

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

PÁZMÁNDI MELINDA

Budapest

2020



SZENT ISTVÁN EGYETEM

**SAVÓ PERMEÁTUM ENZIMES ÉS
MIKROBIOLÓGIAI KONVERZIÓJA
HOZZÁADOTT ÉRTÉKET KÉPVISELŐ
TERMÉKEK ELŐÁLLÍTÁSA CÉLJÁBÓL**

PÁZMÁNDI MELINDA

Budapest

2020

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: **Simonné Dr. Sarkadi Livia**
Egyetemi tanár, DSc
SZIE, Élelmiszertudományi Kar
Élelmiszerkémia és Táplálkozástudomány

Tanszék

Témavezetők: **Dr. Maráz Anna**
Professzor emeritus, CSc
SZIE, Élelmiszertudományi Kar
Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék

Dr. Kovács Zoltán
Egyetemi tanár, PhD
SZIE, Élelmiszertudományi Kar
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEI

A sajtgyártás melléktermékeként nagy mennyiségben keletkező tejsavó értéknövelő feldolgozása kiemelt tudományos és ipari jelentőséggel bír. A savókezelés általános módja annak frakcionálása, mely során a savó fő komponenseit (a laktózt és savófehérjéket) szeparálják és külön hasznosítják. A savófehérje magas tápértéke következtében általában étrendkiegészítőként kerül forgalomba, azonban a laktóz élelmiszeripari felhasználása kristályosodásra való hajlama és a laktóz-intoleráns fogyasztók arányának növekedése miatt erősen korlátozott.

Az utóbbi években a savó eredetű laktóz, mint a prebiotikus hatású galakto-oligoszacharidok (GOS) szintézisének prekurzora, kiemelt figyelemhez jutott. A GOS enzimes szintézisét a β -galaktozidáz katalizálja laktóz szubsztrátból, annak magas koncentrációja mellett. Ezért az ilyen célú felhasználás esetében a savó laktóz tartalmának besűrítése szükséges, azonban a reakcióhoz elengedhetetlen magas laktóz koncentráció elérésének lehetőségeit eddig még nem vizsgálták.

Az enzimes GOS szintézis végterméke prebiotikus GOS frakciókat, nem-reagált laktózt, illetve melléktermékként glükózt és galaktózt tartalmazó keverék (ún. nyers GOS). A laktóz és a monoszacharidok a GOS készítmények nemkívánatos komponensei, eltávolításuk általában SMB (simulated moving bed/szimulált mozgóágyas) kromatográfiával történik. A költséges SMB kromatográfia alternatívája lehet a mono- és diszacharidok eltávolítása mikroorganizmusok általi szelektív hasznosítással. A témával kapcsolatos eredmények alapján ez laktóz-pozitív *Kluyveromyces* törzsekkel valósítható meg, azonban a folyamathoz magas kezdeti sejtkoncentráció alkalmazása és a keletkezett etanol utólagos

eltávolítása szükséges. Mindkét tényező a költségek növekedéséhez, így a szelektív fermentáció versenyképességének csökkenéséhez vezet.

A fehérjementes tejsavó (savó permeátum) hasznosításának további, tradicionális módja annak tejsavas erjesztése, mellyel értéknövelt fermentált italok állíthatók elő. A savó permeátum tejsavas erjesztésének fő kérdése, hogy a tejsavbaktériumok összetett tápanyag- és szerves nitrogénforrás szükséglete mennyiben egyeztethető össze ezzel a közeggel. Ezzel kapcsolatban azonban kevés mikrobiológiai és fermentáció-kinetikai ismerettel rendelkezünk.

Doktori munkám célja egy integrált, értéknövelő tejsavó-kezelési eljárás kidolgozása volt, mely első fázisa a savó membránszeparációja, majd az így keletkezett savó permeátummal végzett GOS szintézis volt. Ezt követően célul tűztem ki a savó permeátum tejsavas fermentációjához szükséges mikrobiológiai alapok kidolgozását. Ennek eredményei alapján célom volt a két eljárás kombinációja a nyers GOS mono- és diszacharid tartalmának szelektív fermentációjával, prebiotikus ital-alap kifejlesztése céljából. Végül célul tűztem ki a nagy-tisztaságú GOS előállítását élesztők általi szelektív fermentációval. Munkám során a legjelentősebb költség-növelő faktorok (nagy kezdő sejtkoncentráció és a termelt etanol eltávolítása) mérséklésének lehetőségeit vizsgáltam *Kluyveromyces* törzsekkel végzett kísérletek segítségével.

