

**Táplálkozás-élettani jelentőség
karbohidrolázok tanulmányozása**

PhD értekezés tézisei

**Nguyen Duc Quang
2003**

PhD Iskola/Program

Név: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Tudományág: Élelmiszer

Vezet : Dr. Fekete András, DSc
egyetemi tanár
Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Fizika-Automatika Tanszék

Témavezet : Dr. Hoschke Ágoston, CSc
egyetemi tanár
Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Sör- és Szeszipari Tanszék

A doktor jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatának minden pontjának eleget tett és a dolgozata nyilvános vitára bocsátható.

.....

Iskolavezet

.....

Témavezet

3. A munka el zményei

Napjainkban, az élelmiszer áruházak polcain a fogyasztók világszerte egyre gyakrabban találkoznak olyan ún. funkcionális élelmiszerekkel, melyek az egészségmeg rzésben bizonyítottan pozitív szerepet játszanak. Ezek lehetnek prebiotikus, probiotikus és szimbiotikus élelmiszerek. A prebiotikumok - definíció szerint - olyan nem-emészthet élelmiszer-összetev k, melyek jótékony hatást gyakorolnak az emberi szervezetre azáltal, hogy szelektíven el segítik néhány a bélben él hasznos baktérium növekedését és/vagy aktivitását. Így a bifidobaktériumok növekedését szelektíven támogató fruktooligoszacharidok (FOS) prebiotikumoknak tekinthet k. A fruktooligoszacharidok piaca az 1980-as évek közepét l dinamikusan növekszik els sorban Japánban, de az USA-ban is, mivel 1998-tól az Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyelet (Food and Drug Administration, USA) engedélyezte a fruktooligoszacharidok élelmiszeripari alkalmazását. Számos európai országban szintén hasznosítják a FOS termékeket adalékként, hogy ezáltal funkcionális élelmiszereket állítsanak el . A FOS ipari el állítása az *Aspergillus niger* fonalas gomba β -fruktofuranozidáz enzimének transzfruktozidáz aktivitása révén történik. Számos tanulmány foglalkozik az enzimek transzfruktozidáz aktivitásával, de vannak még nyitott kérdések. A β -fruktofuranozidázal létrehozott FOS termékhozam még mindig alacsony, így a gyártási költség magas. A kereskedelemben kapható FOS termékek csupán 50-60 % FOS-t, ezenkívül 20-30 % glükózt, 10-15 % szacharózt és egyéb komponenseket tartalmaznak. Néhány β -fruktofuranozidáz aminosav sorrendje megtalálható a fehérje-adatbankokban, de a tényleges három dimenziós enzim szerkezet még mindig ismeretlen. Az *A. niger*, mely számos GRAS státusú enzimet termel, ideális forrás lehet a β -fruktofuranozidáz enzim el állításához és tanulmányozásához. Ezen enzimmel el állított FOS termékek további vizsgálatok nélkül is alkalmazhatóak lehetnének prebiotikumként az élelmiszerekben.

Mint ismeretes, a cellulóz után a keményít a második legnagyobb polimer a növényvilágban. Ez egy olyan megújuló és környezetbarát energiaforrás,

melyet világszerte használnak. A natív keményít n kívül egyre nagyobb kereslet mutatkozik a piacon a módosított keményít termékek, illetve keményít hidrolizátumok iránt, különösen a bioalkohol, a glukóz, maltóz, illetve fruktóz tartalmú szirupok és a tiocukrok ipari el állításánál. Az utóbbi termékek szintén bizonyítottan pozitív élettani hatással rendelkeznek. Napjainkban az ipari keményít hidrolízisét enzimes technológiákkal és mikrobiális amilolitikus enzimek felhasználásával valósítják meg. Az iparban alkalmazott amilolitikus enzimek általában *Bacillus*, *Aspergillus* és *Rhizopus* törzsekb l származnak. A *Bacillus* törzsek által termelt α -amiláz enzimek 90-95 °C és pH 6,2-6,5 közötti tartományban Ca^{++} ionok jelenlétében stabilak és aktívak. Ezzel szemben az iparban jelenleg használt *Aspergillus* eredet glükoamiláz csak 55-60 °C és pH 4,0-6,0 közötti tartományban m köd képes. E két amilolitikus enzim tulajdonságai közötti különbség okozza, hogy a keményít hidrolízis többlépéses és hosszantartó folyamat (15-95 h). Így érthet , hogy a keményít -feldolgozó iparban a gazdaságosság növelése érdekében igény mutatkozik olyan új enzimek készítményekre, amelyek segítségével az egy lépéses hidrolízis megvalósítható. Feltételezhet , hogy hasonló m ködési tulajdonságokkal rendelkező enzimek azonos forrásból állíthatók el . Tekintettel arra, hogy a baktériumok nem termelnek megfelelő mennyiség glükoamilázt, ezért fordult a kutatók figyelmé a termofil gombák, mint potenciális enzimtermelők felé. Néhány közlemény beszámolt arról is, hogy a *Thermomyces lanuginosus* termofil fonalas gomba széles optimális pH tartománnyal rendelkező , extracelluláris, termostabilis α -amilázt és glükoamilázt termel keményít t tartalmazó tápközegen. Ezen ismeretekre alapozva választottam a *Thermomyces lanuginosus* gombát, mint potenciális enzimforrást, amely alkalmas lehet egy gazdaságos, kedvező tulajdonságú, keményít hidrolízisiparban hasznosítható, új enzimek készítmény kifejlesztéséhez.

