



**Reverz hidrolízis és transzglykoziláció  
tanulmányozása oligoszacharidok szintézisére**

**Doktori értekezés tézisei**

**STYEVKÓ GABRIELLA**

**Budapest  
2015**

## **A doktori iskola**

- megnevezése:** Élelmiszertudományi Doktori Iskola
- tudományága:** Élelmiszertudományok
- vezetője:** **Dr. Felföldi József**  
egyetemi tanár, PhD  
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar  
Fizika-Automatika Tanszék
- Témavezető:** **Dr. Habil. Nguyen Duc Quang**  
egyetemi docens, PhD  
**Prof. Dr. Hoschke Ágoston**  
professzor emeritus, CSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar  
Sör- és Szeszipari Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....  
**Az iskolavezető jóváhagyása**

.....  
**A témavezetők jóváhagyása**

## 1. A munka előzményei

A szénhidrátok fontos és meghatározó szerepet játszanak az élővilágban. E biomolekulák számos biológiai funkcióval rendelkeznek: energia ellátás (pl. glükóz), tápanyagok tartalékolása (pl. keményítő, glikogének, stb.), építőanyagok (pl. cellulóz, kitin), nukleotidoknak, koenzimeknek stb. fontos komponensei. A szénhidrátok összetételüket és szerkezetüket tekintve sokfélék lehetnek. A polimerizáltsági fok alapján négy csoportra oszthatók: monoszacharidok, diszacharidok, oligoszacharidok (3-10 tagszámú) és poliszacharidok (10-nél nagyobb tagszámú). Az oligoszacharidok (OS) a szénhidrátok egyik fontos csoportja, melyek meghatározó szerepet játszanak a biológiai rendszerekben, pl. részt vesznek különböző felismerési folyamatokban, nagy szerepük van a sejtek szervezési és védelmi mechanizmusában, hatásuk lehet a fehérjék biológiai funkciójára stb. Továbbá a kedvező fiziko-kémiai, fiziológiai és technológiai tulajdonságuk miatt az élelmiszeriparban is széleskörűen alkalmazzák. Egyes oligoszacharidokat a bennük lévő speciális glikozidos kötéseknek köszönhetően az emésztőrendszer enzimeit nem képesek lebontani (nem-emészthető oligoszacharidok), melyek így diabetikus vagy alacsony kalóriatartalmú termékek gyártására használhatók. Emellett prebiotikus hatásúak is lehetnek, azaz kedvezően támogathatják a vastagbélben élő jótékony hatású mikroorganizmusok szaporodását, illetve aktivitását. Ezeket funkcionális élelmiszerek összetevőjeként széleskörűen alkalmazzák.

Az előállításuk különböző eljárásokkal történhet: kémiai, fizikai vagy enzimes úton. Oligoszacharidokhoz juthatunk természetes forrásból történő kinyeréssel is. A kémiai eljárás bonyolult és költséges folyamat, nehéz a léptéknövelés megoldása, valamint nagy a melléktermék képződésének kockázata. A fizikai oligoszacharid előállítási módszerek hátránya, hogy nem specifikusak, így alkalmazásuk korlátozott. A fizikai és kémiai előállítással szemben az enzimes módszerek nagy előnye, hogy a régió- és sztereospecifitásnak köszönhetően szabályozható a termékspektrum, minimális a melléktermék képződés lehetősége, emellett változatos reakciókörülmények között is megvalósítható a biokonverzió. A felsorolt indokok miatt az enzimes szintézist részesítik előnyben. Jelenleg számos kereskedelemben kapható prebiotikus oligoszacharidot (pl. GOS, FOS) kizárólag enzimes technológiával állítanak elő. Az oligoszacharidok enzimes előállításának különböző módjai lehetnek: poliszacharidok enzimes hidrolízise, transzglikoziláció és reverz hidrolízis reakciók. Számos enzim (hidrolázok, glikoziltranszferázok, glikoszintázok) képes szintézis reakció katalizálására, amellyel célzott összetételű/szerkezetű oligoszacharidok állíthatók elő, akár mono- akár biszubsztrátum

rendszerekben. Vannak köztük olyan enzimek, amelyek katalitikus mechanizmusáról még kevés információ áll rendelkezésünkre. Ezen enzimek katalitikus aktivitásának megismerésével pedig lehetőségek nyílnak új technológiák alkalmazására, vagy akár új oligoszacharidok előállítására.