A doktori munkám célkitűzéseit a következő pontokban fogalmaztam meg:

1. Koncentrált fehérjementes savó (savó permeátum) előállítása membránszűréssel és felhasználása galakto-oligoszacharidok (GOS) enzimikus szintézisére

A munkapont során fő célom a GOS szintézishez alkalmazható szubsztrátum előállítása, és az ehhez szükséges ultra- dia- és nanoszűrési műveletek összehangolása volt.

2. A savó permeátum tejsavas fermentációjához szükséges mikrobiológiai alapok kidolgozása

Munkám során célom volt a fehérjementes savó tejsavas fermentációjának vizsgálata szelektált tejsavbaktérium törzsekkel, különböző kiegészítő tápanyagforrások mellett, majd az eredmények alapján a megfelelő savó permeátum-alapú tápközeg összetételének meghatározása.

3. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása tejsavbaktériumokkal funkcionális ital-alap előállítása céljából

Célom a tejsavbaktérium törzsek screenelése volt, optimált tápközegben végzett, szelektív mono- és diszacharid fermentációs képességük alapján. A továbbiakban a szelektált törzsek fermentációs profilját és az általuk termelt metabolitokat vizsgáltam.

4. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása élesztőgombákkal

A munkapont során laktóz hasznosító *Kluyveromyces* fajok szelektív mono- és diszacharid felhasználását vizsgáltam, nagy tisztaságú (metabolit-mentes) GOS előállítása céljából

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Koncentrált fehérjementes savó (savó permeátum) előállítása membránszűréssel és alkalmazása galakto-oligoszacharidok (GOS) enzimikus szintézisére

A demineralizált tejsavó fehérje- és laktóztartalmát ultra- és diaszűréssel választottam szét, majd a savó-permeátum víztartalmának egy részét nanoszűrés segítségével távolítottam el. A savó permeátum-alapú GOS szintézis szubsztrátjai a membránszűrés során gyűjtött frakciók voltak. Az enzimikus szintézis kevert tartályreaktorban, 50°C-on, 0,5 w/w % Biolacta N5, *Bacillus circulans*-eredetű β -galaktozidáz mellett, 24 órán keresztül zajlott. A reakció szénhidrát-összetételének alakulását HPLC-vel követtem nyomon.

2.2. A savó permeátum tejsavas fermentációjához szükséges mikrobiológiai alapok kidolgozása

Munkám során hét *Lactobacillus* és két *Lactococcus* törzssel dolgoztam. A törzsek probiotikus termékekből, tejipari starterekből és különböző törzsgyűjteményekből származtak. A törzsek vitamin és aminosav-igényét lyuk- és agar diffúziós módszerekkel vizsgáltam. Fermentációs kísérletek során a 20 g/L laktóz tartalmú savó-permeátumot minimál sók keverékével, valamint szervesetlen (ammónium-szulfát) és szerves nitrogénforrásokkal (savófehérje, szója és kazein pepton) egészítettem ki. A kísérletek 15-50 mL centrifugacsövekben, 10^7 sejt/mL kezdő sejtkoncentráció mellett, 30°C-on, anaerob körülmények között, 48 órán át zajlottak. A kísérletek során mértem a törzsek szaporodását (OD_{600} , szélesztés), a savasodást (pH mérő), az aminosav-felhasználását (OPA-módszer), és a szénhidrát-profil alakulását (HPLC).

2.3. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása tejsavbaktériumokkal funkcionális ital-alap előállítására céljából

Kilenc tejsavbaktérium törzs szelektív fermentációs képességét vizsgáltam 15 g/L össz-szénhidrát-tartalmúra hígított, 0,25-10 g/L szója vagy kazein peptonnal kiegészített, nyers Vivinal GOS szirup-alapú tápközegben. Az eredmények alapján három törzset (*L. acidophilus* N2, *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108) szelektáltam, melyekkel további kísérleteket végeztem, 2,5 g/L szója vagy kazein pepton kiegészítés mellett. Mivel az előzetes eredmények alapján a pH gyors csökkenése hátráltatta a törzsek szénhidrát-felhasználását, a közeg savasodását 0,05-0,15 M foszfát pufferrel szabályoztam.