A PhD kutatómunkámban az *Aspergillus niger* fonalas gombát választottam a β -fruktofuranozidáz enzim termeltetésére és tanulmányozására. Az amilolitikus enzimekkel kapcsolatos kutatásokban, pedig *Thermomyces lanuginosus* fonalas gombát alkalmaztam.

2. Célkit zések

Az élelmiszeripari és táplálkozás élettani jelent séggel bíró enzimek el állítására, jellemzésére és hasznosítására vonatkozó tanulmányaim során az alábbi célokat t ztem ki:

β -Fruktofuranozidáz

- β -fruktofuranozidáz enzim szubmerz fermentációs technológiával történ el állítása laboratóriumi körülmények között *Aspergillus niger* fonalas gomba alkalmazásával.
- A megtermelt β -fruktofuranozidáz enzim kinyerése és tisztítása.
- A tisztított β -fruktofuranozidáz fiziko-kémiai tulajdonságainak vizsgálata és az enzim optimális m ködési és stabilitási feltételeinek meghatározása.

Fruktooligoszacharidok

- Fruktooligoszacharidok el állítása az *Aspergillus niger* által megtermelt β -fruktofuranozidáz enzim alkalmazásával.
- Eljárás kidolgozása a létrehozott fruktooligoszacharidok kinyerésére és tisztítására.

Termostabilis amilolitikus enzimek

- Különböz törzsgy jteményekb l származó *Thermomyces lanuginosus* törzsekre gyors és megbízható szkrinelési módszer kidolgozása és a legjobb amilolitikus aktivitást mutató törzsek kiválasztása.
- A táptalaj összetételének optimalizálása az amilolitikus enzimtermel képesség fokozására.
- A fermentációs úton el állított amilolitikus enzimek laboratóriumi mennyiségben történ elválasztása és tisztítása folyadék kromatográfiás módszerekkel.
- A homogenitásig tisztított amilolitikus enzimek fiziko-kémiai tulajdonságainak és optimális m ködési feltételeinek meghatározása, stabilitási vizsgálatok végzése.

- Az enzimkészítmények kinetikai paramétereinek meghatározása különböző szubsztrátumokon.
- A *Thermomyces lanuginosus* eredet amilolitikus enzimek elsődleges szerkezetének vizsgálata.

3. Anyagok és módszerek

- A kutatómunkámban felhasznált vegyszerek mind analitikai minőségűek, a Sigma, a Reanal, a Merck, a Pharmacia finomvegyszergyártóktól szereztem be. A kísérletekben alkalmazott törzsek (*Aspergillus niger* és *Thermomyces lanuginosus*) különböző törzsgyűjteményekből (ATCC, CBS, DSM, IMI) származtak.
- A β -fruktofuranozidáz enzim aktivitás méréséhez Somogyi/Nelson és GOD/POD módszert alkalmaztam. Egy enzimaktivitás egység (U) az az enzim mennyiség, amely 1 μ mol fruktózt visz át a donor molekulából az akceptor molekulára 1 perc alatt az adott körülmények között.
- Az α -amiláz aktivitás méréséhez keményítőtartalommérést használtam. Egy enzimaktivitás egység (U) az az enzim mennyiség, amely 1 mg keményítőt bont 1 perc alatt a mérési körülmények között.
- A glükóamiláz aktivitás méréséhez GOD/POD módszert alkalmaztam. Egy enzimaktivitás egység (U) az az enzim mennyiség, amely 1 μ mol glükózt szabadít fel 1 perc alatt az adott körülmények között.
- A fermentációs kísérleteket rázatott lombikos technikával valósítottam meg. A táptalaj optimalizálási és az enzimstabilitási kísérleteknél határfelületi módszereket alkalmaztam. A általam felállított munkahipotézisek igazolására SPSS 10.0 statisztikai szoftver csomagot használtam.
- Az enzim tisztítására alacsony nyomású folyadék kromatográfiás módszereket használtam különböző oszlop töltetekkel. Az oszlopok FPLC vagy GradiFrac (Pharmacia) rendszerhez csatlakoznak.
- Az oligoszacharidok elválasztására és tisztítására alacsony nyomású folyadék kromatográfiás módszereket használtam BioGel P-2 töltettel.