E kutatási területhez kapcsolódva doktori kutatómunkámban különböző eredetű enzimpreparátumok transzglykozilációs és reverz hidrolitikus hatásait tanulmányoztam mono- és biszubsztrátum rendszerekben. A szintetizált oligoszacharidok, valamint az enzimek katalitikus hatásának tanulmányozásából származó eredmények bővíthetik a tudományos alapismereteket, hozzájárulhatnak az enzimek hatásmechanizmusainak megértéséhez, biológiai funkciók (működés és szabályozás) feltárásához, továbbá kívánt funkciójú vagy szerkezetű termék(ek) előállítására szolgáló enzimes technológiák kidolgozásához.

## 2. Célkitűzések

Doktori kutatómunkám célja különböző eredetű enzimpreparátumok transzglykozilációs és reverz hidrolízis aktivitásának tanulmányozása oligoszacharidok szintézis lehetőségeinek feltárására mono- és biszubsztrátum rendszerek használatával. A következő kutatási feladatokat tűztem ki:

- A pektinbontás céljára kifejlesztett (*Aspergillus aculeatus* eredetű) Pectinex ultra ipari enzimek készítményben található kísérő enzimek oligoszacharid szintetizáló mechanizmusának igazolása különböző szubsztrátumokon:
  - Transzglykoziláció vizsgálata diszacharid szubsztrátumokon
  - Reverz hidrolízis vizsgálata monoszacharid szubsztrátumokon
- A Pectinex ultra enzimek készítmény alkalmazásával mannóz alapú (di,oligo)szacharidok szintézisének tanulmányozása, a következő részfeladatokkal:
  - Szubsztrátum koncentrációhatása
  - pH és hőmérséklet hatása
  - Optimális enzim:szubsztrátum arány
  - *Maillard* inhibíció vizsgálata
  - A mannóz alapú (di, oligo)szacharidok tisztítása és jellemzése
- *Bifidobacterium longum* Bb-46 eredetű enzimpreparátum transzglykozilezési tulajdonságainak vizsgálata különböző diszacharidokon.
- Két-szubsztrátumos rendszerek tanulmányozása a következő részfeladatokkal:
  - Pectinex ultra enzimek készítmény vizsgálata biszubsztrátumok esetében
    - Reverz hidrolízis vizsgálata különböző monoszacharid kombinációk esetében
    - Transzglykozilációs reakciók vizsgálata különböző diszacharid kombinációk esetében
  - *Bacillus megaterium* DSM 319 eredetű rekombináns levánszukráz enzim tanulmányozása biszubsztrátum rendszerekben
  - *Bifidobacterium longum* Bb-46 eredetű preparátum transzglykozilációs reakcióinak vizsgálata biszubsztrátum rendszerekben

### 3. Anyagok és módszerek

Az oligoszacharid szintézis vizsgálatához Pectinex ultra ipari enzimek készítményt (Sigma-Aldrich), *Bacillus megaterium* eredetű rekombináns levánszukráz enzimet és *Bifidobacterium longum* eredetű enzimpreparátumot alkalmaztam.

A *Bacillus megaterium* eredetű levánszukráz enzimet *Escherichia coli* BL21 (DE3) baktériummal termeltem. Az enzim előállítását a Braunschweigi Műszaki Egyetem Műszaki Kémiai Tanszékén valósítottam meg a következők szerint: 50 ml inokulumot hozzáadtam 500 ml, 0,5 mM ampicillint tartalmazó LB tápleveshez, majd 3 órán keresztül (37 °C-on, 120 rpm fordulatszám) inkubáltam. Ezt követően a fehérje expresszió indukálása céljából hozzáadtam 0,5 mM IPTG-t (izopropil  $\beta$ -D-tiogalaktozidot) a tenyészethez. A hőmérsékletet ezután lecsökkentettem 30 °C-ra, és tovább inkubáltam rázatás mellett 21 óráig. Az enzim kinyeréséhez ultrahangos feltárást alkalmaztam.

A *Bifidobacterium* eredetű enzimpreparátum előállításához a Christian-Hansen cég által forgalmazott *Bifidobacterium longum* Bb-46 probiotikus törzset használtam fel. A fermentációhoz TPY tápközeget alkalmaztam, amelyben (a  $\beta$ -galaktozidáz termelés indukálása céljából) a glükózt laktóz szénforrással helyettesítettem. A fermentáció indításához 1 tf %-os 24 órás inokulum tenyészetet használtam. A fermentáció időtartama 21 óra volt. A sejtek feltárást French Press nagynyomású homogenizátorral végeztem (800 psi nyomással), melyet háromszor ismételttem.