A kísérletek 15-50 mL centrifugacsövekben, 10^7 sejt/mL kezdő sejt koncentrációval, 30°C-on, anaerob körülmények között, 72 órán át zajlottak. A mérések során nyomon követtem a sejtek szaporodását (OD₆₀₀, szélesztés), szerves sav (HPLC) és D-tejsav (enzimes kit)-termelését, a szénhidrát-profil (HPLC), valamint a felülúszóba kiszabaduló β-galaktozidáz aktivitást (ONPG-módszer).

2.4. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív fermentációja élesztőgombákkal

Három Kluyveromyces: a *K. marxianus* DMB Km-RK, *K. lactis* DMB Kl-RK és a *K. nonfermentans* NCAIM Y.01443 törzset használtam. A Vivinal GOS szirupot 100 g/L koncentrációra hígítottam és 5 g/L élesztőkivonattal, vagy minimál sókkal egészítettem ki. A kísérletek 100 mL fermentációs közegben, $5 \cdot 10^6$ sejt/mL induló sejt koncentrációval, 30 °C-on, 220 rpm-es ráztatás mellett, 72 órán keresztül tartott. Nyomon követtem a törzsek szaporodását (OD₆₀₀), a közeg pH értékét (pH mérő) és szénhidrát-összetételét (HPLC).

3. EREDMÉNYEK

3.1 Koncentrált fehérjementes savó (savó permeátum) előállítása membránszűréssel és alkalmazása galakto-oligoszacharidok (GOS) enzimikus szintézisére

A savó UF/NF (ultraszűrés/nanoszűrés) frakcionálásával GOS-szintézisre alkalmas szubsztrátumot állítottam elő. Az UF során gyűjtött permeátum frakciókban a a Bioacta N5 β -galaktozidáz által katalizált laktóz hidrolízis irányába tolódott el a reakció, míg az NF-fel előállított, 200 g/L-es laktóz koncentrációjú savó permeátum sűrítményben GOS szintézis dominált. Az enzimikus szintézis során az GOS kihozatal (32-34 w/w%) a Biolacta N5-re jellemző maximum értékhez (36 w/w %) közeli volt, és a GOS frakciók bomlása is csak lassan következett be. A 200 g/L-nél magasabb laktózkoncentráció elérése NF-fel laktóz veszteséggel járt. Továbbá a koncentrált savó permeátum natív pH-ja (pH=7,5) megfelelőnek bizonyult GOS szintézis szempontjából, azaz nem szükséges a közeg pH-jának állítása.

3.2. A savó permeátum tejsavas fermentációjához szükséges mikrobiológiai alapok kidolgozása

A vizsgált tejsavbaktérium törzsek szaporodásának és szénhidrát-felhasználásának elősegítéséhez a savó-permeátum alapú fermentációs közeget szerves nitrogénforrással szükséges kiegészíteni. A *Lactococcus* törzsek alacsony proteolitikus aktivitásuk következtében nem voltak képesek a nagy molekulatömegű savófehérjék hasznosítására. A *Lactobacillus* törzsek szaporodtak ugyan savófehérje jelenlétében ($5-8 \cdot 10^7$ sejt/mL végső sejtkoncentráció), de a savó permeátum laktóztartalmát az exponenciális szaporodási fázisban nem csökkentették, ezzel szemben a közeg aminosavtartalmának 11-51%-át felhasználták.

Ebből levonható az a következtetés, hogy a vizsgált törzsek a savófehérje aminosav tartalmát használták kizárólagosan szén és nitrogén szükségleteik fedezése céljából. Ez a jelenség a kisebb molekulaméretű szója és kazein peptonok esetében nem volt megfigyelhető, jelenlétükben a törzsek szaporodása ($8 \cdot 10^7$ - 10^8 sejt/mL végső sejtkoncentráció), aminosav (29-73%) és laktóz felhasználása (14-25%) egyaránt intenzív volt a fermentáció egésze alatt. A megfigyelt különbségek feltehetően a savófehérjék bontásához szükséges proteáz enzim aktivitásával köthetők össze.