- Fehérjekoncentráció meghatározásához különböző módszereket (Biuret, Lowry, módosított Lowry, Bradford, BCA) alkalmaztam a diagnosztikai kit gyártók által megadott utasítás alapján.
- A cukor analízisekhez kromatográfiás (HPAELC vagy HPLC rendszer) módszereket és redukáló cukorméréseket (BCA, Somogyi/Nelson), valamint GOD/POD módszert használtam.
- Az enzimfehérje molekulatömeg meghatározásához poliakrilamid gélelektroforézist (SDS-PAGE) alkalmaztam különböző festési módszerekkel. Az izoelektromos pontok meghatározása agaróz vagy poliakrilamid géleken történt.
- A fehérje N-terminális aminosav sorrendjének meghatározásához Applied BioSystem 476A pulzáló szekvenátort alkalmaztam.

4. Az eredmények összefoglalása

β-Fruktofuranozidáz

- Néhány *Aspergillus niger* törzs β-fruktofuranozidáz enzimtermelési képességét feltérképezve, az IMI 303386 jelzésű törzset választottam vizsgálataim tárgyául.
- Az *Aspergillus niger* IMI 303386 képes szintetizálni mind az intracelluláris β-fruktofuranozidáz és inulináz enzimeket, szacharózt és inulint tartalmazó tápközegeken.
- A nyers enzim stabilitása szempontjából megállapítható, hogy az ammónium-szulfáttal történő kicsapás után az enzim stabilitása csökkent (14 napról 4-5 napra).
- Az intracelluláris β-fruktofuranozidáz enzimet különböző veletekkel (ammónium-szulfátos kicsapás, ioncserélő kromatográfia, gélszűrő) homogenitásig tisztítottam. Ezen eljárásokat alkalmazva 50-szeres tisztulási hányadost és 42 %-os kitermelést értem el.
- Az SDS gélelektroforetikus módszerek alapján a β-fruktofuranozidáz monomereinek molekulatömege 115 és 135 kDa tartományba esett. Agaróz gélen történő izoelektromos fókuszálás során két különböző

izoelektromos pontú monomer különböztethet meg. Az egyik monomer pI-je 5,4, a másik pI-je 4,4 volt.

- Az *Aspergillus niger* IMI 303386 eredet β -fruktofuranozidáz maximális aktivitást pH = 5,5-nél és 50 °C hőmérsékleten mutatott. Számos fémion és egyéb komponenseknek az enzimre gyakorolt hatását megvizsgálva megállapítottam, hogy a Ba^{++} , Mg^{++} , Ca^{++} és EDTA jelenléte pozitívan hat az enzim aktivitására, míg a Hg^{++} , Ag^+ és Ni^{++} inaktíválja az enzimet.
- Az enzim 5 órán át tartó 55 °C-nál kisebb hőmérsékleteken és pH = 4-8-ig terjedő tartományban történő inkubálása során aktivitásának több mint 90 százalékát megtartotta. A β -fruktofuranozidáz enzim aktivitását gyorsan elvesztette 60 °C-nál magasabb hőmérsékleten történő inkubálás során.
- Az *Aspergillus niger* eredet β -fruktofuranozidáz enzim által katalizált transzfruktozilációs reakcióban 72 óra után értem el a maximális fruktooligoszacharid koncentrációt 25 % szacharóz szubsztrátumon. A főbb fruktooligoszacharidok a kesztóz és a nisztóz voltak, amelyet BioGel P-2 oszloppal sikerült elválasztani a kísérlet komponenseitől.

Termostabilis amilolitikus enzimek

- A *Thermomyces lanuginosus* törzsek elválasztását amilolitikus enzimtermelésre keményítő tartalmú, szilárd táptágon végeztem. A keményítő hasznosításának kimutatása jó eredménnyel alkalmazásával történt. A feltisztulási zóna és a telep átmérő hányadosa alapján rangsoroltam az egyes törzseket, melyet szubmerz fermentáció során hagyományos aktivitásmérési módszereket alkalmazva is megérősítettem.
- Ennek alapján kiválasztottam az ATCC 34626 jelű törzset a további vizsgálatokra, mivel ez a törzs mind megfelelő α -amiláz, mind glükóamiláz aktivitással rendelkezett.
- Megállapítottam, hogy a fermentáció pH-ja jelentős hatással van az enzimaktivitások alakulására. A fermentációs táptalaj pufferolásával (pH=4,9) 96 óra után tapasztaltam a maximális enzimaktivitásokat.