A  $\alpha$ -mannozidáz,  $\beta$ -galaktozidáz,  $\alpha$ -galaktozidáz,  $\alpha$ -glükozidáz,  $\beta$ -glükozidáz aktivitás meghatározásához kromoforoszubsztrátumokat (p-nitrofenil- $\beta$ -D-galaktopiranozid, p-nitrofenil- $\alpha$ -D-galaktopiranozid, p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glükopiranozid, p-nitrofenil- $\beta$ -D-glükopiranozid, p-nitrofenil- $\alpha$ -D-mannopiranozid) használtam és az aktivitást a felszabaduló p-nitrofenol mennyisége alapján határoztam meg. Ez esetben egy enzimaktivitás egység az az enzimmennyiség, amely percenként 1  $\mu$ mol p-nitrofenolt szabadít fel adott reakcióköörülmények között. A  $\beta$ -fruktozidáz/levánszukráz aktivitás meghatározása szacharóz szubsztrátumon történt, melyet a felszabaduló redukáló cukor mennyiségéből számoltam. A redukáló cukor tartalom méréséhez BCA és DNS módszert alkalmaztam. Egy  $\beta$ -fruktozidáz/levánszukráz aktivitás egység az az enzimmennyiség, amely percenként 1  $\mu$ mol redukáló cukrot szabadít fel adott reakcióköörülmények között.

A Pectinex ultra enzimek készítménnyel a monoszubsztrátumokon történő oligoszacharid szintézist 1 ml térfogatú, 30 g/100ml szubsztrátum koncentrációjú (arabinóz, fruktóz, glükóz, mannóz, ramnóz, szorbóz, xilóz, cellobióz, laktóz, maltóz, maltulóz, melibióz, palatinóz,

trehalóz, turanóz) oldatban vizsgáltam 60 °C és pH 5,5 paraméterek mellett. Az enzimes reakciót 0,15 mg fehérje/g szénhidrát (13 µl) enzimmennyiséggel indítottam. A 96 órás biokonverzió során napi mintavételezés történt. A mintákban 10 perces forralással inaktiváltam az enzimet. A szubsztrátum koncentrációt 10-80 g/100ml, a hőmérséklet hatását 50-80 °C, a pH hatását pH 3,0 – 7,0, az enzimmennyiség hatását 0,8 - 3,9 mg fehérje/g szénhidrát közötti tartományban vizsgáltam. A *Maillard* inhibitor vegyületek hatását 15 mM koncentrációban tanulmányoztam.

A készítmény által katalizált transzglykozilációs reakciók vizsgálata biszubsztrátumokon a következő paraméterek mellett történt: 5 ml térfogat, 10 g/100ml szubsztrátum koncentráció, 60 °C, a pH 5,5. A biszubsztrátumok összeállításánál a szacharózt és a laktózt kombináltam különböző szénhidrátokkal (szacharóz, laktóz, maltóz, fruktóz, galaktóz, glükóz, mannóz, xilóz) 1:1 arányban. A reakciót 0,16 mg fehérje/g szénhidrát enzimmennyiséggel indítottam. A szubsztrátum arány hatását 1:9 - 9:1 arányoknál, az összes szénhidrát koncentráció hatását 10 - 70 g/100 ml tartományban vizsgáltam.

A *Bacillus megaterium* eredetű levánszukráz enzimmel történő biokonverzió megvalósításhoz a szacharózt 2 másik diszachariddal; laktózzal és maltózzal; kombináltam 2:1 és 1:2 arányban. Kétféle szubsztrátum koncentrációt 30,75 g/100ml és 61,5 g/100ml alkalmaztam. A vizsgálatokat pH 6,6-on és 37 °C-on végeztem. A bemért enzim mennyiség 5 U/ml volt. A vizsgálatokat a Braunschweigi Műszaki Egyetem Műszaki Kémia Tanszékén végeztem.

*Bifidobacterium longum* Bb-46 eredetű fehérjével végzett biokonverziós kísérletet, 1 ml térfogatban, 30 g/100ml szénhidrát koncentráció, 40 °C és pH 6,6 paraméterek alkalmazásával hajtottam végre. A biokonverziót 1,08 mg fehérje/g szénhidrát (100 µl) enzimmennyiséggel indítottam.