3.3. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása tejsavbaktériumokkal funkcionális ital-alap előállítására céljából

A tejsavbaktérium törzsek szelektív fermentációs képességének screenelése során a *Lactobacillus acidophilus* N2, *Lactobacillus paracasei* PB9 és *Lactobacillus plantarum* 2108 ígéretes eredményeket mutattak a glükóz eltávolításában, de mono- és diszacharid-mentes GOS egyik esetben sem keletkezett. Feltételezésem szerint az alacsony szénhidrát felhasználás oka a fermentációs közeg gyors savasodása volt, ezért vizsgáltam a puffereles hatását a szelektált törzsekkel végzett kísérletekben.

A puffereles serkentette a törzsek mono- és diszacharid felhasználását, valamint megnövelte a törzsek sejttömeg képzését, a termelt szerves savak mennyiségét, a keletkezett savak diverzitását, valamint a sejtizissel a fermentáléba kiszabaduló β -galaktozidáz aktivitást. Ugyan a fermentációs közegben jelentős β -galaktozidáz aktivitás volt mérhető, ez nem vezetett a GOS frakciók hidrolíziséhez, ami a törzsek által termelt enzimek DP2 frakcióra vonatkozó specifikitását jelezte. Az *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsek képesek voltak a DP2 frakció nem-laktóz komponenseinek

felhasználására is, ami a két törzs probiotikus jellegével hozható összefüggésbe. A *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsekkel végzett fermentáció nagytisztaságú GOS termékeket eredményezett (100% kihozatal, 94-97% tisztaság). Ehhez szükséges volt a közeg 2,5 g/L szója vagy kazein peptonnal történő kiegészítése, valamint 0,1 mólos pH=7 foszfát puffer alkalmazása. A folyamat eredménye egy pH≤5, biztonságosnak tekinthető tejsavasán fermentált termék volt, mely az 5,3 g/L prebiotikus GOS frakció mellett tartalmazta a tejsavbaktérium törzsek által jelentős mennyiségben termelt L-tejsavat (6,2-6,5 g/L) citromsavat (kb. 1,6 g/L), valamint kis koncentrációban megjelenő D-tejsavat (kb. 0,3 g/L), borkősavat (0,4-0,8 g/L) és propionsavat (0-0,3 g/L) is. A GOS terápiás hatásának eléréséhez a keletkezett termék kb. 500 mL-ének napi elfogyasztása szükséges. Ilyen mennyiség elfogyasztása nem haladja meg a foszfát- és D-tejsav maximális bevitelével kapcsolatos nemzetközi ajánlásokat és szabályozásokat, így az előállított fermentált GOS alkalmazható prebiotikus italok alapjaként mely magában hordozza a törzsek által termelt tejsav pozitív élettani hatásait (antimikrobás, immunrendszer-stimuláló stb.) is.

3.4. Nyers GOS-keverék mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása élesztőgombákkal

A *Kluyveromyces* törzsekkel végzett kísérletek alapján a *K. marxianus* DMB Km-RK törzsszel végzett, alacsony ($5 \cdot 10^6$ sejt/mL) kezdő sejtkoncentrációjú szelektív fermentáció alkalmas volt nagy tisztaságú, mono- és diszacharid-mentes GOS előállítására (97% kihozatal, 100% tisztaság). Ehhez szükséges volt a „nyers” GOS 5 g/L élesztőkivonattal történő kiegészítése. A fermentáció során a *K. marxianus* Km-RK jelentős mennyiségű (40 g/L) etanolt termelt, mely eltávolításához további tisztítási lépések szükségesek. A *K.*

nonfermentans Y.01443 törzs ugyan nem volt képes a „nyers” GOS DP2 frakcióját eltávolítani, azonban 5 g/L élesztőkivonat hozzáadása esetén felhasználta a fermentációs közeg teljes glükóz és galaktóz tartalmát. Mivel a *K. nonfermentans* Y.01443 törzs nem termelt etanolt, így ezen törzs alkalmazásával monoszacharid és etanolmentes GOS keletkezett. Az ilyen jellegű, részlegesen tisztított GOS csecsemő-tápszerekben való felhasználás esetén rendkívül előnyös.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