- A *T. lanuginosus* fonalas gomba jól szaporodik számos szénforráson pl. vízoldható keményít , natív keményít , glükóz, maltodextrin, maltóz, dextrán, amilopektin stb.. A gomba képes az el bb említett szénforrások mindegyikén amilolitikus enzimeket szintetizálni. Az α -amiláz esetén a maltodextrin bizonyult a legjobb szénforrásnak, míg glükoamiláz esetén a dextrin.
- Számos szerves és szervesetlen nitrogénforrást megvizsgálva megállapítottam, hogy az L-aszparagin a legjobb nitrogénforrás az enzimtermelés szempontjából. Ezt az éleszt kivonat követte.
- Az optimális szén- illetve nitrogénforrás koncentráció megállapítására hatásfelületi módszert (Response Surface Method, RSM) alkalmaztam. A mért adatok értékelésére SPSS 10.0 for MS Windows statisztikai szoftver csomagot használtam. A prognosztizált adatokat kísérletesen meger sítve megállapítottam, hogy a maximális amilolitikus enzimtermelés α -amiláz esetén 6,5 % keményít és 0,75 % L-aszparagin, glükoamiláz esetén pedig 2 % keményít és 0,75 % L-aszparagin tartalmú tápközegen érhet el.
- A K_2HPO_4 és KH_2PO_4 optimális koncentrációinak és arányának meghatározását szintén elvégeztem.
- Az optimalizálási eredmények birtokában az alábbi összetétel tápközegeket ajánlom *T. lanuginosus* ATCC 34626 törzs segítségével történ amilolitikus enzimek termelésére szubmerz technológiával:
 - α -amiláz: vízoldható keményít 6,5 %, L-aszparagin 0,75 %, KH_2PO_4 0,15 %, K_2HPO_4 0,1 %, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,05 %, Vogel-féle nyomelem oldat 0,1 mL
 - glükoamiláz: vízoldható keményít 2,0 %, L-aszparagin 0,75 %, KH_2PO_4 0,15 %, K_2HPO_4 0,1 %, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,05 %, Vogel-féle nyomelem oldat 0,1 mL

Mindkét fermentációs táptalaj 100 mM citrát pufferben (pH=4,9) készítend .
- Az amilolitikus enzimek kinyerésére és tisztítására több lépésb 1 álló tisztítási eljárásokat dolgoztam ki, amelyek segítségével megfelel

enzim mennyiséget állítottam el enzim jellemzési céljaim megvalósításához. Ezen eljárással 16,7-szeres tisztulást és 27 % kitermelést értem el α -amiláz esetében, míg glükóamiláz esetén 8,6-os tisztulást és 23 % kitermelést.

- Gélelektroforézissel (SDS-PAGE) a *T. lanuginosus* α -amiláz molekulatömege 61 kDa volt. Az izoelektromos pontja pedig 3,5-3,6 adódott agaróz és poliakrilamid gélen. Glükóamiláz esetében a molekulatömegnek 75 kDa adódott és a pI-e 4,1-4,3 volt.
- Mind a két enzimnek meghatároztam az optimális működési paramétereit a maximális aktivitás értékekben. Az α -amiláz esetében a pH optimum tartománya 4,6-6,6 volt, glükóamiláz esetén pedig 4,6-5,6. Mindkét enzim hőmérséklet optimuma 70 °C volt. A Zn^{++} ion erősen gátolja a *T. lanuginosus* amilolitikus enzimeinek aktivitását, a Mn^{++} és Fe^{++} ionok pozitív hatást gyakorolnak a glükóamiláz aktivitására, a Ca^{++} és Ba^{++} pedig az α -amiláz aktivitására.
- Új koncepciót vezettem be az egyes enzimek termostabilitásának tanulmányozására. Az eddigi alkalmazott vizsgálatok szerint általában külön-külön határozzák meg a pH és a hőmérséklet hatását az enzim stabilitására vonatkozóan és önkényesen határozzák meg az inkubálás időtartamát. Ezzel szemben itt a két faktor együttes hatását is vizsgáltam és a felezési időt tekintettem függő változónak. Így matematikai-statisztikai módszerek alkalmazásával, célfüggvények segítségével pontos modell állítható fel az enzimek stabilitására vonatkozóan. Vizsgálataim során azt az enzimet tekintettem termostabilisnak, amely 60 °C-on inkubálva 12 óránál nagyobb felezési idővel rendelkezik. Ezen hipotézis alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a *T. lanuginosus* gombának mind az α -amiláz, mind a glükóamiláz enzime stabilisnak tekinthet 60 °C-on és a pH 4,5-től 8,5-ig terjedő tartományban.
- Egyes ionok vagy komponensek hatással lehetnek az enzimek stabilitására. A *T. lanuginosus* α -amiláza esetén Ca^{++} jelenlétében a felezési idő 5-ször nagyobb, mint nélküle. Glükóamiláz esetén pedig az α -ciklodextrin jelenlétében 3-szor nagyobb felezési időt találtam.

