hydroxy-2-méthylpyridinine 4,5-diméthanol. La vitamine B₆ est un constituant du système enzymatique concerné par la transamination et la décarboxylation des acides aminés (British ,2009). Sa structure chimique est représentée dans la figure 8.

Figure 8. Structure de la vitamine B6 (British, 2009).



1.2.4.1 Rôle

Elle agit comme un cofacteur essentiel pour une gamme variée de réactions biochimiques qui régulent le métabolisme cellulaire de base (Parra *et al.* 2018).

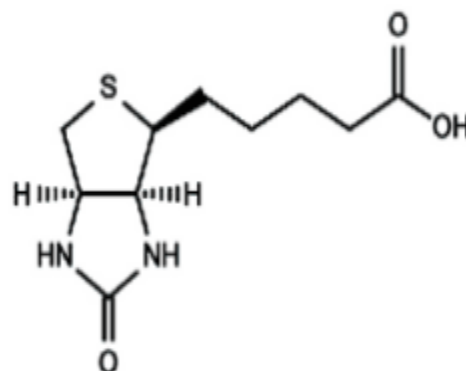
1.2.4.2 Sources

Les sources les plus riches en vitamine B6 sont le poisson, le foie de bœuf et d'autres abats, les pommes de terre, les légumes féculents et les fruits. Sa carence entraîne des troubles neurologiques et neuromusculaires (Mielgo-Ayuso *et al.* 2018).

1.2.5 Vitamine B8 ou B7 (Biotine)

La biotine est une vitamine hydrosoluble et sert de coenzyme pour cinq carboxylases chez l'homme (Janos *et al.* 2009). Sa structure chimique est représentée par la figure 9.

Figure 9. Structure chimique de la vitamine B7 (Naveed *et al.* 2015).



1.2.5.1 Rôles

Elle aide à convertir les aliments en glucose, qui est utilisé pour la production d'énergie. Elle aide également à produire des acides gras et des acides aminés (les éléments constitutifs des protéines) (Janos *et al.* 2009). La biotine active le métabolisme des protéines/acides aminés dans les racines des cheveux et les cellules des ongles (Janos *et al.* 2009).

1.2.5.2 Sources

Elle est obtenue à partir des haricots verts, du jaune d'œuf, des légumes verts foncés, des rognons et du foie. Les effets d'une carence ou d'un excès en biotine sont inconnus (**Hsu et al. 2016**).

1.2.6 La Vitamine B9 (Acide folique)

L'acide folique est un membre de la famille des vitamines B9. Sa structure moléculaire peut être subdivisée en trois composants qui consistent en une fraction ptéridine avec des anneaux A et B, liés par un pont méthylène au carbone 6 à l'Acide Para-Amino-Benzoïque (APAB), et une liaison amide à un fragment d'acide glutamique (**Zhao et al. 2009**). Sa structure chimique est représentée dans la figure 10.

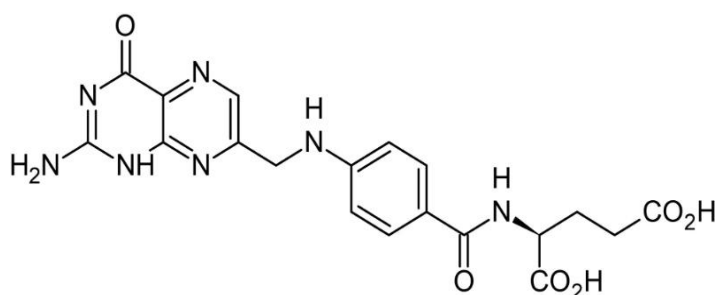


Figure 10. Structure chimique de la vitamine B9 (**Guilland et Aimone-Gastin, 2013**).

1.2.6.1 Rôles

Elle aide à la réplication de l'ADN, au métabolisme des vitamines et des acides aminés, à la bonne division cellulaire. L'acide folique aide à réduire le risque de **spina bifida** (anomalies du tube neural) chez les nouveau-nés lorsqu'il est pris par les femmes enceintes. L'acide folique est la forme synthétisée du folate, une vitamine soluble dans l'eau, présente dans les légumes à feuilles vertes, les fruits et le foie. Après conversion, la vitamine B9 ou folate devient le tétrahydrofolate, sa forme active. C'est une molécule essentielle dans la synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) (**Kunisawa et al. 2012**).

Le méthylentétrahydrofolate est impliqué dans la synthèse de la thymidine, un composant important de l'ADN. Les malformations du tube neural sont fréquentes chez les enfants dont les mères manquaient d'acide folique pendant la grossesse. Les anomalies du tube neural peuvent être évitées chez les enfants dont les mères reçoivent des suppléments d'acide folique pendant la grossesse (**Hodgetts et al. 2015**).

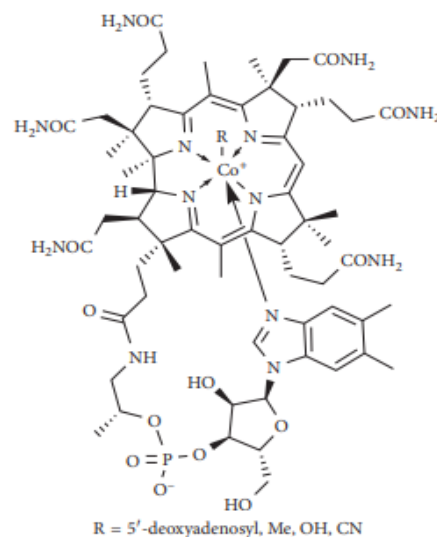
1.2.6.2 Carences

Une carence en folate peut entraîner des anomalies du tube neural, ainsi les femmes enceintes devraient recevoir des suppléments de folate comme méthode préventive. Une carence en folate peut également provoquer une anémie mégaloblastique, un type d'anémie macrocytaire, et incite à un diagnostic différentiel avec une carence en vitamine B12, qui provoque également une anémie mégaloblastique (Lykstad et Sharma, 2019).

1.2.7 Vitamine B12 (Cobalamine)

La vitamine B12, également appelée cobalamine, est une vitamine hydrosoluble essentielle au fonctionnement normal du cerveau, du système nerveux et à la formation du sang. C'est l'une des huit vitamines B. C'est une macromolécule comportant un noyau corrine formé de quatre molécules de pyrrole, au centre desquelles se trouve un atome de cobalt, et d'une structure benzimidazole-ribose-acide phosphorique liée à ce noyau (Nicole *et al.*2019). Sa structure chimique est représentée par la figure 11.

Figure 11. Structure chimique de la vitamine B12 (Nicole *et al.*2019).



1.2.7.1 Rôles

La méthyl vitamine B12 médie la réaction dans laquelle l'acide aminé méthionine, qui est nécessaire à la synthèse de la myéline, est généré à partir de l'homocystéine. Au cours de ce processus, le tétrahydrofolate de méthyle est également converti en tétrahydrofolate. La production normale de tétrahydrofolate de méthyle dépend d'un apport adéquat en acide folique et en vitamine B12 (Hodgetts *et al.* 2015).

Une déficience de l'un ou l'autre peut produire un défaut dans tous les tissus avec un taux rapide de prolifération cellulaire, par exemple : la moelle osseuse (entraînant une anémie

mégalo-blastique) et le tractus gastro-intestinal. L'administration de fortes doses d'acide folique chez un patient carencé en vitamine B12 peut soulager l'anémie mais ne peut pas guérir ou même aggraver le déficit neurologique, en augmentant la demande tissulaire en vitamine B12 (Lykstad et Sharma, 2019 ; Ankar et Kumar, 2019).

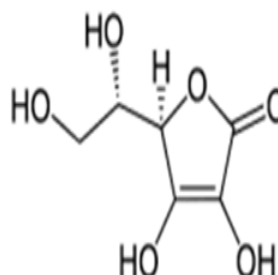
1.2.7.2 Sources

La vitamine B12 (cyanocobalamine) est présente dans la viande, les produits laitiers, le poisson et les œufs. Il est essentiel à la production normale de globules rouges par la moelle osseuse et à la croissance des cellules nerveuses (Hariz et Bhattacharya, 2019).

1.2.8 Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C (acide ascorbique) est un solide cristallin soluble dans l'eau (Halliwell, 2001). L'une des propriétés importantes de la vitamine C est son activité antioxydante. Il est présent sous une forme énantiomériquement pure dans les citrons, les jus de fruits et les légumes frais. De formule chimique générale $C_6H_8O_6$, la vitamine C appartient aux groupes des sucres à 6 atomes et est un dérivé du D-Glucose (Devaki et Raveendran, 2017).

Figure 12. Structure chimique de la vitamine C (Devaki et Raveendran, 2017).



1.2.8.1 Fonctions

Fonctions de la vitamine C dans l'activation des enzymes, la réduction du stress oxydatif et la fonction immunitaire. L'activité antioxydante de la vitamine C aide à prévenir certaines maladies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, le rhume, la dégénérescence musculaire liée à l'âge et la cataracte (Devaki et Raveendran, 2017).

1.2.8.2 Sources

La plupart des animaux et des plantes synthétisent l'acide ascorbique ; cependant, les primates et les humains manquent de gluconolactone oxydase, une enzyme clé dans l'étape finale de l'ascorbate synthèse. Ainsi, chez ces espèces, les besoins quotidiens en vitamine C doivent provenir de l'alimentation. Les oranges, les citrons, les pamplemousses, les légumes

verts feuillus et le foie de boeuf sont les meilleures sources de vitamine C. La vitamine C est nécessaire pour former le collagène qui renforce les tissus conjonctifs et est nécessaire à la cicatrisation des plaies et une fonction immunitaire normale (Ferraro *et al.* 2016).

1.2.8.3 Carences

Une carence en vitamine C provoque des changements dans le conjonctif, conduisant au développement du scorbut, une maladie dans laquelle le collagène synthétisé est instable. Les symptômes du scorbut comprennent des douleurs musculaires, un gonflement des articulations et saignement. La vitamine C agit comme un antioxydant et un piègeur de radicaux libres d'oxygène et peut être utilisée par voie topique dans les troubles cutanés, y compris ceux causés par le photo-vieillessement (Sorice *et al.* 2014 ; Luis Gomez *et al.* 2018). L'hyperpigmentation de la peau peut être traitée avec de la vitamine C, car elle inhibe l'activité des mélanocytes, c'est-à-dire les cellules impliqués dans la synthèse de la mélanine (Telang, 2013).

2 Biosynthèse des vitamines produites par les microorganismes

La biosynthèse des vitamines est conditionnée par plusieurs gènes qui déterminent si le microorganisme considéré est capable ou non de fabriquer ces molécules. De ce fait, ces voies d'anabolisme sont très complexes. Comme exemples, nous citons dans ce travail le cas de trois vitamines :

2.1 Riboflavine

La biosynthèse de la riboflavine commence à partir de deux substrats majeurs, GTP (Guanosine Triphosphate) et Ribu5P (Ribulose 5-Phosphate), dérivés de la biosynthèse des purines ou/et de la voie des pentoses phosphates. Les deux voies contiennent sept étapes enzymatiques qui gèrent le produit final (Liu *et al.* 2020). La recherche sur la biosynthèse de la riboflavine a démontré que les caractéristiques de la plupart des enzymes et des étapes impliquées dans la voie de la riboflavine sont pour la plupart similaires entre les procaryotes et les plantes, alors que les champignons utilisent une voie et des enzymes quelque peu différentes (Abbas et Sibirny, 2011).

Pour produire les précurseurs du GTP et du Ribu5P, les micro-organismes industriels *Candida famata* et *Bacillus subtilis* utilisent le glucose, tandis que l'*Ashbya gossypii* préfère les acides gras. La plupart des connaissances sur la biosynthèse de la riboflavine aujourd'hui ont été obtenues de manière très détaillée pour deux grands producteurs industriels : le champignon filamenteux *Ashbya gossypii* et la bactérie Gram-positive *B. subtilis*. Chez *B.*

subtilis, la voie de biosynthèse réalisée par l'opéron *rib* (opéron de la biosynthèse de la riboflavine) est constituée de sept gènes : *ribD*, *ribG*, *ribE*, *ribA*, *ribB*, *ribH*, *ribT* (Pedrolli *et al.* 2015). Le génome d'*Ashbya gossypii* est organisé en sept chromosomes et gènes responsables de la biosynthèse de la riboflavine, et il n'est pas regroupé comme chez les bactéries. Les six gènes biosynthétiques de la riboflavine qui codent pour les enzymes de la riboflavine chez *Ashbya gossypii*, *rib1*, *rib2*, *rib3*, *rib4*, *rib5*, *rib7*, et leur régulation sont très similaires à ceux de *Saccharomyces cerevisiae* qui est devenue un modèle pour la biologie du développement fongique (Ledesma -Amaro *et al.* 2014 ; Aguiar *et al.* 2015).