- 1) A savó GOS szintézis céljából történő feldolgozása elérhető a kidolgozott UF/NF eljárással jelentős laktóz-veszteségek nélkül. Így egy 200 g/L laktóz koncentrációjú, koncentrált savó permeátum állítható elő, ami pH állítás nélkül felhasználható Biolacta N5 β -galaktozidázzal végzett GOS szintézishez.
- 2) A vizsgált tejsavbaktérium törzsek szaporodásának és szénhidrát felhasználásának elősegítéséhez szükséges a savó permeátum szerves nitrogénnel való kiegészítése szója vagy kazein pepton formájában. Nagy molekulaméretű savófehérje adagolása nem javasolt, mivel a *Lactococcus* törzsek ezt nem képesek hasznosítani, a *Lactobacillus* törzsek pedig a savófehérje aminosavait kizárólagos tápanyag- és energiaforrásként hasznosítják a laktóz helyett.
- 3) „Nyers” GOS szirup mono- és diszacharid tartalmának szelektív eltávolítása lehetséges az *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsekkel, 15 g/L-es kezdő szénhidrát-koncentráció, 2,5 g/L szója vagy kazein pepton, és 0,1-15 M, pH=7-en foszfát pufferrel történő pufferelés mellett. A leírt körülmények között mono- és diszacharid mentes, kedvező savprofilú, pH \leq 5, biztonságosnak tekinthető, főként tej- és citromsavat tartalmazó termék jön létre.
- 4) Az *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 által végzett szelektív fermentáció eredménye, mely egy prebiotikus GOS frakciókat, L-tejsavat és citromsavat tartalmazó termék, felhasználható funkcionális italok alapjaként. A GOS terápiás dózist és a foszfát-beviteli ajánlásokat figyelembe véve a 0,1 M puffer koncentráció és az 500 mL napi fogyasztási mennyiség ajánlott. A továbbiakban célszerű más, engedélyezett pufferkomponens kipróbálása, valamint a funkcionális ital kifejlesztéséhez a

fermentált ital-alap kiegészítése különböző ízesítő anyagokkal (gyümölcs aromák vagy koncentrátumok) és édesítőszerrel, illetve az ezzel kapcsolatos érzékszervi vizsgálatok elvégzése

- 6) Amennyiben a GOS szelektív fermentációjának célja nagytisztaságú, metabolit-mentes GOS termékek előállítása, erre a vizsgált élesztőtörzsek közül a *Kluyveromyces marxianus* DMB Km-RK a legalkalmasabb. Nyers GOS szirup 100 g/L-re történő hígítása, és 5 g/L élesztőkivonat hozzáadása mellett mono- és diszacharid mentes GOS termék érhető el. A fermentációs lépést követően a közeg etanol tartalmának eltávolítása, valamint a GOS bekonzentrálása szükséges.
- 6) Glükóz, galaktóz és etanol mentes GOS termék állítható elő a *Kluyveromyces nonfermentans* NCAIM Y.01443 törzs alkalmazásával, 100 g/L-es, 5 g/L élesztőkivonattal kiegészített GOS szirup fermentációja során. Az így előállított termék bekonzentrálás után fontos szerepet játszhat laktóz tartalmú prebiotikus termékek összetevőjeként, különös tekintettel a csecsemő-tápszerekre.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- 1) A koncentrált savó-permeátum-alapú GOS szintézissel kapcsolatos munkám eredményeként a következő megállapításokat teszem: (i) az UF permeátum nanoszűrésés besűrítése során 200 g/L laktózkoncentráció elérése szükséges a nem-kívánatos hidrolízis visszaszorítása érdekében; (ii) a koncentrált savó permeátum-alapú GOS szintézis hozatala eléri az irodalomban közölt, puffereelt, nagytisztaságú laktózzal kapott hozatalok szintjét; (iii) a membrános műveletsorral kapott szubsztrátum natív pH-ja (7,5) előnyös az enzimes katalízis GOS hozatalának szempontjából.
- 2) A vizsgált tejsavbaktérium törzsek szerves nitrogénforrás kiegészítést igényelnek savó permeátum fermentációjához. Az alkalmazott szerves fehérjeforrások közül a savófehérje nem volt megfelelő, míg a kis molekulatömegű peptideket tartalmazó peptonok (szója és kazein) a szaporodást és a laktóz felhasználást lényegesen fokozták. A *Lactobacillus* törzsek savófehérje és laktóz tartalmú táptalajon kizárólagosan a savófehérje aminosav tartalmát használták fel szén- és nitrogénforrásként. Ez a jelenség peptonok adagolása mellett nem volt megfigyelhető. Eredményeim alapján a savófehérjék által kiváltott proteolitikus rendszer indukálása olyan módon befolyásolja a vizsgált *Lactobacillus* törzsek anyagcsere útvonalait, hogy azok az aminosavak oldalláncait részesítik előnyben szénforrásként a laktózzal szemben.
- 3) A vizsgált *L. acidophilus* N2, *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 tejsavbaktérium törzsek β -galaktozidáz enzimei specifikusak a nyers GOS DP2 diszacharidjainak lebontására,