- A *T. lanuginosus* eredet α -amiláz gyorsan bontja mind a vízoldható, mind a natív keményít szubsztrátumokat. A vízoldható keményít esetén a K_m érték 0,68 mg/ml, a V_{max} pedig 45,19 U/mg volt.
- A *T. lanuginosus* eredet glükóamiláz K_m értéke a maltóz, maltotrióz, maltotetraóz, maltopentaóz és vízoldható keményít szubsztrátumokon 6,5 mM, 3,5 mM, 2,1 mM, 1,1 mM és 0,8 mg/ml volt. Ezen enzim képes bontani a maltóz szubsztrátumot, de nagyon kicsi sebességgel.
- Meghatároztam a *T. lanuginosus* ATCC 34626 törzs által termelt α -amiláz fehérjének N-terminális els 37 aminosav sorrendjét. A szekvencia analízist a BLAST fehérje adatbázis (<http://pbil.univ-lyon1.fr/BLAST/>) felhasználásával végeztem el és megállapítottam, hogy ez a szekvencia 95 %-os homológiát mutat az *Aspergillus niger* és az *Emericella nidulans* által szintetizált α -amiláz aminosav sorrendjével. Ennek alapján a *T. lanuginosus* eredet α -amilázt a glikohidrolázok 13. csoportjába soroltam.

5. Új tudományos eredmények

1. Elválasztási technológiát dolgoztam ki az *Aspergillus niger* fonalas gomba eredet β -fruktofuranozidáz enzim kinyerésére és homogenitásig történ tisztítására. Meghatároztam a tisztított β -fruktofuranozidáz enzim fiziko-kémiai tulajdonságait: molekulatömege 115-135 kDa és pI-je 5,4 és 4,4 volt.
2. Meghatároztam azt a biokonverziós idő t (72 óra), amely alatt maximális fruktooligoszacharid mennyiség érhető el a transzfruktozilációs folyamat során.
3. Új módszert dolgoztam ki az egyes fruktooligoszacharidok tisztítására. Az általam kidolgozott rendszer 2 sorba kötött BioGel P-2 gyantával töltött oszlopból áll. Eluensként desztillált vizet alkalmaztam.
4. A matematikai-statisztikai módszerek alkalmazásával a fermentációs táptalaj optimalizálása keretében új fermentációs tápközeg összetételt dolgoztam ki, amely alkalmazásával a *Thermomyces lanuginosus* ATCC

34626 törzs enzimaktivitása α -amiláz esetén 5-szörösére, glükóamiláz esetén 10-szeresére növekedett.

5. Eljárásokat dolgoztam ki a *Thermomyces lanuginosus* ATCC 34626 törzs által termelt amilolitikus enzimek tisztítására, és meghatároztam az α -amiláz és a glükóamiláz enzim fiziko-kémiai tulajdonságait. α -amiláz esetében a molekulatömeg 61 kDa, pI-je 3,5-3,6, glükóamiláz esetén pedig a molekulatömeg 75 kDa, pI-je 4,1-4,3 volt.
6. Új koncepciót vezettem be a termostabilis enzimek stabilitásának értékelésére. A pH és a hőmérséklet együttes hatását vizsgálva és a felezési idő függ változónak választva matematikai-statisztikai módszerek (RSM) alkalmazásával modell állítható fel az enzimek stabilitásának leírására. E módszer alkalmazása lehetővé teszi az egyes enzimek objektív jellemzését és összehasonlítását.
7. Különböző szubsztrátumokon (vízoldható keményít, maltóz, maltotrióz, maltotetraóz és maltopentaóz) meghatároztam a *Thermomyces lanuginosus* eredeti α -amiláz és glükóamiláz enzimek kinetikai paramétereit.
8. Meghatároztam a *Thermomyces lanuginosus* ATCC 34626 törzs által termelt α -amiláz fehérje N-terminális végén található első 37 aminosav sorrendjét. Adatbázis segítségével 95 %-os homológiát találtam az *A. oryzae* és az *Emericella nidulans* eredeti α -amiláz szekvenciáival.