A szénhidrátok kimutatása HPLC-RID, HPAEC-PAD, TLC és MALDI-TOF-MS módszerekkel történt.

A fehérjetartalom meghatározására Bradford módszert alkalmaztam.

Szénhidrátok elválasztása FPLC berendezéshez csatlakoztatott BioGel-P2 töltetű oszlop alkalmazásával történt.

#### 4. Az eredmények összefoglalása

A kutatásommal alábbi jelentős eredményeket értem el:

- Bizonyítottam, hogy a Pectinex ultra számos más mellékaktivitással ( $\beta$ -galaktozidáz, fruktoziltranszferáz stb.) rendelkező enzimet is tartalmaz, amelyek felhasználásával különböző oligoszacharidok szintetizálhatók. Igazoltam, hogy alkalmazásával transzglükózilációs reakció vihető véghez cellobióz, maltóz, maltulóz, palatinóz, trehalóz és turanóz szubsztrátumokon. Emellett megállapítottam, hogy a készítmény a  $\beta$ -galaktozidos kötések mellett,  $\alpha$ -galaktozidos kötést tartalmazó szubsztrátumon (melibiózon) is képes hidrolízis és transzglükózilációs reakciót katalizálni. Monoszacharidokon történő biokonverziós vizsgálatok során megállapítottam, hogy a készítmény reverz hidrolízissel glükózból és mannózból képes nagyobb polimerizáltságú szénhidrátok előállítására. Az alkalmazott körülmények között arabinózon, fruktózon, ramnózon, szorbózon és xilózon nem mutattam ki di/oligoszacharid szintézist.
- Tekintve a manno-oligoszacharidok jelentős biológiai szerepét, a mannóz alapú szintézist tartottam érdemesnek részletesebben tanulmányozni. Vizsgáltam a reakció körülmények változtatásának hatását és a következő környezeti paraméterek között értem el a legnagyobb termék hozamot: 60 g/100ml mannóz koncentráció; pH 5,0; 70 °C; 3,1 mg fehérje/g szubsztrátum. A *Maillard* reakció gátlásának hatását is vizsgáltam. Munkámban 3 inhibitorot teszteltem: o-fenilén-diamin-dihidroklorid, szemikarbazid-hidroklorid, aminoguanidin-hidroklorid. Megállapítottam, hogy az aminoguanidin-hidroklorid alkalmazásával a kontrolhoz (inhibitor nélküli) képest nagyobb termékhozam érhető el. A többi inhibitor jelenléte nem fokozta a termék szintézist.
- Elvégeztem a mannóz alapú szintézis termékek tisztítását. Az elválasztás során kinyert termékek MALDI-TOF-MS módszerrel (Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén) történő analízise során megállapítottam, hogy a mannóz szubsztrátumon reverz hidrolízissel 5 különböző polimerizáltságú termék ( $DP_2$ - $DP_6$ ) állítható elő. A BioGel-P2 oszlopon történő elválasztással 1 tiszta triszacharid terméket sikerült kinyernem. A termék szerkezet tanulmányozása jelenleg még folyik.
- A Pectinex ultra készítményt biszubsztrátum rendszerekben vizsgálva megállapítottam, hogy maltóz:szacharóz párosításával olyan oligoszacharid termék állítható elő, mely a monoszubsztrátumok (szacharóz, maltóz) esetén nem detektálható



TLC módszerrel. A két szubsztrátum optimális aránya 1:9 (maltóz:szacharóz), az optimális szubsztrátum koncentráció 60 g/100ml. E paramétereket alkalmazva a kontrolhoz képest kb. kétszeres oligoszacharid hozamot értem el. A szénhidrát összetétel alakulását elemezve feltételezhető a transzfruktozilációs reakció végbemenetele, melyben a szacharóz donorként, a maltóz akceptorként vesz részt.