mivel a fermentlébe jutott aktív β -galaktozidáz nem csökkentette a DP3-6 komponensek mennyiségét.

- 4) Az *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsek alkalmasak 15 g/L teljes szénhidrát koncentrációra hígított GOS szirupból a mono- és diszacharidok szelektív fermentációjára, 2,5 g/L szója vagy kazein peptonnal való kiegészítése mellett. A megfelelő szénhidrát felhasználás eléréséhez a kezdeti pH 7-es értékre való beállítása szükséges, 0,1-0,15 M foszfát puffer alkalmazásával.
- 5) A puffereles lényegesen befolyásolja az *L. acidophilus* N2, *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 által termelt szerves savak mennyiségét és spektrumát. Míg puffereles nélkül csak tejsav keletkezik kimutatható mennyiségben, puffereles hatására a tejsavon kívül nagyobb mennyiségben citromsav, kisebb mennyiségben pedig borkősav és propionsav is keletkezik jelenleg nem feltérképezett anyagcsere útvonalakon keresztül.
- 6) A vizsgált *Kluyveromyces marxianus* DMB Km-RK törzs alkalmas mono- és diszacharid mentes GOS termékek előállítására, 100 g/L-es GOS szirupban, élesztőkivonattal történő kiegészítés mellett. Az eljárás a „nyers” GOS szirup mérsékelt hígítása, és az alkalmazott alacsony kezdeti sejtkoncentrációk miatt alkalmas lehet mono- és diszacharid mentes tisztaságú GOS előállítására ipari körülmények között is.
- 7) A *Kluyveromyces nonfermentans* NCAIM Y.01443 törzs képes a 100 g/L-re hígított, élesztő kivonattal kiegészített GOS szirup glükóz és galaktóz tartalmát eltávolítani etanol termelése nélkül.

6. AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

6.1 Tudományos folyóiratközlemények

PÁZMÁNDI, M., MARÁZ, A., LADÁNYI, M., KOVÁCS Z. (2018): The impact of membrane pretreatment on the enzymatic production of whey-derived galacto-oligosaccharides. *Journal of Food Process Engineering*, 41(2). e12649. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpe.12649> **IF: 1,703; Q2**

PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., BALGA, E., KOVÁCS, M., MARÁZ, A. (2020): Production of high-purity galacto-oligosaccharides by depleting glucose and lactose from galacto-oligosaccharide syrup with yeasts. *Yeast*, pp. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1002/yea.3507>. **IF: 2.3; Q1**

CAO T., PÁZMÁNDI, M., GALAMBOS, I., KOVÁCS, Z. (2020): Continuous Production of Galacto-Oligosaccharides by an Enzyme Membrane Reactor Utilizing Free Enzymes. *Membranes* 10(9) p. 203. DOI: <https://doi.org/10.3390/membranes10090203>. **IF: 3.094; Q2**

PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A., (2020): Potential of *Lactobacillus* strains for the production of fermented functional beverages enriched in galacto-oligosaccharides. *Közlésre benyújtva*

6.2 Nemzetközi konferenciakiadványok

PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2019) Production of High-purity Galactooligosaccharide (GOS) by Removal of Glucose and Lactose from GOS Syrup via Yeast-based Selective Fermentation. In: 35th International Specialized Symposium on Yeasts: "Yeast Cornucopia: Yeast for wealth and wellbeing" (2019)