6. Eredmények hasznosítási lehetőségei

β -Fruktofuranozidáz

- Az *Aspergillus niger* IMI 303386 törzs megfelelő tápközegen képes megfelelő mennyiség β -fruktofuranozidáz enzimet szintetizálni. Ez az enzim alkalmas fruktooligoszacharidok gyártására, amely prebiotikumként hasznosítható funkcionális élelmiszerek előállításánál.
- Megfelelő enzimmennyiség előállítása után lehetővé válik az enzimszerkezet feltárása és az enzimrögzítési módszerek kidolgozása.

- A laboratóriumi enzimes szintézisek továbbfejlesztésével megvalósítható a léptéknövelés, esetleg rögzített enzimes technológia a fruktooligoszacharidok előállítására.

Termostabilis amilolitikus enzimek

- A táptalaj összetétel optimalizálás eredményei alapján képezhetik egy ipari lépték enzimtermelés megvalósításának. Törzsnemesítéssel párosítva – megítélésem szerint – olyan technológiát lehet kifejleszteni, amely alkalmas a termostabilis amilolitikus enzimkomplex előállítására.
- Az enzim stabilitás meghatározásában bevezetett új koncepció a matematikai-statisztikai módszereket használva lehet séget ad a termostabilis enzimek fogalmának tényszerű és egységes megfogalmazására, valamint a különböző forrásból származó enzimek összehasonlítására a stabilitás szempontjából.
- Az α -amiláz elsődleges szerkezetismerete alapot szolgáltat a molekuláris szintű mechanizmus tanulmányozásához, amely az enzim térbeli szerkezetét, a konformációját és katalitikus mechanizmusát is magába foglalja. Ez pedig utat nyit az enzimmérnökség felé, ahol tudatos módosításokkal a számunkra kedvező és specifikus tulajdonságú enzimek alakíthatók ki.

7. Az értekezés témakörében megjelent közlemények

Tudományos folyóiratban megjelent közlemények

1. **Nguyen DQ**, Frank M, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á, Bhat MK (1999) Production, purification and identification of fructooligosaccharides produced by β -fructofuranosidase from *Aspergillus niger* IMI 303386. *Biotechnol Lett* **23**:183-186
2. Rónaszéki G, **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á, Bhat MK (2000) Screening the strains of thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* for amylolytic activities. *Acta Aliment* **29**:71-79

3. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á (2000) Optimisation of composition of media for the production of amylolytic enzymes by *Thermomyces lanuginosus* ATCC 34626. Food Technol Biotechnol **38**:229-234
4. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Claeysens M, Stals I, Hoschke Á (2002) Purification and characterisation of amylolytic enzymes from *Thermomyces lanuginosus* ATCC 34626. Enzyme Microb Technol **33**:345-352

Konferencia kiadványokban megjelent teljes terjedelmű közlemények

1. Hoschke Á, Rezessy-Szabó JM, **Nguyen DQ**, Bujna E, Czukor B (1997) Enzymatic degradation of antinutritive oligosaccharides of legumes. Proc Euro Food Chem X Functional Foods – A new challenge for the food chemists (Eds.: Lásztity, Pfannhauser, Simon-Sarkadi, Tömösközi), **3**:778-783
2. Rezessy-Szabó JM, **Nguyen DQ**, Hoschke Á (2000) Formation of α -galactosidase enzyme by *Thermomyces lanuginosus*. Proc 14th Forum Appl Biotechnol **3**:319-322
3. Hoschke Á, **Nguyen DQ**, Rezessyné Szabó J (2000) Termofil gomba *Thermomyces lanuginosus* extracelluláris enzimek vizsgálata. Acta Microbiol Debrecina 142-146

Kutatási jelentések

1. **Nguyen DQ** (1998) Investigation of β -fructofuranosidase. Periodical report, IFR, Reading Laboratory
2. Hoschke Á, Rezessy-Szabó JM, Rónaszéki G, **Nguyen DQ** (1998) Production and evaluation of industrial potential of the thermostable amylolytic and xylanolytic enzymes from the thermophilic fungus, *Thermomyces lanuginosus*. COPERNICUS CIPA-CT 94-0232 project final report.
3. Bhat MK, Macris BJ, Claeysens M, Kolev DN, Hoschke Á, Biely P, Bennett NA, Ryan J, Yusuf I, Kekos D, Christakopolous P, Katapodis P, Nerinckx W, Ntuma P, Petrova S, Atev A, Bakalova NG, Benadova RS, Rezessy-Szabó JM, Rónaszéki G, **Nguyen DQ et al.** (1998) Production and evaluation of industrial potential of the thermostable amylolytic and xylanolytic enzymes from the thermophilic fungus,

Thermomyces lanuginosus. Final edited and exploitation technical progress report, IFR, Reading Laboratory.