La première étape de la voie des purines pour la biosynthèse de la riboflavine débute de manière similaire chez tous les microorganismes, à partir de la conversion du GTP en 2,5-Di-amino-6-Ribosyl-amino-4(3H)Pyrimidinedione-5'-phosphate (DARPP), formiate et pyrophosphate catalysés par la GTP cyclohydrolase II (Liu *et al.* 2020). Le gène *rib1* chez *Ashbya gossypii* et le *ribA*, *ribB* bifonctionnel hybride chez *B. subtilis* codent pour cette enzyme (Figure 13). La surexpression de *ribA* et *ribB* dans *B. subtilis* a entraîné une augmentation de 25 % de la riboflavine, indiquant l'étape limitant le taux de biosynthèse (Averianova *et al.* 2020).

Par la suite, le DARPP est converti en 5-Amino-6-Ribityl-amino-2,4(1H,3H)Pyrimidinedione (ARP) par des réactions séquentielles de désamination, de réduction de chaîne latérale et de déphosphorylation. Chez *Ashbya gossypii*, la DARPP est exposé par une réaction de réduction et une désamination ultérieure par les enzymes correspondantes DARPP réductase (codée par *rib7*) et DARPP désaminase (codée par *rib2*), pour générer 5-Amino-6-Ribityl-amino-2,4 (1H,3H)Pyrimidinedione-5'-Phosphate (ARPP) (Figure 1). Chez *B. subtilis*, la désamination se produit avant la réduction, qui est dans l'ordre inverse et est catalysée par une enzyme bi-fonctionnelle codée par *ribD* et *ribG* (Pedrolli *et al.* 2015). La prochaine étape est la déphosphorylation de l'ARPP. Cependant, le mécanisme de déphosphorylation ainsi que la phosphatase qui catalyse la conversion d'ARPP en ARP restent à élucider dans la voie de biosynthèse de la riboflavine, bien que de nombreux travaux d'investigation aient été effectués sur l'origine des quatre carbones d'ARP. Une phosphatase spécifique, catalysant la déphosphorylation de l'ARPP, a été trouvée chez les plantes parmi huit enzymes de la superfamille des haloacides déshydrogénases (HAD), mais elle n'a pas encore été déterminée chez *B. subtilis* (Sa *et al.* 2016).

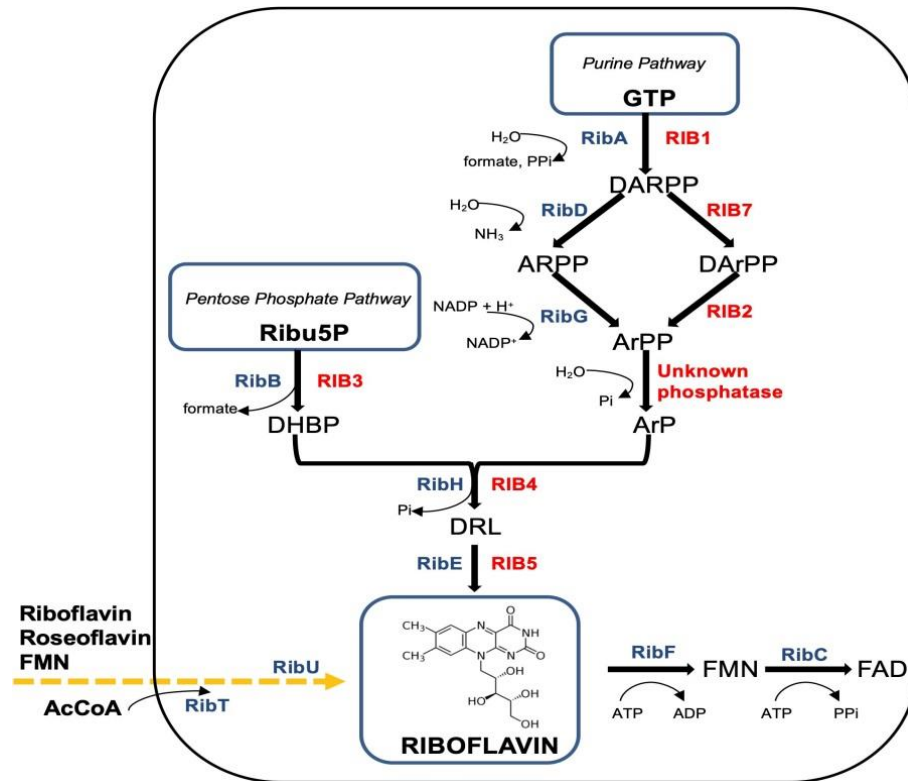


Figure 13. Schéma de la biosynthèse de la riboflavine par *B. subtilis* et *A. gossypii* (Averianova et al. 2020)

La biosynthèse de la riboflavine est aussi une continuation de la voie alternative du pentose phosphate. Elle comprend la conversion catalytique de Ribu5P en 3,4-Dihydroxy-2-Butanone-4-Phosphate (DHBP) par la DHBP synthase. Les gènes codant pour cette étape sont *rib3* et *ribB* pour *Ashbya gossypii* et *B. subtilis* respectivement. Il est important de noter que le produit de *ribA* et *ribB* dans *B. subtilis* est une enzyme bifonctionnelle fusionnée avec des activités GTP cyclohydrolase II et 3,4-DHBP synthase, qui catalyse le clivage du GTP et convertit le DHBP de Ribu5P dans les étapes initiales des deux branches de la biosynthèse de la riboflavine (Schwechheimer et al. 2016).

Par la suite, les deux branches de la voie de biosynthèse de la riboflavine (celle du GTP et celle du Ribu5P) fusionnent en une seule. Suite à la condensation de l'ARP avec le DHBP, on obtient la 6,7-Diméthyl-8-Ribityl-Lumazine (DRL) catalysée par la DRL synthase. L'enzyme est codée par *rib4* chez *A. gossypii* et par *ribH* (Han et Woycechowsky, 2017).

La dernière étape est la dismutation de DRL par la riboflavine synthase traduite de *ribE* dans *B. subtilis* et *rib5* dans *Ashbya gossypii* pour former la riboflavine et ARP, qui est recyclée dans la voie de biosynthèse de la riboflavine (Figure13).

Enfin, la flavokinase/FAD-synthase bifonctionnelle codée par le gène de *Bacillus*, *ribF* et *ribC*, catalyse la conversion de la riboflavine en FMN et FAD impliquées dans les réactions d'oxydoréduction à tous les niveaux cellulaires (**Revuelta et al. 2016 ; Garcia-Angulo, 2017**).

2.2 Cobalamine

En raison de la nature chimique complexe de la vitamine B12, plus de 30 gènes sont nécessaires pour l'ensemble de la biosynthèse de *novo* de la cobalamine, qui représente environ 1 % d'un génome bactérien typique (**Martens et al. 2002**).

Deux voies de biosynthèse différentes pour la vitamine B12 existent dans la nature :

- ✓ Voie aérobie, ou plus précisément une voie dépendante de l'oxygène que l'on retrouve chez des organismes comme *Pseudomonas denitrificans*,
- ✓ voie anaérobie indépendante de l'oxygène étudiée chez les organismes comme *Pseudomonas shermanii*, *Salmonella typhimurium* et *Bacillus megaterium* (**Moore et Warren, 2012**).

Les gènes codant pour les enzymes contribuant à la biosynthèse de la cobalamine dépendante de l'oxygène sont reconnus par le préfixe *cob*, tandis que les gènes impliqués dans la voie indépendante de l'oxygène sont généralement nommés à l'aide du préfixe *cbi* (**Martens et al. 2002**).

La biosynthèse de tous les dérivés de tétrapyrrole commence du squelette C-5 du glutamate. Dans la première étape, le glutamate lié à l'ARNt est réduit en glutamate-1-semialdéhyde par la glutamyl-ARNt réductase. L'aldéhyde est converti en acide 5-aminolévulinique. Deux molécules d'acide 5-aminolévulinique sont condensées pour générer du porphobilinogène. Quatre molécules de porphobilinogène sont polymérisées pour former l'uroporphyrinogène III. La décarboxylation de l'uroporphyrinogène III conduit à la biosynthèse d'hèmes et des chlorophylles, méthylation de l'uroporphyrinogène III en C-2 et C-7 entraîne la synthèse de la précorrène-2. Au niveau de la précorrène-2, les deux voies de biosynthèse de la cobalamine divergent (**Fang et al. 2017**).

Ainsi, les voies dépendantes de l'oxygène et indépendantes pour la synthèse de B12 sont assez distincts : la partie de la voie indépendante de l'oxygène commence par l'insertion de cobalt dans la précorrène-2, tandis que cette réaction de chélation dans la partie dépendante de l'oxygène ne se produit qu'après neuf étapes de réaction précédentes (**Figure 14**). La voie

dépendante de l'oxygène nécessite de l'ATP, contrairement à son homologue anaérobie qui ne nécessite aucun équivalent à haute énergie (Survase *et al.* 2006).

Alors que les voies de biosynthèse B12 divergent au niveau de la précorrine-2, elles se rejoignent au niveau de l'acide adénylsyco-byrique, qui est transformé en cobinamide par la fixation d'un bras aminopropanol au propionique chaîne latérale acide du cycle D. La boucle nucléotidique inférieure est fixé en transférant le résidu phosphoribosyle de mononucléotide d'acide nicotinique en DMBI. La résultante l'a-ribozole est enfin lié de manière covalente au GDP activé l'adénylsyco-binamide, libérant ainsi du GMP et donnant montée à la molécule de coenzyme B12 entièrement fabriquée (Survase *et al.* 2006).

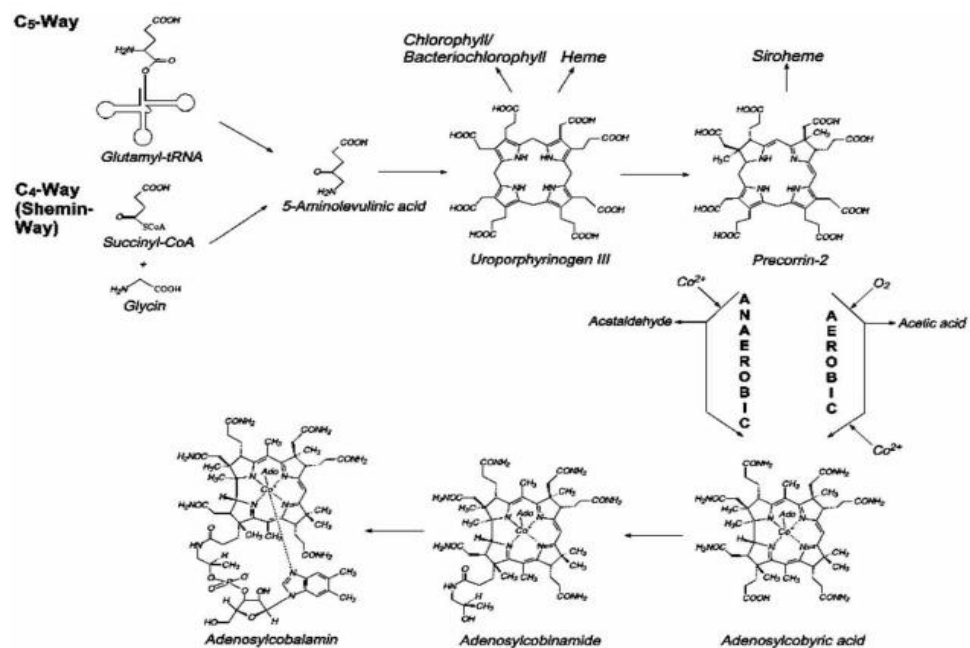


Figure 14. Représentation schématique des voies de biosynthèse aérobie et anaérobie de la cobalamine (Martens *et al.* 2002).

2.3 Pyridoxine

La biosynthèse de la vitamine B6 se fait par la voie de *novo* ou par la voie de récupération.

Synthèse de *novo* de la vitamine B6 : Deux voies de synthèse de *novo* du P5P (Pyridoxal-5'-Phosphate) sont actuellement connues (Rosenberg *et al.* 2017).

La voie de biosynthèse de la vitamine B6 dépendante du Désoxy-Xylulose-5-Phosphate (DXP) identifié chez *Escherichia coli* et se compose de deux branches et de sept étapes enzymatiques (Figure 15). Les trois premières enzymes EPD (Erythrose-4-Phosphate

déshydrogénase), PdxB (4-Phosphoérythronate déshydrogénase) et SerC (3-phospho-sérine) de la branche la plus longue convertissent un intermédiaire de la voie des pentoses phosphates en 4-Phospho-Hydroxy-L-Thréonine (4PHT). Ensuite, le PdxA convertit le 4PHT en acide 2-Amino-3-Oxo-4-(Phospho-hydroxy) Butyrique, puis subit une décarboxylation spontanée en 3-Phospho-Hydroxy-1-Amino-acétone (**Rudolph et al. 2010**).

La PNP synthase PdxJ produit le vitamère B6 PNP à partir de 3-Phospho-Hydroxy-1-Amino-acétone et de DXP, dont ce dernier substrat est généré par la DXP synthase DXS (1-Desoxy-Xylulose-5-phosphate Synthase) à partir de glycéraldéhyde-3-phosphate et de pyruvate dans la branche courte de la vitamine B6 dépendante de DXP. Le PNP oxydase PdxH catalyse l'étape finale donnant le vitamère B6 PLP ou P5P. Les voies hybrides constituées d'enzymes des voies natives et non natives de la vitamine B6 et d'enzymes de promiscuités peuvent être améliorées par ingénierie métabolique pour augmenter la production de vitamères B6 (**Rosenberg et Commichau, 2019**).