- Kutatómunkám során céлом volt levánszukráz enzim tanulmányozása is biszubsztrátum rendszerekben. Ennek oka, hogy levánszukrázoknak nagy jelentősége van oligoszacharid előállítás szempontjából, ugyanis ismert tény, hogy az általuk katalizált transzfruktozil reakció során többféle szénhidrát részt vehet akceptorként. A *Bacillus megaterium* DSM 319 eredetű rekombináns levánszukráz ígéretes biokatalizátor frukto-oligoszacharidok előállítására. Korábban megállapították, hogy az enzim képes fruktóz egység átvitelére mannózra, galaktózra, galakturonsavra, xilózra és fukózra illetve palatinózra. Kutatómunkámban ezt az enzimet szacharóz:maltóz, illetve szacharóz:laktóz biszubsztrátum rendszerekben vizsgálva megállapítottam, hogy e biszubsztrátumok esetén a transzfruktozilációs reakcióban a maltóz és a laktóz akceptorként vehet részt. A szacharóz:maltóz biszubsztrátummal 2:1 (szacharóz:maltóz) szubsztrátum arány és 61,5 g/100ml szubsztrátum koncentráció esetén értem el a legnagyobb oligoszacharid hozamot, szacharóz:laktóz biszubsztrátummal ezek az értékek 1:2 arány és 61,5 g/100ml.
- A bifidobaktérium eredetű hidrolázoknak szintén nagy szerepe van oligoszacharidok szintézisében. Feltételezhető, hogy ezek az enzimek transzglykozilációs és/vagy reverz hidrolízis reakciókban olyan di/oligoszacharidokat eredményeznek, amelyek integrált szinbiotikum összetevőjeként alkalmazhatók. Számos olyan *Bifidobacterium* eredetű enzim van, amelyet még nem tanulmányoztak ebből a szempontból.
- Doktori kutatómunkámban biszubsztrátum rendszerekben tanulmányoztam egy *Bifidobacterium longum*Bb-46 eredetű enzimpreparátumot. A laktózt és laktulózt kombináltam maltóz és szacharóz szénhidrátokkal. Megállapítottam, hogy a monoszubsztrátumokhoz képest a laktulóz:szacharóz és laktóz:szacharóz biszubsztrátum rendszerekkel fokozható az oligoszacharid képzés. A laktóz:szacharóz és laktóz:maltóz biszubsztrátum rendszerekben megállapítottam az optimális szubsztrátum arányt és szubsztrátum koncentrációt: laktóz:szacharóz esetében 61:39 és 25 g/100ml, laktóz:maltóz esetében 33:67 és 40 g/100ml volt. Mindkét biszubsztrátum alkalmazásával a monoszubsztrátumok esetében detektált termékektől eltérő retenciójú terméket detektáltam TLC módszerrel. A szénhidrát összetétel

alakulásából következtethető, hogy az új termékek transzgalaktozilációs reakcióval jöttek létre, amelyben a laktóz donorként a szacharóz vagy a maltóz akceptorként szerepelt.

Doktori kutatásom eredményei elsősorban tudományos alapismeretek és hozzájárulhatnak az oligoszacharid szintézisek katalitikus mechanizmusainak jobb megértéséhez, a biológiai funkciók feltárásához, valamint elősegíthetik kívánt funkciójú/szerkezetű termék(ek) előállítását szolgáló enzimes technológiák fejlesztését.

A Pectinex ultra enzimkészítmény sokrétű vizsgálata nyomán, távlati kutatási célként megfogalmazódhat a penészgomba eredetű készítmény kísérő enzimeinek termelésnövelésére irányuló biomérnöki, mikrobiológiai és molekuláris genetikai fejlesztő kutatás.