Tudományos konferenciákon elhangzott eladások

1. Hoschke Á, Rezessy-Szabó J, Rónaszéki G, **Nguyen DQ**, Dobolyi I (1996) α -Amylases and glucoamylases from *Thermomyces lanuginosus*. Third Project Meeting of CIPA-CT 94-0232, Budapest, May 1996
2. Hoschke Á, Rezessy-Szabó J, Rónaszéki G, **Nguyen DQ**, Dobolyi I (1997) Optimisation of α -amylase and glucoamylase production by *Thermomyces lanuginosus*. Fourth Project Meeting of CIPA-CT 94-0232, Sofia, February
3. Hoschke Á, Rezessy-Szabó J, Rónaszéki G, **Nguyen DQ**, Dobolyi I (1997) Purification of amylolytic enzymes produced by *Thermomyces lanuginosus*. Fifth Project Meeting of CIPA-CT 94-0232, Smolenice, June
4. Hoschke Á, Rezessy-Szabó J, **Nguyen DQ**, Bujna E (1997) Purification and characterisation of amylolytic enzymes produced by *Thermomyces lanuginosus*. Sixth Project Meeting of CIPA-CT 94-0232, Gent, December
5. Rezessy-Szabó J, **Nguyen DQ**, Bujna E, Rónaszéki G, Hoschke Á (1998) Production of glucoamylase by filamentous fungi *Thermomyces lanuginosus*. Lippay János-Vas Károly International Scientific Meeting Session, Budapest. Absz: „Lippay János-Vas Károly” Tudományos Ülésszak El adásának és Poszterek Összefoglalói” (Élelmiszeripar), 210-211
6. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á (2000) Production and some properties of amylolytic enzymes from thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*. First European PhD Forum in Food Science, Gent, Belgium
7. Farkas G, **Nguyen DQ**, Hoschke Á (2000) Alkoholszegény sör el állításának modellezése rögzített élesztővel, Lippay János-Vas Károly Nemzetközi Tud. Ülésszak Budapest, Absz.: A „Lippay János-Vas Károly” Tudományos Ülésszak El adásának és Poszterek Összefoglalói (Élelmiszertudomány), 132-133

Tudományos konferenciákon bemutatott poszterek

1. **Nguyen DQ**, Hoschke Á, Bujna E, Kiss Zs, Rezessyné Szabó J (1998) *Thermomyces lanuginosus* termofil gomba amilolitikus enzimeinek vizsgálata. MMT Nagygy lés, Miskolc
2. **Nguyen DQ**, Hoschke Á, Bujna E, Kiss Zs, Rezessyné Szabó J (1998) *Thermomyces lanuginosus* termofil gomba amilolitikus enzimeinek kinyerése, elválasztása és jellemzése. „Lippay János-Vas Károly” Nemzetközi Tud. Ülésszak Budapest. Absz.: A „Lippay János-Vas Károly” Tudományos Ülésszak El adásának és Poszterek Összefoglalói (Élelmiszeripar), pp. 206-207
3. Rezessy-Szabó J, **Nguyen DQ**, Bujna E, Hoschke Á (1999) Production of α -galactosidase by *Thermomyces lanuginosus*. First Hungarian Conference of Mycology, Budapest. Abs.: Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, **46**:345
4. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó J, Hoschke Á (2000) Improvement of amylolytic production by changing the components of fermentation medium. First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely
5. Rezessy-Szabó J, Sinkó I, Bujna E, **Nguyen DQ** (2000) Enhancement of productivity of α -galactosidase by optimisation of medium composition. First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely
6. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó J, Hoschke Á (2000) Fermentációs tápközeg optimalizálása Válasz Felület Módszer alkalmazásával. Lippay János-Vas Károly Nemzetközi Tud. Ülésszak Budapest. Absz.: A „Lippay János-Vas Károly” Tudományos Ülésszak El adásának és Poszterek Összefoglalói (Élelmiszertudomány), pp. 156-157
7. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á (2002) New aspects of investigation of effects of pH and temperature on thermostable enzyme activity and stability for potential industrial applications. Power of Microbes, Opatjia, Croatia
8. Rezessy-Szabó JM, **Nguyen DQ**, Bujna E, Takács K, Kovács M, Hoschke Á (2002) *Thermomyces lanuginosus* CBS 395.62/B strain as rich source of α -galactosidase enzyme. Power of Microbes, Opatjia, Croatia
9. **Nguyen DQ**, Rezessy-Szabó JM, Hoschke Á (2002) *Thermomyces lanuginosus* fitáz enzime, Magyar Mikrobiológiai Társaság 2002. évi nagygy lése, Balatonfüred