La voie de biosynthèse de la vitamine B6 indépendante du DXP implique uniquement le complexe enzymatique PdxST (**Strohmeier et al. 2006**). La PdxT est une glutaminase qui hydrolyse la glutamine en glutamate et ammonium, ce dernier servant de substrat à la PLP synthase PdxS (**Belitsky, 2004**). La sous-unité PdxS génère du PLP à partir d'ammonium avec du Ribulose-5-Phosphate ou du Ribose-5-Phosphate et avec du Glycéraldéhyde-3-Phosphate (G3P) ou du Di-Hydroxy-Acétone Phosphate (**Figure 15**). De nombreux organismes possèdent une voie de récupération pour l'interconversion des vitamères B6 (**di Salvo et al. 2011**). Les bactéries comme *Escherichia coli* et *Sinorhizobium meliloti* synthétisent une phosphatase pour la déphosphorylation des PNP (Pyridoxine-5'-phosphate) et PLP (**Sugimoto et al. 2017**).

Voie de récupération des vitamères B6 : La plupart des organismes, qu'ils soient capables ou non de synthétiser du PLP de *novo*, possèdent une voie de récupération permettant l'interconversion des vitamères B6 PL (Pyridoxal), PN (Pyridoxine) et des esters phosphate respectifs PLP (Pyridoxal 5'-phosphate), PMP (Pyridoxamine 5'-phosphate) et PNP (Pyridoxine 5'-phosphate) (**Fitzpatrick et al. 2007 ; di Salvo et al. 2011**). Les organismes ne transportant que la voie de récupération doivent absorber les PN, PM ou PL de l'environnement et les phosphoryler. En effet, *Escherichia coli* synthétise les vitamines B6 kinases PdxK et PdxY, qui peuvent convertir PL en PLP. Récemment, la PL réductase PdxI, une nouvelle enzyme de récupération de la vitamine B6 convertissant la PL en PN, a été identifié dans *Escherichia coli* (**Ito et Downs, 2020**).

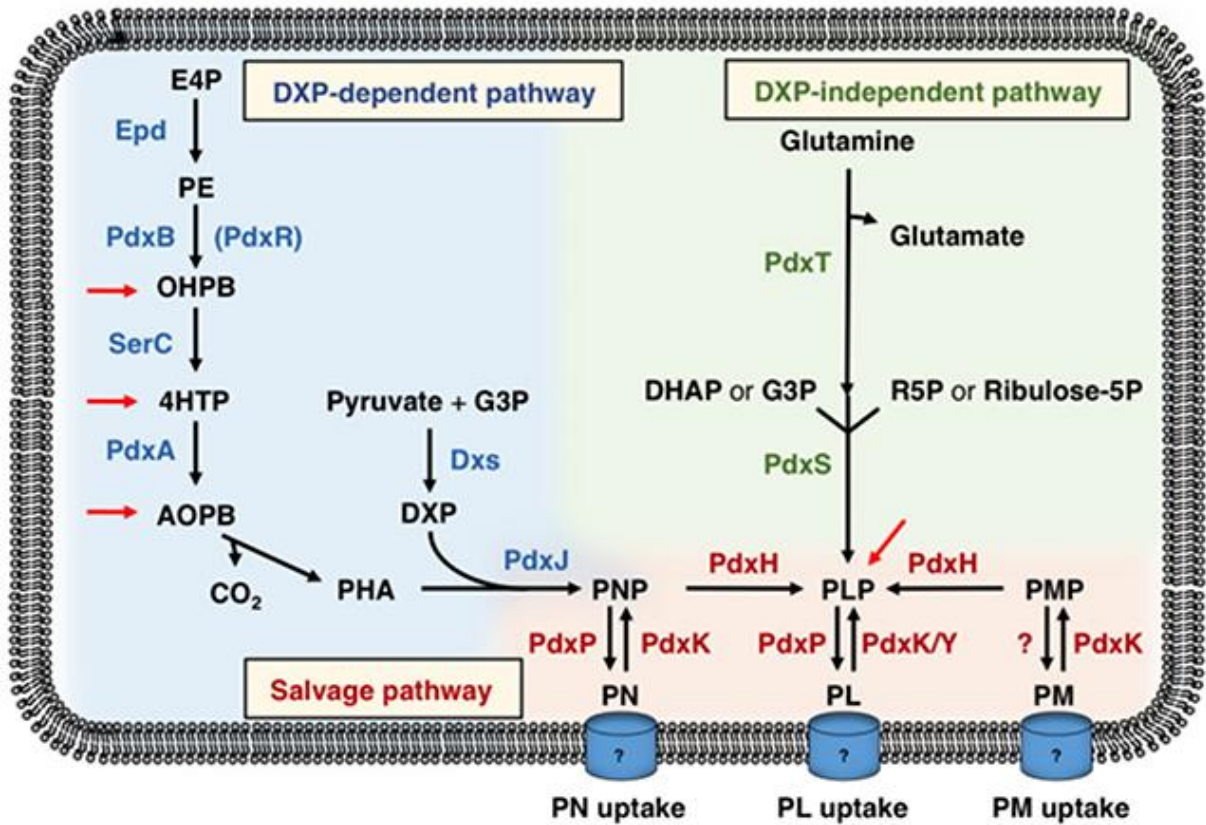


Figure 15. Biosynthèse de la vitamine B6 par *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (Rosenberg *et al.* 2018).



Chapitre 2 :
Microorganismes
producteurs, milieux de
culture et processus de
production des
vitamines

1 Microorganismes producteurs

1.1 Vitamine A

Les espèces *Yarrowia lipolytica* et *Blakeslea trispora*, sont le plus fréquemment utilisées pour la production du β -carotène, le précurseur de la vitamine A. Ces espèces sont choisies en raison du rendement élevé qu'elles offrent. En effet, elles ont un taux élevé de l'expression des gènes *CarRA* et *CarB* impliqués dans la production de la vitamine A (Liu *et al.* 2021). D'autres microorganismes sont également rencontrés comme *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* (Yao *et al.* 2017 ; Sun *et al.* 2019) et *Dunaliella spp* (Marchal *et al.* 2013).

1.2 Vitamine B2

La riboflavine est naturellement produite par plusieurs microorganismes tels que les champignons Ascomycètes (ex : *Ashbya gossypii* et *Eremothecium ashbyii*), les levures (ex : *Candida flaueri*, *Candida famata* et *Saccharomyces cerevisiae*) et les bactéries (ex : *Bacillus subtilis* et *Corynebacterium ammoniagenes*). Même si les moisissures sont les plus utilisées, dans certaines fermentations les bactéries et les levures sont très recommandées pour la facilité de la culture continue chez les unicellulaires (Balabanova *et al.* 2021).

1.3 Vitamine B3 (ou vitamine PP)

Le principal microorganisme producteur du nicotinamide est *Escherichia coli*. Cette espèce a permis de développer un biocatalyseur de cellules entière qui donnait une production élevée, sélective et efficace de β -Nicotinamide mononucléotide. De plus, la production se fait à partir de matières premières peu coûteuses, comme le glucose (Shoji *et al.* 2021).

1.4 Vitamine B5

Les espèces *Escherichia coli* et *Corynebacterium glutamicum* sont utilisées pour une production élevée de l'acide pantothénique. *Escherichia coli* est visée pour une production efficace de l'acide d-pantothénique via une ingénierie métabolique systématique. De même, la surexpression des gènes *panC* et *panB* chez *Corynebacterium glutamicum* est importante pour augmenter la production de la vitamine jusqu'à 29 % de plus par rapport aux souches où ces gènes n'ont pas été multipliés (Zhang *et al.* 2019).

Le *Bacillus megaterium* est aussi utilisée après des modifications causant l'expression de la pantoate- β -alanine ligase pour la production biocatalytique améliorée d'acide D-pantothénique (Tadi *et al.* 2022).

1.5 Vitamine B6

Bacillus subtilis est très utilisée pour la production de la pyridoxine. Cette espèce synthétise le précurseur de la vitamine, le pyridoxal 5'-phosphate, en utilisant la voie PLP (pyridoxal phosphate) dépendante de la voie de DXP (1-desoxy-D-xylulose-5-phosphate) non native tronquée d'*Escherichia coli* (Commichau *et al.* 2014).

1.6 Vitamine B8 (B7)

Les microorganismes producteurs de cette vitamine sont *Escherichia coli*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* et *Serratia marcescens*. Ces bactéries aident à rendre la biotine produite par biotechnologie beaucoup plus avantageuse que celle produite par synthèse chimique. Il a été démontré *in vitro* que les enzymes d'*Escherichia coli* et *Bacillus sphaericus* condensent le pimeloyl-CoA avec la L-alanine dans une réaction dépendante du pyridoxal 5'-phosphate avec libération concomitante de CoA et décarboxylation de la L-alanine (Manandhar *et al.* 2017).

1.7 Vitamine B9

La principale bactérie productrice du folate est *Bacillus subtilis*. Cette bactérie a été sélectionnée pour les nombreuses modifications génétiques qu'elle supporte. Plus précisément, la voie de synthèse du 5-méthyltetrahydrofolate (5-MTHF) avec le dihydrofolate comme précurseur a été renforcée pour déplacer le flux métabolique vers la biosynthèse du 5-MTHF. Ceci en remplaçant le gène *yitJ* par le gène *metF* d'*Escherichia coli*, en découpant le gène *purU* et en surexprimant le gène *dfrA*. Ensuite, la voie d'approvisionnement en précurseurs du 5-MTHF a été renforcée par la co-surexpression de *folC*, *pabB*, *folE* et *yciA* chez *Bacillus subtilis*. Ces modifications ont entraîné une amélioration de 93,2 fois du titre de 5-MTHF, qui a atteint 960,27 µg/L (Yang *et al.* 2020).

1.8 Vitamine B12

La production commerciale de la vitamine B12 est principalement réalisée par l'utilisation de deux souches industrielles qui sont *Propionobacterium shermanii* et *Pseudomonas denitrificans*. D'autres microorganismes comme : *Bacillus megaterium* peuvent être utilisés, mais ils demeurent moins performants que les deux premières espèces (Biedendieck *et al.* 2010 ; Balabanova *et al.* 2021).

1.9 Vitamine C

Les microorganismes producteurs de la vitamine C sont nombreux. Nous avons en premier lieu les bactéries, comme *Gluconobacter oxydans*, *Bacillus megaterium*, *Ketogulonicigenium vulgare* (Liu *et al.* 2019) ; puis certaines levures, dont *Saccharomyces cerevisiae* (Zhou M *et al.* 2021) ; et en dernier lieu les microalgues, notamment *Prototheca moriformis* et *Chlorella pyrenoidosa* (Ledesma-Amaro *et al.* 2013).

1.10 Vitamine D

La première espèce productrice est *Saccharomyces cerevisiae*. Elle a été utilisée pour la première fois comme accumulateur de la vitamine D3 ; et de ce fait, les conditions optimales d'enrichissement de *Saccharomyces cerevisiae* ont été déterminées. Le piégeage du cholécalciférol dans la biomasse de la levure a depuis été maîtrisé et a augmenté d'environ deux fois dans des conditions optimisées, ce qui indique l'efficacité de l'optimisation chez cette espèce (Mohajeri Amiri *et al.* 2019).

1.11 Vitamine E

Cette vitamine est produite majoritairement par *Euglena gracilis*. Pour cette production, les chercheurs utilisent la biomasse de l'algue pour la production simultanée du α -tocophérol, du paramylon et des biogaz dans une chaîne à valeur ajoutée. *Euglena gracilis* est très favorisée pour la production industrielle de la vitamine pour ses faibles exigences nutritives qui augmente le rendement davantage par rapport aux autres microorganismes (Grimm *et al.* 2015).

1.12 Vitamine k

La ménaquinone est produite par *Escherichia coli*. La production de la vitamine a d'abord été réalisée par des souches d'*Escherichia coli* modifiées pour la surexpression du gène *HepPPS* dérivé de celui de *Bacillus subtilis* (*BsHepPPS*). Puis, la biosynthèse a encore été optimisée en induisant l'expression enzymatique de la voie hétérogène de l'acide mévalonique et du *BsHepPPS*. La quantité de la vitamine K produite est alors devenue 22 fois plus élevée que chez la souche d'origine (Gao *et al.* 2020).

2 Modifications génétiques réalisées chez les microorganismes

Les modifications génétiques sont très importantes dans les productions industrielles des vitamines par les microorganismes. En effet, un grand nombre de changements a été effectué chez les souches de départ afin d'améliorer leur productivité. Les souches les plus impliquées sont citées dans le tableau 1 :

Tableau 1. Les modifications génétiques réalisées chez les bactéries afin d'améliorer leur production des vitamines.