## 5. Új tudományos eredmények

1. A Pectinex ultra SP-L enzimkészítménnyel sikeresen valósítottam meg transzglykozilezési és reverz hidrolízis reakciókat. A készítmény cellobiózon, maltózon, maltulózon, palatinózon, trehalózon és turanózon transzglykozil reakciót, melibiózon transzgalaktozil reakciót katalizált. Reverz hidrolízis reakciót mutattam ki glükóz és mannóz szubsztrátumon.
2. Meghatároztam a Pectinex ultra SP-L készítménnyel történő mannóz alapú oligoszacharid szintézis optimális paramétereit: 60 g/100ml szubsztrátum koncentráció, pH5,0, 70 °C, 3,1 mg fehérje/g szénhidrát. Megállapítottam, hogy ezen a szubsztrátumon DP<sub>2</sub>-DP<sub>6</sub> manno-oligomerek szintetizálhatók.
3. Bizonyítottam, hogy a Pectinex ultra SP-L enzimkészítmény transzglykozilációs reakciót katalizál maltóz:szacharóz biszubsztrátumon, mellyel egy a malto- és frukto-oligoszacharidoktól eltérő retenciójú oligomer mutatható ki (TLC módszerrel).
4. A *Bacillus megaterium* eredetű rekombináns levánszukráz enzim új akceptorait fedeztem fel és bizonyítottam, hogy az enzim képes olyan transzfruktozilációs reakciót katalizálni, melyben a fruktóz a szacharózból a maltózra és a laktózra is átvihető.
5. Előállítottam egy *Bifidobacterium longum* Bb-46 eredetű β enzimpreparátumot, és bizonyítottam, hogy képes transzglykozilációs reakciót katalizálni laktóz, laktulóz, maltóz és szacharóz szubsztrátumokon. *Bifidobacterium longum* Bb-46 eredetű enzimpreparátum alkalmazásával biszubsztrátumos rendszerekben, laktóz:maltóz és laktóz:szacharóz esetében, optimaltam az oligoszacharidok (DP<sub>3</sub>-DP<sub>4</sub>) szintézisét az oligoszacharid tartalomra nézve. Optimális szubsztrátum arányuk és koncentrációjuk: Laktóz:maltóz esetében 33:67 és 40 g/100ml, laktóz:szacharóz esetében 61:39 és 25 g/100ml.

## 6. Következtetések és javaslatok

A Pectinex ultra SP-L készítmény  $\beta$ -galaktozidáz és fruktozil-transzferáz kísérő enzimeit már számos kutató alkalmazta galakto- illetve frukto-oligoszacharidok előállítására. Kutatómunkám során azonban a készítmény további enzimeit bizonyítottam. Megállapítottam, hogy a készítmény alkalmazásával oligoszacharidok szintetizálhatók transzglükóziláció révén cellobióz, maltóz, maltulóz, palatinóz, turanóz és trehalóz diszacharidokon, transzgalaktozilációval melibiózon. Emellett reverz hidrolízis reakciót is katalizál a készítmény mannóz és glükóz monoszacharidokon. A készítmény újonnan igazolt aktivitásainak feltárása tovább bővítheti különböző oligoszacharidok előállítási lehetőségeit.

Megállapítottam, hogy a mannóz alapú szintézis során öt különböző polimerizáltságú szénhidrát termék szintetizálható,  $DP_2$  -  $DP_6$ . Korábban megjelent tanulmányokban maximálisan tetraszacharid oligomert szintetizáltak. Ezért az *Aspergillus aculeatus* eredetű  $\alpha$ -mannozidáz alkalmazása hasznos lehet nagy polimerizáltsági fokú manno-oligoszacharidok előállítására.

A készítményt biszubsztrátum rendszerekben vizsgálva megállapítottam, hogy maltóz:szacharóz kombinációjával a monoszubsztrátumok esetén detektált termékektől eltérő szerkezetű oligoszacharid állítható elő. A szénhidrát összetétel alakulását elemezve feltételezhető a transzfruktozilációs reakció végbemenetele, amelyben a szacharóz donorként, a maltóz akzeptorként vesz részt. A *Bacillus megaterium* eredetű levánszukráz eddig nem ismert új akceptorait (maltóz és laktóz) fedeztem fel. *Bifidobacterium longum* eredetű enzimpreparátum alkalmazásával oligoszacharidokat állítottam elő laktóz:maltóz és laktóz:szacharóz biszubsztrátumokon.

E biszubsztrátum rendszerek tanulmányozásával kapott eredményeim utat nyithatnak új oligoszacharidok előállításának technológiai kidolgozására. Az előállított termékek hasznosíthatóságának megállapítására, szükség lehet azok pontos szerkezetének meghatározása. Szükséges kutatási iránynak tartom annak vizsgálatát és bizonyítását, hogy a különböző probiotikus baktériumok képesek-e hasznosítani a szintetizált szénhidrátokat, illetve e szacharidok rendelkeznek-e prebiotikus vagy más kedvező fiziológiai tulajdonsággal. A munka további folytatásaként érdemes lenne a preparátumok szintézist katalizáló enzimeinek a tisztítása és jellemzése is.