Dolgozatok

1. **Nguyen DQ** (1995) Élelmiszeripari hőkezelés számítógépes modellezése, XXII. OTDK, Mezőtúr, április
2. **Nguyen DQ** (1996) Termofil gomba α -amiláz enzimének vizsgálata, XI. MÉTE OTDK, Budapest, december.
3. **Nguyen DQ** (1997) Termofil gomba amilolitikus enzim termelése és vizsgálata. XXIII. OTDK, Keszthely, április
4. **Nguyen DQ** (1997) Termofil gomba amilolitikus enzim termelése és vizsgálata, Diplomamunka, KÉE, Budapest

A kutatásaimat az alábbi helyeken végeztem:

Szent István Egyetem
Sör- és Szeszípari Tanszék, Budapest

Institute of Food Research, Reading Laboratory
Reading, United Kingdom

Gent University
Department of Biochemistry, Physiology and Microbiology
Laboratory of Biochemistry, Gent, Belgium

Központi Élelmiszer-tudományi Kutató Intézet
Biokémiai Osztály, Budapest

Curriculum Vitae

Nguyen Duc Quang 1970. július 14-én Nghi Duc-ban (Nghe an, Vietnám) született. A gimnázium elvégzése után felvételizett a Hanoi Agrártudományi Egyetemre. Felvételi eredményei alapján a Magyar-Vietnámi Államközi Oktatási és Kulturális Egyezmény alapján nyilvános pályázaton nyert állami ösztöndíjas nappali hallgatói státust Magyarországra. 1989 szeptemberében kezdte meg a magyar nyelv kurzusokat a Nemzetközi El készítő Intézetben. 1990-ben kezdte meg az egyetemi tanulmányait a Gödöllői Agrártudományi Egyetemen. Tanulmányait 1991-ben a Budapesti Vietnámi Nagykövetség és a Magyar Művelődési és Oktatási Minisztérium jóváhagyásával a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Élelmiszeripari Karán folytatta. Az egyetemi tanulmányai alatt résztvett az Agrár Felsőoktatási Számítástechnikai versenyeken és 1994-ben II. helyezést ért el. A konzervipari hőkezelési modellezés témaköréből írt dolgozatával 1995-ben XXII. Országos TDK konferencián az Agrártudományi Szekció Élelmiszertechnológiai Alszekciójában különdíjban részesítették. 1995-ben TDK munka és diplomamunka készítés keretében kapcsolódott a Sör- és Szeszipari Tanszéken folyó nemzetközi kutató projekt COPERNICUS CIPA-CT 94-0232 kutatási programjához. A kutatási eredményeket 1996-ban a MÉTE Országos TDK Konferencián bemutatta és I. helyezéssel jutalmazták. Egy évvel később 1997-ben a XXIII. Országos TDK Konferencia Agrártudományi Szekció Élelmiszertudományi Alszekciójában II. helyezést ért el. 1997-ben élelmiszermérnöki diplomát szerzett és felvételt nyert a KÉE, Élelmiszermérnöki és –tudományi PhD programjára (témavezető: Dr. Hoschke Ágoston, egyetemi tanár).

A PhD tanulmányai alatt aktívan, önálló kutatómunkákat végez a gomba által termelt enzimek vizsgálatában. 1998-ban kutatócsere program keretében 3 hónapot töltött a Readingi Élelmiszer Kutató Intézetben (Anglia), ahol vizsgálta az *A. niger* által termelt β -fruktofuranozidáz alkalmazási lehetőségeit. 2001-ben elnyert egy 6 hónapos ERASMUS ösztöndíjat a Genti Egyetemre, ahol a *Thermomyces lanuginosus* gomba által termelt és megtisztított amilolitikus enzimek kinetikáját, valamint elsődleges szerkezetét tanulmányozta.

2001 szeptemberétől egyetemi tanársegédként dolgozik a SZIE, Sör- és Szeszipari Tanszékén.

Kutatási eredményeiről folyamatosan beszámolt szakfolyóiratokban, valamint hazai és nemzetközi tudományos fórumokon.

Budapest, 2002. október