Vitamines	Microorganismes	Modifications génétiques	Références
B₂	<i>Bacillus subtilis</i>	Surexpression des gènes biosynthétiques de la riboflavine ; Ingénierie d'un ribocommutateur FMN non réactif ; Réduction de l'activité de la flavokinase RibCF ; Amélioration de la synthèse des purines de <i>novo</i> et de l'apport de pentoses.	Schwechheimer et al. 2016
	<i>Ashbya gossypii</i>	Surexpression des gènes biosynthétiques de la riboflavine ; Surexpression de la thréonine aldolase ; Perturbation du gène <i>SHM2</i> codant pour la sérine hydroxy-méthyltransférase.	Abbas et Sibirny, 2011
B₃	<i>S. cerevisiae</i>	Éliminez l'importateur de l'enzyme NR Nkt1 dans la souche NRK1 URH1 PNP1 déficiente en récupération	Belenky et al. 2011
B₅	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Inactivation du gène <i>ilvA</i> et surexpression des gènes <i>ilvBNCD</i> et <i>panBC</i>	Acevedo-Rocha et al. 2019
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Inactivation du gène <i>ilvA</i> et surexpression des enzymes natives <i>IlvBNCD</i> et <i>PanBC</i> .	Huser et al. 2005

		Expression réduite de l'enzyme IlvE.	
	<i>Bacillus subtilis</i>	Surexpression de <i>IlvBHCD</i> et <i>PanBCDE</i> ainsi que des enzymes GlyA et SerA.	Hohmann et al. 2016
	<i>E.coli</i>	Surexpression des enzymes Epd, PdxJ et D6PS.	Rosenberg et al. 2017
B6	<i>B. subtilis</i>	Surexpression de l'enzyme Epd extraite d' <i>Escherichia coli</i> et des gènes <i>PdxR</i> , <i>SerC</i> , <i>PdxA</i> et <i>PdxJ</i> extraits de <i>Sinorhizobium meliloti</i> .	Commichau et al. 2014
B7	<i>E.coli</i>	Utilisation de la mutagenèse chimique avec sélection sur l'acidomycine et l'acide 5-(2-thiényle) valerianique ; Surexpression d'un opéron biotine natif à partir d'un plasmide avec nombre élevé de copies.	Van Arsdell et al. 2005
	<i>B. subtilis</i>	Surexpression de l'opéron biotine natif et sélection sur S-2-aminoéthyl-L-cystéine.	Acevedo-Rocha et al. 2019
C	<i>S. cerevisiae</i>	Surexpression de la D-arabinono-1,4-lactone oxydase endogène et de la L-galactose déshydrogénase (surexpression de LGDH et ALO1).	Sauer et al. 2004
K	<i>B. subtilis</i>	Surexpression de <i>menF</i> , <i>menB</i> , <i>menE</i> , <i>entC</i> , <i>ppsA</i> , <i>aroK</i> , <i>ispA</i> , <i>hepS/T</i> , <i>kdpG</i> , <i>dxr</i> , <i>dxs</i> , <i>fni</i> , <i>menA</i>	Cui et al. 2019
B9	<i>A. gossypii</i>	Surexpression des gènes <i>fol</i> et délétion de <i>met7</i> et des gènes concurrents	Serrano-Amatriain et al.

		<i>AgADE12</i> et <i>AgRIB1</i> .	2016
B12	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Mutagenèse aléatoire à l'aide de radiothérapie (lumière UV) et de produits chimiques (éthylèneimine et nitrosométhylurétane) ; Surexpression du groupe de gènes <i>cobF-cobM</i> ainsi que des gènes <i>cogA</i> et <i>cobE</i> ; Optimisation des promoteurs, SFR (Site de Fixation du Ribosome) et des terminateurs.	Li et al. 2008
	<i>Propionibacterium shermanii</i>	Surexpression des gènes biosynthétiques.	Marie Sych et al. 2016
	<i>Bacillus megaterium</i>	Surexpression de <i>hemACDBL</i> , <i>sirA</i> , <i>cbiXJCDETLFGA</i> , <i>cysGA</i> , <i>cbiY</i> , <i>btuR</i> , <i>glmS</i> , <i>metH</i> , <i>rtpR</i> .	Moore et al. 2014

3 Milieux de culture

La constitution du milieu de culture est primordiale pour favoriser et optimiser la production des métabolites microbiens. De même que les modifications génétiques qui peuvent être apportés aux microorganismes permettent d'orienter plus facilement les réactions métaboliques vers un produit bien déterminé.

Pour la production des vitamines, la source de carbone et le choix des minéraux ajoutés jouent souvent un rôle primordial dans le rendement.

3.1 Vitamine A

Dunaliella spp et d'autres algues ont la capacité de produire du bêta-carotène quand elles sont placées en trophophase (phase de croissance et de multiplication cellulaire). En d'autres termes, la production de la biomasse par ces microorganismes permet d'augmenter le

taux de vitamine A. Et pour ceci les conditions de cultures doivent être optimales (**Marchal et al. 2013**).

Pour la production de la bêta-carotène par *Blakeslea trispora*, les cultures sont réalisées en fermenteurs. Comme sources de carbone sont appliquées la farine de maïs et de blé, le sirop de maïs, le glucose, les marques de légumes et de fruits, et même les hydrocarbures liquides, comme le pétrole purifié. L'ajout d'huiles végétales dans la phase de croissance à l'état d'équilibre entraîne une augmentation de la concentration en β -carotène (**Bogacz-Radomska et Harasym, 2018**).

Les ultrasons aussi ont un effet sur la production de bêta-carotène par *Blakeslea trispora*. La stratégie optimisée consiste à exposer des cultures mycéliennes âgées de trois jours à un traitement par ultrasons ayant une fréquence fixe de 20 kHz, une puissance de 491 W, un temps de traitement de 3 min, un temps de travail de 3 s et un temps de repos de 5,8 s, répété quatre fois à 24h d'intervalle. Ces conditions augmentent la production de la vitamine A considérablement chez toutes les souches de l'espèce (**Wang et al. 2014**).

D'autres études ont démontré que pour une bonne production de la vitamine A, le milieu devait contenir des extraits de levures, de la peptone et du glucose. L'incubation se faisait alors avec agitation de 150 rpm à 28°C (**Jacobsen et al. 2020**).

Le glucose et le glycérol ont été tous deux testés comme sources de carbone pour la production, et les résultats ont démontré que le glucose demeurerait la meilleure source de carbone. Les minéraux sont aussi ajoutés pour favoriser la production avec les quantités suivantes (NH₄)₂SO₄: 5 g/L, KH₂PO₄: 3 g/L, MgSO₄.7H₂O: 0.5 g/L, et les métaux sous formes d'éléments traces comme suit : FeSO₄.7H₂O: 3 g/L, ZnSO₄.7H₂O: 4.5 g/L, CaCl₂. 6H₂O: 4.5 g/L, MnCl₂.2H₂O: 0,84 g/L, CoCl₂. 6H₂O: 0,3 g/L, CuSO₄.5H₂O: 0,3 g/L, Na₂MoO₄.2H₂O: 0,4 g/L, H₃BO₃: 1 g/L, KI: 0,1 g/L, Na₂EDTA: 15 g/L (**Jacobsen et al. 2020**).

D'autres vitamines peuvent être utilisées pour optimiser la production, de même que les précurseurs de synthèse de la vitamine A, notamment la solution vitaminique composée par la D-biotine, le Calcium pantothénate, la thiamine-HCl, la pyridoxine-HCl, l'acide nicotinique, l'acide p-aminobenzoïque et le m-inositol (**Jacobsen et al. 2020**).

3.2 Vitamine B2

La production fermentaire de la riboflavine est naturellement réalisée par des Ascomycètes dits « flavinogènes », tels qu'*Eremothecium ashbyii* et *Ashbya gossypii*. L'accumulation de riboflavine dans les mycéliums se fait en fin de phase de croissance, ce qui donne aux champignons une couleur jaune vif (Aguiar *et al.* 2015). *Ashbya gossypii* est préférée commercialement car elle maintient une capacité de production élevée et constante de la riboflavine, tandis que les souches hautement flavinogènes d'*Eremothecium ashbyii* perdent facilement leur potentiel lors de la lyophilisation ou du stockage à température ambiante ce qui entraîne leur instabilité génétique et leur faible productivité (Abbas et Sibirny, 2011).

Parc *et al.* (2007) ont triplé le rendement en riboflavine, en utilisant des spores d'*Ashbya gossypii* qui ont été mutées par une exposition à la lumière UV. L'ajout de terre décolorante activée contenant 75 g/L d'huile de colza et d'air enrichi en oxygène à la culture des souches mutée a augmenté la concentration de riboflavine de 15 %. D'autres études ont démontrées qu'en unissant les techniques génétiques et l'optimisation par des suppléments, les souches d'*Ashbya gossypii* pourraient produire jusqu'à 40 % de riboflavine en plus (Park *et al.* 2011).

Candida famata est l'une des levures qui présente le potentiel flavinogène le plus élevé, mais son extrême sensibilité au fer rend le processus de fermentation compliqué. Sa production en riboflavine n'est maximale que dans des conditions de carence en fer (Averianova *et al.* 2020). Les espèces de *Candida* produisent la riboflavine quand elles sont cultivées sur un milieu contenant le sucrose, le KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ZnSO_4 et à pH 7. La fermentation est alors réalisée à 30°C avec une vitesse de rotation de 100 rpm dans des conditions aérobies (Suzuki *et al.* 2009). Une autre étude a confirmé que la thréonine donnait une stimulation multipliée par neuf chez des souches contenant un gène cloné de la thréonine aldolase, responsable de la conversion de la thréonine en glycine (Abbas et Sibirny, 2011).

D'un autre côté, la levure non flavinogène *Saccharomyces cerevisiae* pouvait aussi être cultivée en présence d'acétate de calcium et d'ions zinc, ce qui permettait une bonne production de la riboflavine. La productivité dans ces conditions donnait jusqu'à 3,4 g / L de riboflavine sans problèmes d'impuretés par rapport aux cellules cultivées sur mélasse (Averianova *et al.* 2020).

Bacillus subtilis est capable de produire des précurseurs de la riboflavine, à savoir l'inosine et la guanosine, par la voie des purines, puis de les convertir en riboflavine. De ce fait, cette bactérie est souvent utilisée pour la production industrielle de la vitamine (Paracchini *et al.* 2017). Selon Wu *et al.* (2007), le glucose, la poudre de levure, le MgSO₄, l'urée, le CuCl₂ et MnCl₂ avaient les plus grands effets sur la production de riboflavine par *Bacillus subtilis*. Ils augmentaient les niveaux de riboflavine jusqu'à 16,4 g/L en 48 h seulement.

3.3 Vitamine B8 (B7)

Le travail réalisé par Tiemi Suzuki *et al.* (2011) a montré que les *Candida* produisaient la biotine sur le même milieu cité pour la production de la riboflavine (Suzuki *et al.* 2009).

L'espèce *Serratia marcescens* est aussi utilisée pour la production de la biotine. Pour ceci, le milieu utilisé est le milieu minimum enrichi avec 3 % d'urée, l'extrait de levures, la L-cystéine et le sucrose (Streit et Entcheva, 2003).

Brown et ses collaborateurs (1991) ont étudié la production de la biotine par des souches recombinantes d'*Escherichia coli*. Ils ont construit par génie génétique des souches recombinantes d'*Escherichia coli* qui surproduisaient la vitamine. Pour la suite des études sur la souche utilisée était *Escherichia coli* C268 ayant un génotype bioA et le plasmide pTG3410 avec deux cassettes d'expression. Ils ont comparé la biotine et les vitamines produits et ont conclu que différents paramètres influençaient la formation des vitamines et de la biotine (échelle de culture, type de culture, étape d'inoculation, pH, température, oxygène dissous, variation des constituants du milieu et ajout de précurseur) (Survase *et al.* 2006).

Leurs résultats ont démontré que le fermenteur de 20 litres était le meilleur pour la production. Une culture discontinue avec une source de carbone (glycérol) devait être utilisée. Les conditions optimales de pH et de température étaient respectivement de 7 et 37 °C. La fermentation en fed-batch a permis d'augmenter la masse sèche cellulaire de 18 à 50 g/L et la biotine de 30 à 45 mg/L. ceci représentait un gain significatif par rapport aux valeurs trouvées dans un fermenteur de 2 litres (Survase *et al.* 2006).

3.4 Vitamine C

La vitamine C est souvent produite par la souche BY4741 de *Saccharomyces cerevisiae* qui sert de souche mère. Toutes les transformations réalisées sur la levure sont

faites en utilisant le protocole LiAc/PEG/ss-DNA. Selon ce procédé, la souche mère est traitée sous choc thermique à 42°C pendant 15 min, puis récupérée dans du chlorure de calcium 5 mM pendant 5 min et finalement étalée sur un milieu de sélection approprié (**Martani et al. 2013**). La production de la vitamine par les souches de levures modifiées se fait dans un milieu synthétique complet contenant 20 g/L de glucose, 6,7 g/L de bases azotées de levures et certains acides aminés appropriés (l'uracile 0,02 g/L, l'histidine 0,02 g/L, la tryptophane 0,02 g/L et la leucine 0,1 g/L), sinon en ajoutant au milieu l'extrait de levure peptone dextrose (**Zhou et al. 2021**).