## 7. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

### Tudományos folyiratban megjelent közlemények

#### *Impakt faktoros folyóiratcikk*

**Styevkó G.**, Styevkó Cs., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2013) Novel oligosaccharide syntheses by glycosyltransferase activity from Pectinex ultra SP-L enzyme preparation. *Acta Alimentaria*, 42: 99-106. (IF: 0,427, 2013)

Havas P., Kun Sz., **Styevkó G.**, Slacanac V., Hardi J., Rezessy-Szabó J. (2014) Fruit and Vegetable juice fermentation with *Bifidobacteria*. *Acta Alimentaria*, 43: 64-72. (IF: 0,274, 2014)

#### *Nem impakt faktoros magyar folyóiratcikk*

Styevkó Cs., **Styevkó G.**, Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2014) Pectinex ultra enzimmészítmény transzglykozil aktivitása. *Élelmiszertudomány Technológia*, 2: 22-27.

### Idegen nyelvű könyvrészlet

Nguyen Q. D., Bujna E., **Styevkó G.**, Rezessy-Szabó J.M., Hoschke Á. (2015) Fungal biomolecules for the food industry. *Fungal biomolecules: sources, applications and recent developments*. Ed.:V.K. Gupta, R.I. Mash, John Wiley & Sons, UK, 11-39.

### Konferencia kiadványban megjelent teljes terjedelmű közlemény

**Styevkó G.**, Styevkó Cs., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2013) Glycosyltransferase and reverse hydrolytic activity of Pectinex ultra SP-L on different substrates. Food Science Conference, Budapest, Proceedings, 265-268.

### Konferencia kiadványban megjelent összefoglalók

#### *Magyar nyelvű*

**Styevkó G.**, Hoschke Á., Nguyen D. Q. (2013) Maltóz és szacharóz alapú oligoszacharidok biokatalitikus előállítására. 350. Tudományos kollokvium, Budapest, 3.

**Styevkó G.**, Rezessy-Szabó J. M., Hoschke Á., Nguyen D.Q. (2012) Fruktó-oligoszacharidok alkalmazhatósága szinbiotikum tervezésében. Táplálkozástudományi kutatások II. Innováció-Táplálkozás-Egészség- Marketing, Kaposvár, 15.

Havas P., **Styevkó G.**, Nguyen D. Q., Rezessy-Szabó J. M. (2010) Probiotikus *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzs karbohidrolázainak vizsgálata. Probiotikumok-Emberbarát baktériumok Szimpózium, Budapest,

**Styevkó G.**, Rezessy-Szabó J. M., Nguyen D. Q. (2009) Bifidobaktériumok inulináz aktivitása. Lippay- Ormos-Vas Tudományos Ülésszak, Budapest, 168-169.

**Styevkó G.** (2009) Szinbiotikum létrehozásának kísérleti megalapozása, (2009) XXIX.OTDK Agrártudományi Szekció, Gödöllő, 159.

#### *Idegen nyelvű*

**Styevkó G.**, Nguyen V. D., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2014) Mannotriose and manniobiose synthesis by a commercial enzyme preparation from *Aspergillus aculeatus*. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2014 évi Nagygyűlése, Keszthely, Absztraktfüzet, 67-68.

**Styevkó G.**, Nguyen V. D., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2014) Oligosaccharide synthesis on different substrates by commercial enzyme preparation from *Aspergillus aculeatus*. Conference of Chemical Engineering '14, Veszprém, Conference proceeding, 167.

**Styevkó G.**, Styevkó Cs., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2013) Effect of substrate concentration on synthesis activity of Pectinex ultra SP-L. 4<sup>th</sup> Central European Forum for Microbiology, Keszthely, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 60: 234.

**Styevkó G.**, Styevkó Cs., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2013) Effect of maltose and sucrose as bisubstrate systems on glycosyltransferase activity of Pectinex ultra SP-L. Conference of Chemical Engineering '13, Veszprém, Conference proceeding, 60.

**Styevkó G.**, Styevkó Cs., Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2012) Effects of substrate concentration and organic-aquous biphasic media on fructosyltransferase activity of Pectinex ultra. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2012 évi Nagygyűlése, Keszthely, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 60: 82.

**Styevkó G.**, Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2011) Fructosyl transferase activity of Pectinex ultra for production of novel oligosaccharides. 16<sup>th</sup> International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 58: 58.

**Styevkó G.**, Hoschke Á., Nguyen Q. D. (2010) Effects of pH and substrate concentration on biosynthesis of fructo-oligosaccharides. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2010 évi Nagygyűlése, Keszthely, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 58: 95.