3.5 Vitamine E

Plusieurs souches de microalgues d'eau douce *Euglena gracilis* Z produisent de l'alpha-tocophérol à des concentrations plus élevées que les aliments conventionnels traditionnellement considérés comme riches en vitamines (exemples : huiles de soja, margarine, fruits oléagineux etc.). Des études d'optimisation de la production de l'alpha-tocophérol ont été réalisées avec *Euglena gracilis* Z et ont démontré qu'une densité cellulaire élevée provoquait une diminution de la pénétration de la lumière dans chaque cellule, diminuant ainsi l'activité photosynthétique. Cela a à son tour diminué les conditions aérobies et augmenté la teneur en vitamine E. De plus, la disponibilité de l'oxygène (conditions d'aération optimale) et du glucose augmentait le métabolisme hétérotrophe. La teneur en vitamine dans ces conditions a atteint des valeurs très importantes (1,21 mg/g de masse cellulaire sèche) (**Survase et al. 2006**).

3.6 Vitamine K

Les déchets industriels, tels que le glycérol brut, sont très utilisés pour la vitamine K2 par *Bacillus subtilis*. Le glycérol brut est la principale source de carbone utilisée, de même que la combinaison de peptone de soja et d'extraits de levures qui est propice à la synthèse de la vitamine K2 (**Zhang et al. 2020**).

La composition optimale du milieu pour la production de la vitamine K est la suivante : 6,3 % de glycérol brut, 3,0 % de concentration de peptone de soja et 5,1 g/L d'extraits de levures. Le test en fermenteur a en outre prouvé que l'utilisation du glycérol brut n'affectait ni la synthèse de la vitamine K, ni la croissance de *Bacillus subtilis* (**Zhang et al. 2020**).

3.7 Vitamine B12

Selon certaines études, la production de la vitamine B12 par l'espèce *Propionibacterium freudenreichii* a montré que le glucose, l'extrait de levure, le KH₂PO₄ et la glycine avaient des effets significatifs sur la production. Le taux de production de la vitamine B12 était optimisé de 120 % par rapport au milieu de culture du départ (**Liu et al. 2021**). Les travaux d'Assis *et al.* (2020) ont aussi montré que la biosynthèse de la vitamine B12 peut se faire par des bactéries probiotiques en utilisant un résidu agro-industriel tel que le lactosérum ou le résidu protéique acide liquide du soja comme milieu de culture alternatif à faible coût.

La culture de *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* ATCC 13673 sur le résidu protéique acide liquide du soja pour la biosynthèse de la vitamine B12 a été étudiée en utilisant l'approche expérimentale de Plackett-Burman, suivie d'un plan composite central 2² pour optimiser la concentration des variables significatives. Un traitement protéolytique du substrat a ensuite été réalisé pour évaluer l'influence du milieu optimisé sur la croissance et le métabolisme microbien dans des expériences en flacon agitateur et en bioréacteur. Dans ce milieu entièrement végétal, la souche a produit de fortes concentrations de cellules et de grandes quantités de vitamine B12 (0,6 mg/g de cellules) après optimisation du processus. Ces résultats montraient la possibilité de produire de la vitamine B12 par une bactérie probiotique potentielle dans un milieu sans dérivé animal, très bon marché, en réduisant les coûts de production de cette vitamine essentielle (**Assis et al. 2020**).

4 Processus de production des vitamines

4.1 Vitamine A

A l'échelle industrielle, le β -carotène est obtenu dans les cultures de moisissures *Blakeslea trispora* et d'algue *Dunaliella salina*. Les cultures sont conduites en trois étapes principales : la multiplication de l'inoculum, la biosynthèse de la biomasse et l'extraction des caroténoïdes (**figure 16**). Selon la forme finale du β -carotène, la biomasse est soumise à des opérations technologiques appropriées (**Pawlowska, 2009 ; Xinde et al. 2012**).

La biosynthèse du β -carotène par *Blakeslea trispora* utilise le sexe opposé "+" et "-". Les cultures sont réalisées en fermenteurs. Comme sources de carbone sont appliquées la farine de maïs et de blé, le sirop de maïs, le glucose, les marcs de légumes et de fruits, et

même les hydrocarbures liquides, par ex. pétrole purifié. En particulier, l'ajout d'huiles végétales dans la phase de croissance à l'état d'équilibre entraîne une augmentation de la concentration en β -carotène. Le processus de cristallisation est effectué avec des alcools contenant de un à six atomes de carbone, par exemple le n-propanol à 60°C. Le β -carotène peut ensuite être utilisé comme additif alimentaire après mélange avec de la gélatine, du saccharose, de l'amidon ou des huiles végétales (**Joseph et Anandane, 2011 ; Xinde et al. 2012**).

L'algue *Dunalella salina* est la principale source commerciale de β -carotène naturel d'origine microbiologique. La culture a besoin de conditions spéciales comme un ensoleillement intense et une eau relativement salée. La teneur optimale en chlorure de sodium pour la biomasse et le β -carotène pour la biosynthèse est de 24 %. Les cultures sont principalement menées dans des cuves ouvertes, où la productivité est de l'ordre de 30 à 40 g de masse sèche par jour et m². Le taux de biosynthèse du β -carotène dépend de la taille du réservoir et diminue avec l'extension de capacité. Le processus d'isolement du β -carotène est déterminé par la forme commerciale du produit. Pour obtenir une poudre d'algue contenant 3 % de β -carotène, la biomasse est centrifugée et séchée. En revanche, pour obtenir une émulsion de caroténoïde, le colorant d'algue est soumis à une extraction, une purification et une séparation de couleur. Par la suite, le β -carotène est dissous dans des huiles végétales (**Pisal et Lele, 2005 ; Mykolaiovych et al. 2008**).

Remarque : Les algues sont la source la plus populaire de caroténoïdes et ont la confiance des consommateurs. Cependant, on remarque qu'ils accumulent une grande quantité de métaux lourds ; par conséquent, ils ne devraient pas être recommandés pour une application alimentaire. Seules les algues issues d'une production propre, sans accès à l'air pollué, sont la source sûre de composés précieux.

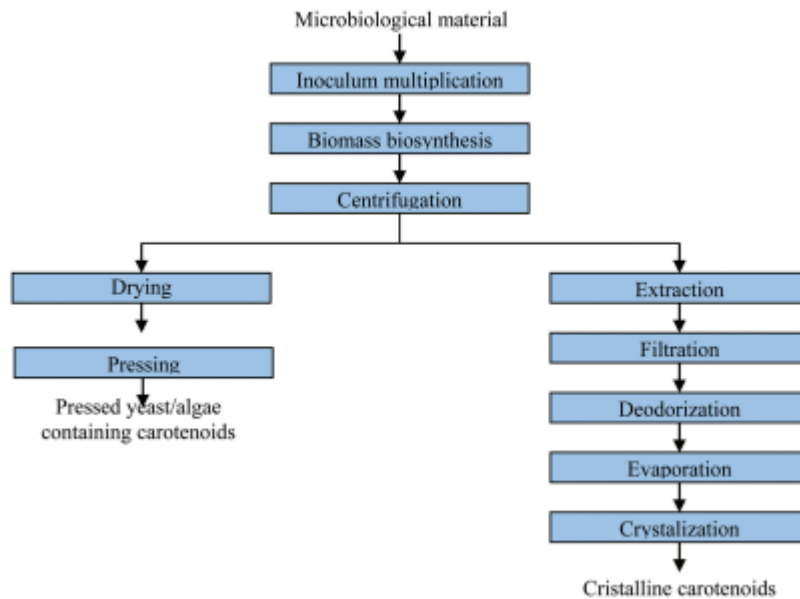


Figure 16. Organigramme de la production de caroténoïdes

4.2 Vitamine B2

Le procédé technologique de production fermentative de riboflavine est composé de trois étapes principales :

- Le traitement en amont qui comprend le développement de souches, la stérilisation des sources de carbone et d'azote, la préparation du milieu et de l'inoculum,
- Le bioprocédé ou fermentation, il fonctionne à des taux de pH, de température, d'aération et d'agitation optimaux,
- Le traitement en aval qui comprend la pasteurisation du bouillon, l'isolement, la purification, la recristallisation et le séchage de la riboflavine (Heinzle *et al.* 2006).

Traitement en amont

Des souches génétiquement améliorées d' *Ashbya gossypii* sont utilisées depuis 1990 pour la production industrielle de riboflavine par l'entreprise chimique BASF (Allemagne) (Aguiar *et al.* 2017). En 2001, BASF et Takeda (Japon) ont formé une joint-venture et optimisé la production biotechnologique de vitamine B2 en utilisant la méthode fed-batch avec des huiles végétales comme sources de carbone et des produits de soja/maïs comme sources d'azote (Igami et Sugaya, 2016). Une optimisation plus poussée de la synthèse industrielle de riboflavine avec *A. gossypii* a conduit à une production de riboflavine supérieure à 20 g/L (Schwechheimer *et al.* 2016).

En 2000, Roche a utilisé une souche de *B. subtilis* RB50 résistante à la roseoflavine génétiquement modifiée pour la surproduction de riboflavine atteignant des concentrations

supérieures à 10 g/L avec du glucose comme source de carbone (**Hohmann et al. 2001**). La méthode fed-batch limitée en carbone développée appliquée aux souches industrielles était disponible pour recycler la biomasse fermentée afin d'obtenir des réserves de carbone et d'azote pour un nouveau cycle de fermentation (**Schwechheimer et al. 2016**). Les composants du milieu avant la préparation de l'inoculum et les processus de fermentation doivent être stérilisés séparément par plusieurs groupes (sources de carbone, sources d'azote, sels dans l'eau et acides aminés) pour éviter les réactions de Maillard, dans lesquelles les produits peuvent devenir des inhibiteurs de la production de riboflavine. La préparation de l'inoculation comprend l'utilisation de bouillons d'inoculum à faible concentration (2–10 % v/v) contenant du mycélium jeune et indifférencié dépourvu de spores et de sacs sporifères (**Schwechheimer et al. 2016**).

Fermentation

La fermentation de la riboflavine pour *A. gossypii* est effectuée à la plage de température optimale de 26–30°C dans des fermenteurs discontinus alimentés (100 m³), avec un pH initial du milieu de culture d'environ 6,5–7,5, dans des conditions aérobies pendant 6–8 jours jusqu'au pic de rendement (**Schwechheimer et al. 2016**). Le processus de fermentation par la souche RB 50 de *B. subtilis* est réalisé sur des cultures en discontinu alimenté en carbone à une échelle de 35 m³ et a un temps de cycle court (48-56 h) (**Stahmann et al. 2000**). La riboflavine est synthétisée et libérée dans le bouillon de culture à de faibles taux de croissance dans des conditions strictes de limitation en carbone de la phase d'alimentation (**Hohmann et al. 2001**).

Traitement en aval

Le traitement en aval commence par la pasteurisation du bouillon pour éliminer toutes les cellules viables de l'organisme de production présentes dans le produit final. En raison de la faible solubilité de la riboflavine dans les solvants aqueux neutres, une partie du produit de fermentation s'accumule sous forme de cristaux aciculaires dans le bouillon, qui peuvent être facilement séparés de la biomasse par centrifugation ou filtration. La cristallisation est complétée dans le cristalliseur par évaporation d'une partie de l'eau. Un lavage ultérieur des cristaux avec des acides dilués chauds (acide chlorhydrique ou sulfurique) perturbe l'ADN de la souche. Une séparation supplémentaire (par décantation, filtration ou centrifugation) suivie d'une purification et d'un séchage (séchage sous vide/atomisation) permet l'acquisition d'un produit final (poudre/granulé) avec une teneur en riboflavine allant

jusqu'à 96 % (applications de qualité alimentaire). Une étape de lavage supplémentaire et une recristallisation sont utilisées pour les applications humaines avec 99% de qualité alimentaire (Schwechheimer *et al.* 2016).

Remarque : Lorsque l'on compare les procédés industriels décrits pour deux souches majeures productrices de riboflavine, il est clair que la souche surproductrice naturelle *A. gossypii* prend beaucoup de temps en raison de la séparation des phases de croissance et de production, alors que la souche *B. subtilis* est à croissance rapide et peut produire de la riboflavine en 48 h, ce qui la rend préférable pour une production à grande échelle.

4.3 Vitamine B12

La vitamine B12 est actuellement produite industriellement par fermentation microbienne, à partir de souches génétiquement modifiées de *P. denitrificans* et *P. freudenreichii*. La synthèse biotechnologique se fait par quelques étapes enzymatiques, suivies de la conversion de la vitamine B12 naturelle en forme cyanocobalamine stable à l'air par une réaction avec le cyanure (lors de la fabrication industrielle) (Acevedo-Rocha *et al.* 2019).

Production par *Propionibacterium freudenreichii*

La production de vitamine B12 à l'échelle industrielle avec des souches de *Propionibacterium freudenreichii* est réalisée dans des conditions anaérobies mais en présence d'oxygène pour la synthèse du ligand DMB (Sych *et al.* 2016). Ainsi, le bioprocédé de la vitamine B12 utilisant des souches de *Propionibacterium* est généralement divisé en deux étapes : (1) des cellules bactériennes cultivées dans des conditions anaérobies pendant les trois premiers jours pour générer AdoCbi (intermédiaire dépourvu de ligand DMB), et (2) synthèse du ligand inférieur suivie de conjugaison au cobinamide sous aération délicate de la culture jusqu'à trois jours. Généralement, la température optimale du procédé se fixe à 30 °C (Piwowarek *et al.* 2018).

Les Cobalamines actifs produits par les souches de *Propionobacterium* s'accumulent principalement pendant la phase stationnaire. Comme sources de carbone pour la fermentation industrielle, les souches de *Propionobacterium* peuvent utiliser le lactate, le glucose, le saccharose, le fructose (de la mélasse de betterave à sucre) à des concentrations de 50 à 100 g/L (Falentin *et al.* 2010) mais ne peuvent pas utiliser le maltose (Loux *et al.* 2015). D'autres sources de carbone, que *P. freudenreichii* peut métaboliser, sont le mannose, le glycérol,

l'inositol et le galactose (**Falentin et al. 2010**). Les composés supplémentés pour améliorer la croissance de la culture peuvent inclure des nutriments tels que l'extrait de levure, la liqueur de macération de maïs, la caséine à la concentration de 50 à 70 g/L d'hydrolysats. Les composants stimulant le processus de fermentation comprennent les faibles concentrations de minéraux (fer, magnésium, manganèse, sels de cobalt), de vitamines (bétaine, choline, riboflavine, nicotinamide), d'acides aminés (acide glutamique, glycine, thréonine), d'ALA et de B12 précurseur DMB de 10 à 25 mg/L (**Sych et al. 2016**). Les suppléments clés Co^{2+} et DMB affectent significativement une production industrielle de B12 (**Wang et al. 2015**). Pour la production industrielle de B12, le DMB est complété après les 3 premiers jours de fermentation anaérobie, puis déplacé vers une incubation aérobie pendant 3 à 4 jours supplémentaires (**Martens et al. 2002**). L'étape importante du bioprocédé est le contrôle des quantités d'acide propionique et acétique par son élimination ultérieure. Un excès de propionate est inhibiteur pour la croissance de *P. freudenreichii* et la production de B12 (**Chamlagain et al. 2018**). Par conséquent, il est nécessaire pour la production de maintenir une culture dans une plage de pH de 6,5 à 7 pour neutraliser l'acide propionique et acétique accumulé, lorsqu'ils atteignent 10 % du volume de fermentation (**Piwowarek et al. 2018**). La proportion relative des acides est également affectée par les substrats de carbone et la présence d'oxygène. Pour réduire les concentrations inhibitrices de l'accumulation rapide d'acides, notamment dues aux vecteurs favorisant l'acide propionique et le précurseur ALA, la culture fermentée peut être changée en aérobie et, après, de retour aux conditions anaérobies permettant d'augmenter le rendement en Cobalamine de six à 12 mg/L (**Miyano et al. 2000**). L'alcalinisation du milieu, la filtration «à flux croisés», la fermentation par extraction et autres sont également signalées pour éliminer les acides propionique et acétique. Cependant, le propionate et l'acétate sont bénéfiques en tant qu'agents antifongiques pour améliorer la durée de stockage des produits en fermentation alimentaire (**Piwowarek et al. 2018**).

Production par *Pseudomonas denitrificans*

Pseudomonas denitrificans est une souche industrielle qui est utilisée par Sanofi Aventis (anciennement Rhône Poulenc Rorer) pour la production à grande échelle. Les études sur la production de B12 ont été réalisées avec la souche *P. denitrificans* MB580 pour obtenir la souche dérivée surproductrice SC510. Les titres de Cobalamine obtenus avec *P. denitrificans* sont similaires aux souches de *Propionobacterium* qui ont produit environ 300 mg/L en conditions aérobies (**Sych et al. 2016**).

Le processus industriel de la vitamine B12 à l'aide de *P. denitrificans* se déroule à 30 °C et à des valeurs de pH de 6,0 à 7,0 dans des fermenteurs de 120 m³, en utilisant du saccharose comme source de carbone et des sources d'azote comme extrait de levure en présence de sels minéraux, et dure environ 6–7 jours (**Martens et al. 2002**). Le processus de fermentation est aéré pendant la phase de croissance et contrôlé par les concentrations d'oxygène et de CO₂ dissous, ce qui donne un rendement en Cobalamine supérieur à 150 mg/L (**Figure 17**). Plus tard, la synthèse industrielle de cobalamine a été améliorée via une stratégie de contrôle de la concentration en oxygène dissous (DOC) en plusieurs étapes, ce qui a permis d'augmenter le rendement en vitamine B12 d'environ 20 % (70 mg/L). La fermentation a commencé avec un niveau élevé de concentration en oxygène dissous (8-10 %) suivi de sa réduction à 2-5 % (49-106 h) et encore en dessous de 2 % (107-168 h) (**Peng et al. 2014**). Une amélioration supplémentaire de la stratégie optimale de contrôle de la fraction de CO₂ a montré que le mélange défini d'air et de CO₂ entraînait une augmentation de la production de vitamine B12 d'environ 10 % (**Wang et al. 2014**).

Après la fermentation, un mélange d'Adénosylcobalamine, Méthylcobalamine et Hydroxocobalamine est soumis à des processus chimiques, y compris la cyanuration, suivis d'étapes d'extraction et de purification à l'aide de solvants organiques. Habituellement, le bouillon entier ou une suspension aqueuse des cellules récoltées est chauffé à 80–120 °C pendant 10–30 min à pH 6,5–8,5 afin d'extraire la vitamine B12. La conversion en Cyanocobalamine est obtenue en traitant le bouillon chauffé ou la suspension cellulaire avec du cyanure ou du thiocyanate de potassium (**Sych et al. 2016**). Après clarification de l'ensemble de la solution, par filtration ou traitement à l'hydroxyde de zinc, la vitamine B12 est précipitée par l'ajout d'auxiliaires comme l'acide tannique ou le crésol. Cette procédure conduit à un produit d'environ 80% de pureté, qui est utilisé comme additif alimentaire pour animaux. Cependant, une purification supplémentaire via les différentes étapes d'extraction par des solvants organiques (crésol, tétrachlorure de carbone et eau/butanol) est souvent complétée par l'adsorption sur des échangeurs d'ions ou du charbon actif (**Martens et al. 2002**). Enfin, la vitamine B12 est cristallisée par l'ajout de solvants organiques, conduisant à un produit de qualité recommandée pour les applications alimentaires et pharmaceutiques (**Figure 17**)

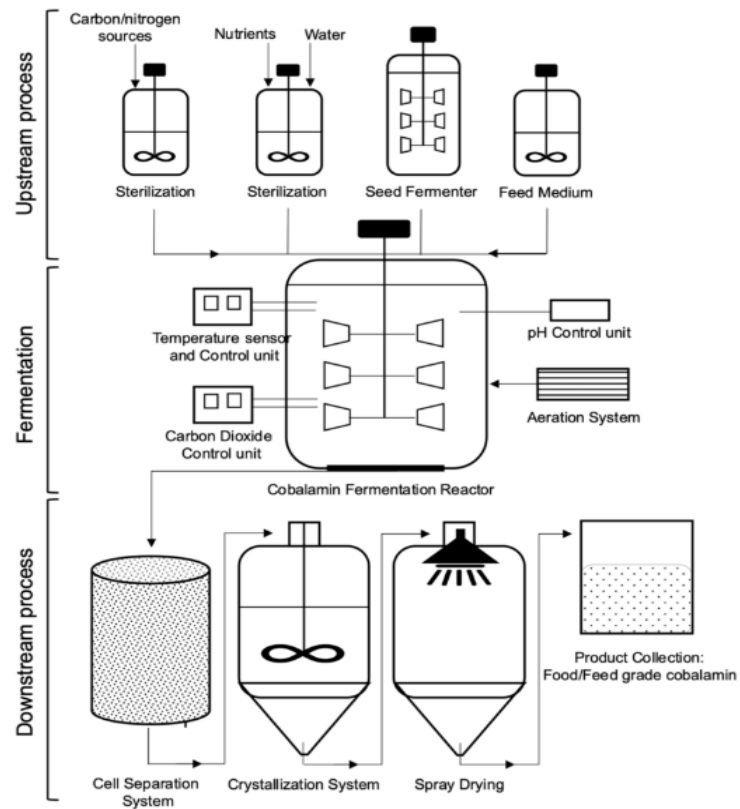


Figure 17. Organigramme général de la production industrielle de cobalamine applicable au procédé aérobie chez *P. denitrificans*.

Conclusion

Conclusion

Les vitamines représentent un groupe de nutriments essentiels nécessaires pour maintenir des activités métaboliques normales chez l'être humain et les animaux. De ce fait, elles doivent être largement fournies dans l'alimentation. Elles comprennent des structures hydrosolubles (exemple : les vitamines B et C) ainsi que les structures liposolubles (vitamine A, vitamine D, vitamine E et vitamine K). De nombreux microorganismes sont utilisés pour la production de ces molécules dont les principaux sont *Escherichia coli* pour la production de la vitamine B3, *Bacillus subtilis* pour la production de la vitamine B6, *Saccharomyces cerevisiae* pour la production de la vitamine D, *Ashbya gossypii* pour la production de la vitamine B2. Les voies de biosynthèse sont très complexes et nécessitent des gènes spécifiques tels que ceux de l'opéron de la biosynthèse de la riboflavine (*ribD*, *ribG*, *ribE*, *ribA*, *ribB*, *ribH*, *ribT*) impliqués dans la biosynthèse de la riboflavine et les gènes *PdxR*, *PdxJ*, *PdxA* impliqués dans la biosynthèse de la pyridoxine. Ces derniers sont retrouvés seulement chez des espèces spécifiques ce qui leur confère la capacité de produire les vitamines.

Les modifications génétiques sont de plus en plus appliquées sur les microorganismes afin d'augmenter le taux et le rendement de leur production en vitamines. Les principaux changements consistent en la surexpression des enzymes (exemple : enzyme Erythrose-4-Phosphate déshydrogénase d'*Escherichia coli* et les gènes *PdxR*, *SerC*, *PdxA* et *PdxJ* présents chez *Sinorhizobium melilot*) et en la mutagenèse chimique (exemple : chez l'espèce *Escherichia coli* pour la production de la vitamine B7). Toutes ces modifications ont toujours été utilisées et les chercheurs tendent à les améliorer afin d'augmenter de plus en plus le rendement en production.

Références

bibliographiques

A

- Abbas CA, Sibirny AA. Genetic control of biosynthesis and transport of riboflavin and flavin nucleotides and construction of robust biotechnological producers. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2011;75(2):321-360.
- Abd-ElGawad AM, Rashad YM, Abdel-Azeem AM, Al-Barati SA, Assaeed AM, Mowafy AM. *Calligonum polygonoides* L. Shrubs Provide Species-Specific Facilitation for the Understory Plants in Coastal Ecosystem. *Biology (Basel).* 2020;9(8):232.
- Abrha T, Girma Y, Haile K, Hailu M, Hailemariam M. Prevalence and associated factors of clinical manifestations of vitamin a deficiency among preschool children in asgedesimbla rural district, north Ethiopia, a community based cross sectional study. *Arch Public Health.* 2016;74:4.
- Acevedo-Rocha CG, Gronenberg LS, Mack M, Commichau FM, Genee HJ. Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins. *Curr Opin Biotechnol.* 2019;56:18-29.
- Aguiar TQ, Silva R, Domingues L. Ashbya gossypii beyond industrial riboflavin production: A historical perspective and emerging biotechnological applications. *Biotechnol Adv.* 2015;33(8):1774-1786.
- Assis DA, Matte C, Aschidamini B, Rodrigues E, Záchia Ayub MA. Biosynthesis of vitamin B12 by Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii ATCC 13673 using liquid acid protein residue of soybean as culture medium. *Biotechnol Prog.* 2020;36(5):e3011.
- Averianova LA, Balabanova LA, Son OM, Podvolotskaya AB, Tekutyeva LA. Production of Vitamin B2 (Riboflavin) by Microorganisms: An Overview. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:570828.

B

- Balabanova L, Averianova L, Marchenok M, Son O, Tekutyeva L. Microbial and Genetic Resources for Cobalamin (Vitamin B12) Biosynthesis: From Ecosystems to Industrial Biotechnology. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4522.
- Balabanova L, Averianova L, Marchenok M, Son O, Tekutyeva L. Microbial and Genetic Resources for Cobalamin (Vitamin B12) Biosynthesis: From Ecosystems to Industrial Biotechnology. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4522.
- Barile M, Giancaspero TA, Leone P, Galluccio M, Indiveri C. Riboflavin transport and metabolism in humans. *J Inherit Metab Dis.* 2016;39(4):545-557.
- Belenky P, Stebbins R, Bogan KL, Evans CR, Brenner C. Nrt1 and Tna1-independent export of NAD⁺ precursor vitamins promotes NAD⁺ homeostasis and allows engineering of vitamin production. *PLoS One.* 2011;6(5):e19710.
- Belitsky BR. Physical and enzymological interaction of Bacillus subtilis proteins required for de novo pyridoxal 5'-phosphate biosynthesis. *J Bacteriol.* 2004;186(4):1191-1196.
- Biedendieck R, Malten M, Barg H, et al. Metabolic engineering of cobalamin (vitamin B12) production in Bacillus megaterium. *Microb Biotechnol.* 2010;3(1):24-37.

Binod P, Sindhu and Pandey A. Production of vitamins. *Food fermentation biotechnology*. 2010. 962-963.

Birringer M, Blumberg JB, Eggersdorfer M, Frank J, Weber P. History of Vitamin E research. *Vitam E Human Health*: 2019; 7–18.

Bogacz-Radomska L, Harasym J. β -Carotene—properties and production methods, *Food Quality and Safety*. 2018; 2(2): 69–74.

Bretzel W, Schurter W, Ludwig B, Kupfer E., Doswald S, Pfister M, et al. Commercial riboflavin production by recombinant *Bacillus subtilis*: down-stream processing and comparison of the composition of riboflavin produced by fermentation or chemical synthesis. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1999 ; 22 : 19–26.

C

Chamlagain B, Sugito T.A, Deptula P, Edelmann M, Kariluoto S, Varmanen P, Piironen V. In situ production of active vitamin B12 in cereal matrices using *Propionibacterium freudenreichii*. *Food Sci. Nutr.* 2018, 6, 67–76.

Chawla J, Kvarnberg D. Hydrosoluble vitamins. *Handb Clin Neurol.* 2014;120:891-914.

Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016;96(1):365-408.

Combs G, McClung J. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. 6th Edition Elsevier. 2020

Commichau FM, Alzinger A, Sande R, et al. Overexpression of a non-native deoxyxylulose-dependent vitamin B6 pathway in *Bacillus subtilis* for the production of pyridoxine. *Metab Eng.* 2014;25:38-49.

Cui S, Lv X, Wu Y, et al. Engineering a Bifunctional Phr60-Rap60-Spo0A Quorum-Sensing Molecular Switch for Dynamic Fine-Tuning of Menaquinone-7 Synthesis in *Bacillus subtilis*. *ACS Synth Biol.* 2019;8(8):1826-1837.

D

Devaki SJ & Raveendran, RL. Vitamin C: Sources, Functions, Sensing and Analysis. In (Ed.), 2017. *Vitamin C. IntechOpen.*

Devaki, SJ & Raveendran, RL. Vitamin C: Sources, Functions, Sensing and Analysis. *Vitamin C*, edited by Amal Hamza, *IntechOpen*, 2017. 10.5772/intechopen.70162.

di Salvo ML, Contestabile R, Safo MK. Vitamin B(6) salvage enzymes: mechanism, structure and regulation. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1814(11):1597-1608.

E

Elam MB, Hunninghake DB, Davis KB, et al. Effect of niacin on lipid and lipoprotein levels and glycemic control in patients with diabetes and peripheral arterial disease: the ADMIT study: A randomized trial. *Arterial Disease Multiple Intervention Trial. JAMA.* 2000;284(10):1263-1270.

Elder SJ, Haytowitz DB, Howe J, Peterson JW, Booth SL. Vitamin k contents of meat, dairy, and fast food in the u.s. Diet. *J Agric Food Chem.* 2006;54(2):463-467.

F

Falentin H, Deutsch S.M, Jan G, Loux V, Thierry A, Parayre S, Maillard M.B, Dherbécourt J, Cousin F.J, Jardin J, et al. The complete genome of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA1T, a hardy Actinobacterium with food and probiotic applications. *PLoS ONE* 2010, 5, e11748.

Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives. *Microb Cell Fact.* 2017;16(1):15.

Ferraro PM, Curhan GC, Gambaro G, Taylor EN. Total, Dietary, and Supplemental Vitamin C Intake and Risk of Incident Kidney Stones. *Am J Kidney Dis.* 2016;67(3):400-407.

Fitzpatrick TB, Amrhein N, Kappes B, Macheroux P, Tews I, Raschle T. Two independent routes of de novo vitamin B6 biosynthesis: not that different after all. *Biochem J.* 2007;407(1):1-13.

Fujii T, Luethi N, Young PJ, et al. Effect of Vitamin C, Hydrocortisone, and Thiamine vs Hydrocortisone Alone on Time Alive and Free of Vasopressor Support Among Patients With Septic Shock: The VITAMINS Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;323(5):423-431.

G

Gao Q, Chen H, Wang W, Huang J, Tao Y, Lin B. Menaquinone-7 production in engineered *Escherichia coli*. *World J Microbiol Biotechnol.* 2020;36(9):132.

García-Angulo VA. Overlapping riboflavin supply pathways in bacteria. *Crit Rev Microbiol.* 2017;43(2):196-209.

Gheorghe G, Stoian AP, Gaman MA, Socea B, Neagu TP, Stanescu AMA, Bratu OG, Mischianu DLD, Suceveanu AI, Diaconu CC. The benefits and risks of antioxidant treatment in liver diseases. *Rev Chim.* 2019;70(2):651–655

Gräslund S, Nordlund P, Weigelt J, Hallberg BM, Bray J, Gileadi O et al. Protein production and purification. *Nat Methods.* 2008; 5(2):135

Gregory SK. Pantothenic acid. *Monogr Altern. Med Rev.* 2011; 16(3):263–274

Grimm P, Risse JM, Cholewa D, et al. Applicability of *Euglena gracilis* for biorefineries demonstrated by the production of α -tocopherol and paramylon followed by anaerobic digestion. *J Biotechnol.* 2015;215:72-79.

Guilland JC, Aimone-Gastin I. Vitamine B9 [Vitamin B9]. *Rev Prat.* 2013;63(8):1079, 1081-4.

H

Halder M, Petsophonsakul P, Akbulut AC, et al. Vitamin K: Double Bonds beyond Coagulation Insights into Differences between Vitamin K1 and K2 in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2019;20(4):896.

Halliwell B. Vitamin C and genomic stability. *Mutat Res.* 2001;475(1-2):29-35.

- Han X, Woycechowsky KJ. Encapsulation and Controlled Release of Protein Guests by the *Bacillus subtilis* Lumazine Synthase Capsid. *Biochemistry*. 2017;56(47):6211-6220.
- Hohmann H.-P., Humbelin M., van Loon A., Schurter W. *Riboflavin Production*. *PATENT US6322995B1*. (2001)
- Hohmann HP, van Dijl JM, Krishnappa L, Pra'gai Z: Host organisms: *Bacillus subtilis*. In *Industrial Biotechnology*. WileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2016:221-297.
- Hsu SM, Raine L, Fanger H. A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am J Clin Pathol*. 1981;75(5):734-738.
- Huang WE, Yang C, Wang H, Bai L, Zhou NY. Microbiology Biotechnology in China. *Microb Biotechnol*. 2021;14(2):322.
- Hüser AT, Chassagnole C, Lindley ND, et al. Rational design of a *Corynebacterium glutamicum* pantothenate production strain and its characterization by metabolic flux analysis and genome-wide transcriptional profiling. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(6):3255-3268.

I

- Ito T, Hori R, Hemmi H, Downs DM, Yoshimura T. Inhibition of glycine cleavage system by pyridoxine 5'-phosphate causes synthetic lethality in *glyA yggS* and *serA yggS* in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*. 2020;113(1):270-284.
- Ito T, Yamamoto K, Hori R, et al. Conserved Pyridoxal 5'-Phosphate-Binding Protein YggS Impacts Amino Acid Metabolism through Pyridoxine 5'-Phosphate in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85(11):e00430-19.

J

- Jacobsen IH, Ledesma-Amaro R, Martinez JL. Recombinant β -Carotene Production by *Yarrowia lipolytica* - Assessing the Potential of Micro-Scale Fermentation Analysis in Cell Factory Design and Bioreaction Optimization. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:29.
- Jagannath VA, Thaker V, Chang AB, Price AI. Vitamin K supplementation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;8(8):CD008482.
- Janos Z, Wijeratne SS, Yousef IH. Biotin. *Biofactors* 2009 ; 35(1):36-46.
- Joseph, S., Anandane, A. Process for Production of High Purity BetaCarotene and Lycopene Crystals From Fungal Biomass. Patent No. (2011)

K

- Kamangar F, Emadi A. Vitamin and mineral supplements: do we really need them?. *Int J Prev Med*. 2012;3(3):221-226.
- Kennel KA, Drake MT, Hurley DL. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(8):752-758.
- Khadim RM & Al-Fartusie FS. Antioxidant vitamins and their effect on immune system. *Journal of Physics: Conference Series*. 1853. 012065.

Kirkland JB, Meyer-Ficca ML. Niacin. *Adv Food Nutr Res.* 2018;83:83-149.

Kunisawa J, Hashimoto E, Ishikawa I, Kiyono H. A pivotal role of vitamin B9 in the maintenance of regulatory T cells in vitro and in vivo. *PLoS One.* 2012;7(2):e32094.

L

Ledesma-Amaro R, Kerkhoven EJ, Revuelta JL, Nielsen J. Genome scale metabolic modeling of the riboflavin overproducer *Ashbya gossypii*. *Biotechnol Bioeng.* 2014;111(6):1191-1199.

Li K.-T, Liu D.-H, Chu J, Wang Y.-H, Zhuang Y.-P, Zhang S.-L. An effective and simplified pH-stat control strategy for the industrial fermentation of vitamin B12 by *Pseudomonas denitrificans*. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2008, 31, 605–610.

Li KT, Liu DH, Chu J, Wang YH, Zhuang YP, Zhang SL. An effective and simplified pH-stat control strategy for the industrial fermentation of vitamin B(12) by *Pseudomonas denitrificans*. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2008;31(6):605-610.

Liu J, Liu Y, Wu J, Fang H, Jin Z, Zhang D. Metabolic profiling analysis of the vitamin B₁₂ producer *Propionibacterium freudenreichii*. *Microbiologyopen.* 2021;10(3):e1199.

Liu S, Hu W, Wang Z, Chen T. Production of riboflavin and related cofactors by biotechnological processes. *Microb Cell Fact.* 2020;19(1):31.

Liu Y, Wang E, Pan C, Dong X, Ding M. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao.* 2019;35(7):1266-1276.

Loux V, Mariadassou M, Almeida S, Chiapello H, Hammani A, Buratti J, Gendrault A, Barbe V, Aury J.-M, Deutsch S.-M, et al. Mutations and genomic islands can explain the strain dependency of sugar utilization in 21 strains of *Propionibacterium freudenreichii*. *BMC Genom.* 2015, 16, 296.

Luiz Gomes A Júnior, Dimitrova Tchekalarova J, Atanasova M, et al. Anticonvulsant effect of anacardic acid in murine models: Putative role of GABAergic and antioxidant mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2018;106:1686-1695.

Lykstad J, Sharma S. Biochemistry, Water Soluble Vitamins. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

M

Manandhar M, Cronan JE. A Canonical Biotin Synthesis Enzyme, 8-Amino-7-Oxononanoate Synthase (BioF), Utilizes Different Acyl Chain Donors in *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 2017;84(1):e02084-17.

Marchal L, Mojaat-Guemir M, Foucault A, Pruvost J. Centrifugal partition extraction of β -carotene from *Dunaliella salina* for efficient and biocompatible recovery of metabolites. *Bioresour Technol.* 2013;134:396-400.

Marie Sych J, Lacroix C, Stevens MJA. Vitamin B12—physiology, production and application. In *Industrial Biotechnology of Vitamins, Biopigments, and Antioxidants*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2016:129–159

- Martani F, Fossati T, Posteri R, Signori L, Porro D, Branduardi P. Different response to acetic acid stress in *Saccharomyces cerevisiae* wild-type and l-ascorbic acid-producing strains. *Yeast*. 2013;30(9):365-378.
- Martens JH, Barg H, Warren MJ, Jahn D. Microbial production of vitamin B12. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002;58(3):275-285.
- Mehmel M, Jovanović N, Spitz U. Nicotinamide Riboside-The Current State of Research and Therapeutic Uses. *Nutrients*. 2020;12(6):1616.
- Mielgo-Ayuso J, Aparicio-Ugarriza R, Olza J, et al. Dietary Intake and Food Sources of Niacin, Riboflavin, Thiamin and Vitamin B₆ in a Representative Sample of the Spanish Population. The Anthropometry, Intake, and Energy Balance in Spain (ANIBES) Study †. *Nutrients*. 2018;10(7):846.
- Miyano K, Ye K, Shimizu K. Improvement of vitamin B12 fermentation by reducing in the inhibitory metabolites by cell recycle system and mixed culture. *J. Biochem. Eng*. 2000, 6, 207–214.
- Mohajeri Amiri M, Fazeli MR, Babaee T, et al. Production of Vitamin D₃ Enriched Biomass of *Saccharomyces Cerevisiae* as A Potential Food Supplement: Evaluation and Optimization of Culture Conditions Using Plackett-Burman and Response Surface Methodological Approaches. *Iran J Pharm Res*. 2019;18(2):974-987.
- Moore SJ, Mayer MJ, Biedendieck R, Deery E, Warren MJ. Towards a cell factory for vitamin B12 production in *Bacillus megaterium*: bypassing of the cobalamin riboswitch control elements. *N Biotechnol*. 2014;31(6):553-561.
- Moore SJ, Warren MJ. The anaerobic biosynthesis of vitamin B12. *Biochem Soc Trans*. 2012;40(3):581-586.
- Mykolaiovych R. O, Volodymyrovyc T. Y, Ivanovyvh C. S, Hryhorovyc, T. V., Viktorovych, D. S., Pavlivna, K. V. Device for Concentration of Carotene-Containing Biomass of Micro-Alga *Dunaliella salina*. Patent No. (2008)

N

- Nair R, Maseeh A. Vitamin D: The "sunshine" vitamin. *J Pharmacol Pharmacother*. 2012;3(2):118-126.
- Naveed S, Qamar F, Abbas, SS, Jawed SH, Raza W, Khan M, & Iqbal B. Appraisal of Techniques, Investigation and Analysis of Vitamin (B7) Biotin. *Open Access Library Journal*. 2015; 2, 1-5.
- Niki E, Abe k. Vitamin E: Structure, Properties and Functions, in *Vitamin E: Chemistry and Nutritional Benefits*, 2019; 1-11.

P

- Paracchini V, Petrillo M, Reiting R, et al. Molecular characterization of an unauthorized genetically modified *Bacillus subtilis* production strain identified in a vitamin B₂ feed additive. *Food Chem*. 2017;230:681-689.

- Park EY, Zhang JH, Tajima S, Dwiarti L. Isolation of *Ashbya gossypii* mutant for an improved riboflavin production targeting for biorefinery technology. *J Appl Microbiol.* 2007;103(2):468-476.
- Parra M, Stahl S, Hellmann H. Vitamin B₆ and Its Role in Cell Metabolism and Physiology. *Cells.* 2018;7(7):84.
- Pawłowska, B. Biotechnologiczne źródła barwników spożywczych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2009 ;48: 79–80.
- Pedrolli DB, Kühm C, Sévin DC, et al. A dual control mechanism synchronizes riboflavin and sulphur metabolism in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(45):14054-14059.
- Peng W, Cheng X, Zhang H.-Y, Li K.-T. The metabolic characteristics of high-production vitamin B12 by *Pseudomonas denitrificans* under dissolved oxygen step-wise reduction. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2014, 89, 1396–1401.
- Pinto JT, Rivlin R. In Book: Handbook of Vitamins. 5th Ed. 2013; 191–265.
- Pisal D. S, Lele S. S. Carotenoid production from microalga *Dunaliella salina*. *Indian Journal of Biotechnology.* 2005 ;4: 476–483.
- PiwoWAREK K, Lipińska E, Hać-Szymańczuk E, Kieliszek M, Ścibisz I. Propionibacterium spp.-source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018, 102, 515–538.

R

- Rana KL, Kour D, Yadav AN. Endophytic microbiomes: biodiversity, ecological significance and biotechnological applications. *Res J Biotechnol.* 2019;14:142–162.
- Reddy P, Jialal I. Biochemistry, Fat Soluble Vitamins. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Ronsein GE, Hutchins PM, Isquith D, Vaisar T, Zhao XQ, Heinecke JW. Niacin Therapy Increases High-Density Lipoprotein Particles and Total Cholesterol Efflux Capacity But Not ABCA1-Specific Cholesterol Efflux in Statin-Treated Subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(2):404-411.
- Rosenberg J, Ischebeck T, Commichau FM. Vitamin B6 metabolism in microbes and approaches for fermentative production. *Biotechnol Adv.* 2017;35(1):31-40.
- Rudolph J, Kim J, Copley SD. Multiple turnovers of the nicotino-enzyme PdxB require α -keto acids as cosubstrates. *Biochemistry.* 2010;49(43):9249-9255.

S

- Sa N, Rawat R, Thornburg C, Walker KD, Roje S. Identification and characterization of the missing phosphatase on the riboflavin biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 2016;88(5):705-716.
- Saari JC. Vitamin A and Vision. *Subcell Biochem.* 2016;81:231-259.

- Sauer M, Branduardi P, Valli M, Porro D. Production of L-ascorbic acid by metabolically engineered *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces bailii*. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(10):6086-6091.
- Schmölz L, Schubert M, Kluge S, Birringer M, Wallert M, Lorkowski S. The hepatic fate of Vitamin E, Vitamin E in health and disease, Morales-Gonzalez, Jose, editor. Vitamin E in Health and Disease. *IntechOpen*, 2018. 10.5772/intechopen.74469.
- Schwechheimer SK, Park EY, Revuelta JL, Becker J, Wittmann C. Biotechnology of riboflavin. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(5):2107-2119.
- Serrano-Amatriain C, Ledesma-Amaro R, López-Nicolás R, Ros G, Jiménez A, Revuelta JL. Folic Acid Production by Engineered *Ashbya gossypii*. *Metab Eng*. 2016;38:473-482.
- Shoji S, Yamaji T, Makino H, Ishii J, Kondo A. Metabolic design for selective production of nicotinamide mononucleotide from glucose and nicotinamide. *Metab Eng*. 2021;65:167-177.
- Sorice A, Guerriero E, Capone F, Colonna G, Castello G, Costantini S. Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases. *Mini Rev Med Chem*. 2014;14(5):444-452.
- Stahmann K. P., Revuelta J. L., Seulberger H. Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2000 ;53 :509–516. 10.1007/s002530051649
- Streit WR, Entcheva P. Biotin in microbes, the genes involved in its biosynthesis, its biochemical role and perspectives for biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;61(1):21-31.
- Strohmeier M, Raschle T, Mazurkiewicz J, et al. Structure of a bacterial pyridoxal 5'-phosphate synthase complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(51):19284-19289.
- Surman SL, Penkert RR, Sealy RE, et al. Consequences of Vitamin A Deficiency: Immunoglobulin Dysregulation, Squamous Cell Metaplasia, Infectious Disease, and Death. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5570.
- Survase SA, Bajaj BI a Singhal SR. Biotechnological Production of Vitamins. s, Food Technol. *Biotechnol* . 2006 ; 44 (3) 381–396

T

- Tadi SRR, Nehru G, Limaye AM, Sivaprakasam S. High-level expression and optimization of pantoate- β -alanine ligase in *Bacillus megaterium* for the enhanced biocatalytic production of D-pantothenic acid. *J Food Sci Technol*. 2022;59(3):917-926.
- Telang PS. Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2013 ; 4(2):143.

V

- Van Arsdell SW, Perkins JB, Yocum RR, et al. Removing a bottleneck in the *Bacillus subtilis* biotin pathway: bioA utilizes lysine rather than S-adenosylmethionine as the amino donor in the KAPA-to-DAPA reaction. *Biotechnol Bioeng*. 2005;91(1):75-83.

W

- Walther B, Karl JP, Booth SL, Boyaval P. Menaquinones, bacteria, and the food supply: the relevance of dairy and fermented food products to vitamin K requirements. *Adv Nutr.* 2013;4(4):463-473.
- Wang HB, Xu RG, Yu LJ, Luo J, Zhang LW, Huang XY, Zou WA, Zhao Q, Lu MB. Improved beta-carotene and lycopene production by *Blakeslea trispora* with ultrasonic treatment in submerged fermentation. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2014 ;69(5-6):237-44.
- Wang P, Zhang Z, Jiao Y, Liu S, Wang Y. Improved propionic acid and 5,6-dimethylbenzimidazole control strategy for vitamin B12 fermentation by *Propionibacterium freudenreichii*. *J. Biotechnol.* 2015, 193, 123–129.
- Wang Z.-J, Wang H.-Y, Wang P, Zhang Y.-M, Chu J, Zhuang Y.-P, Zhang S.-L. Enhance Vitamin B12 Production by Online CO₂ Concentration Control Optimization in 120 m³ Fermentation. *J. Bioprocess Biotechniq.* 2014, 4, 4.
- Wiseman EM, Bar-El Dadon S, Reifem R. The vicious cycle of vitamin a deficiency: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(17):3703-3714.

X

- Xinde X, Mingqing J, Dong S, Bin S, Leming, Y. Method of Producing Natural β -Carotene By Fermentation And Use Thereof. Patent application. (2012)

Y

- Yang H, Liu Y, Li J, Liu L, Du G, Chen J. Systems metabolic engineering of *Bacillus subtilis* for efficient biosynthesis of 5-methyltetrahydrofolate. *Biotechnol Bioeng.* 2020;117(7):2116-2130.
- Yao C, Lin W, Yue K, et al. Biocatalytic synthesis of vitamin A palmitate using immobilized lipase produced by recombinant *Pichia pastoris*. *Eng Life Sci.* 2017;17(7):768-774.
- Ye Y, Li J, Yuan Z. Effect of antioxidant vitamin supplementation on cardiovascular outcomes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2013;8(2):e56803.

Z

- Zhang B, Zhang XM, Wang W, Liu ZQ, Zheng YG. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for d-pantothenic acid production. *Food Chem.* 2019;294:267-275.
- Zhang C, Wu D, Ren H. Economical production of vitamin K₂ using crude glycerol from the by-product of biodiesel. *Sci Rep.* 2020;10(1):5959.
- Zhao R, Matherly LH, Goldman ID. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert Rev Mol Med.* 2009;11:e4.

Glossaire

Nrt1 : c'est le transportateur de nitrate.

RibCF : est une flavokinase bifonctionnelle.

ilvBNCD : ce sont des gènes codant pour les enzymes biosynthétiques de la L-valine.

PdxA et **PdxJ** : ce sont des enzymes impliquées dans la voie dépendante du **Désoxy-Xylulose-5-Phosphate**.

PdxS et **PdxT** : ce sont des enzymes impliqués dans la voie indépendante du **Désoxy-Xylulose-5-Phosphate**.

SerC : c'est une enzyme de type acyltransférase.



Production des vitamines par les microorganismes

Présenté par :
MACINA Mariétou

Résumé :

Les vitamines sont des micronutriments essentiels qui doivent être présents en quantité infime chez les mammifères. Du fait qu'elles ne soient pas toutes synthétisées par eux, ces derniers doivent la rechercher chez les plantes et les microorganismes. Les vitamines sont des composés qui se divisent en deux groupes : les hydrosolubles (comprenant les vitamines B et la vitamine C) et les liposolubles (composés des vitamines A, D, E et K).

Plusieurs microorganismes sont utilisés pour la production des vitamines tels que *Blakeslea trispora* pour la vitamine A, *Ashbya gossypii* pour la vitamine B2, *Escherichia coli* pour la vitamine B3 et *Corynebacterium glutamicum* pour la vitamine B5. Toutefois, la biosynthèse des vitamines est complexe et est conditionnée par plusieurs gènes qui déterminent si un microorganisme peut être considéré comme bon producteur ou pas. Les recherches actuelles tendent toujours à optimiser les productions microbiennes des vitamines en jouant sur la constitution des milieux de culture et en usant des modifications génétiques afin de sur-exprimer les gènes producteurs et délecter les gènes répresseurs.

Mots-clés : vitamines, intérêts, microorganismes producteurs, facteurs de production, modifications génétiques.

Abstract :

Vitamins are essential micronutrients that must be present in minute quantities in mammals. Because they are not all synthesized by them, they must look for it in plants and microorganisms. Vitamins are compounds that fall into two groups: water-soluble (including B vitamins and vitamin C) and fat-soluble (compounds of vitamins A, D, E and K).

Several microorganisms are used for the production of vitamins such as *Blakeslea trispora* for vitamin A, *Ashbya gossypii* for vitamin B2, *Escherichia coli* for vitamin B3 and *Corynebacterium glutamicum* for vitamin B5. However, the biosynthesis of vitamins is complex and is conditioned by several genes which determine whether a microorganism can be considered a good producer or not. Current research is still tending to optimize the microbial production of vitamins by playing on the constitution of culture media and by using genetic modifications in order to over-express the producer genes and delight the repressor genes.

Keywords : vitamins, interests, producing microorganisms, production factors, genetic modifications.

الملخص:

الفيتامينات عبارة عن مغذيات دقيقة أساسية يجب أن تكون موجودة بكميات ضئيلة في الثدييات. ونظرا لأنه لا يتم تصنيعها من قبل الثدييات ، يجب على هذه الأخيرة البحث عنها في النباتات والكائنات الدقيقة. والفيتامينات عبارة عن مركبات مقسمة إلى مجموعتين: قابلة للذوبان في الماء (بما في ذلك فيتامين (B) وفيتامين (C)) وقابلة للذوبان في الدهون (مكونة من الفيتامينات (A)، (D)، (E) و (K)). تستخدم العديد من الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج فيتامينات مثل *Blakeslea trispora* لفيتامين A ، *Ashbya gossypii* لفيتامين B2 ، *Escherichia coli* لفيتامين B3 و *Corynebacterium glutamicum* لفيتامين B5. ومع ذلك، فإن التركيب الحيوي لفيتامين معقد ومشروط بعدة جينات تحدد ما إذا كان يمكن اعتبار الكائن الحي دقيقاً منتجاً أم لا. لا تزال الأبحاث الحالية تميل إلى تحسين الإنتاج الميكروبي للفيتامينات من خلال التلاعب على تكوين الوسائط الزراعية واستخدام التعديلات الجينية من أجل الإفراط في التعبير عن الجينات المنتجة وإزالة الجينات المثبطة.

الكلمات المفتاحية: الفيتامينات، الفوائد ، الكائنات الدقيقة المنتجة، عوامل الإنتاج، التعديل الوراثي.