- (Antalya). Book of Proceedings. Antalya, Cukurova University Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering. p.84.
- PÁZMÁNDI, M., MARÁZ, A., KOVÁCS, Z.** (2019) Investigation of the potential of lactic acid fermentation in bio-remediation of whey. In: 8th European Young Engineers Conference (2019) (Warsaw). Monograph. Warsaw, Faculty of Chemical and Process Engineering, Warsaw University of Technology. p. 308.
- PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A.** (2019) Degree of Hydrolysis of Proteins Used as Nitrogen Sources Influence Lactose Assimilation and Growth of Lactic Acid Bacteria. In: 18th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology (2019) (Budapest). ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 66 (Suppl. 1.) Budapest, Akadémia Kiadó. p. 178.
- PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A.** (2018) Multi-step valorization of sweet whey by enzymatic conversion to galacto-oligosaccharides and lactic acid fermentation. In: Third International Conference on Food Science and Technology (2018) (Budapest). Abstract Book. Budapest, Szent István University Buda Campus. pp.46-47. (ISBN 978-963-269-794-9)
- PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A.** (2018) Exploring the potential of lactic acid bacteria for the production of high-purity galacto-oligosaccharides. In: 7th European Young Engineers Conference. (2018) (Warsaw). Monograph. Warsaw, Faculty of Chemical and Process Engineering, Warsaw University of Technology. p. 551. (ISBN:978-83936575-5-1)
- PÁZMÁNDI, M., BENHALIMA, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A.** (2017) Metabolism of proteins and peptides as sole growth substrates by *Lactobacillus* and *Lactococcus* strains. In: 5th Central

European Forum for Microbiology (2017) (Keszthely) ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 64 (Suppl. 1.). Budapest, Akadémia Kiadó. pp. 156-157.

PÁZMÁNDI M., MARÁZ, A., KOVÁCS, Z. (2017) Enzymatic and microbial conversion of whey permeate for creating valorized products. In: Current Topics in Food Biotechnology. (2017) (Ebsdorfergrund). Programme and Abstracts. Ebsdorfergrund, Technische Hochschule Mittelhessen és Justus-Liebig-Universität Gießen. p. 7.

6.3 Hazai konferenciakiadványok

PÁZMÁNDI M. (2020) Különböző Polimerizációs Fokú Szénhidrátok Metabolizmusa Laktóz és Galakto-oligoszacharidok Tejsavas Fermentációja Során. In: MTA Élelmiszertudományi Tudományos Bizottság 378. Tudományos Kollokviuma. (2020) (Budapest) 378. Tudományos Kollokvium előadásainak rövid kivonata. Budapest, MTA Kémiai Tudományok Osztálya. p. 6.

PÁZMÁNDI M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2019) Prebiotikus GOS-szirup szénforrásként való hasznosítása tejsavas erjesztés során. In: Hungalimenteria 2019 Konferencia és Kiállítás „Ésszel a kosárba!-Mit mond erről a labor?“. (2019) (Budapest). Absztraktfüzet. Budapest, WESSLING Hungary Környezetvédelmi, Élelmiszerbiztonsági, Egészségvédelmi, és Minőségügyi Szolgáltató Kft, p. 45. (ISBN:978-963-89274-4-6)

PÁZMÁNDI M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2018) Physiology and cytology of lactose utilization and β -galactosidase production of *Kluyveromyces wickerhamii*. In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése és a XIII. Fermentációs Kollokvium. (2018) (Eger) ACTA MICROBIOLOGICA ET

IMMUNOLOGICA HUNGARICA 66 (Suppl. 1.) Budapest, Akadémia Kiadó. p. 78.

PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2017) Tejsavasán erjesztett savó alapú ital kifejlesztésének membrán-szeparációs és mikrobiológiai alapjai. In: Hungalimentartia 2017 - konferencia és kiállítás: Terítéken az élelmiszerek és csomagolóanyagaik. (2017) (Budapest) Absztraktfüzet. Budapest, WESSLING Hungary Környezetvédelmi, Élelmiszerbiztonsági, Egészségvédelmi, és Minőségügyi Szolgáltató Kft. pp. 60-61. (ISBN:978-963-89274-4-6)

PÁZMÁNDI, M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2016) Utilization of milk whey for development of lactic acid fermented drink as a value added product. In: Fialat Biotechnológusok Országos Konferenciája "FIBOK 2016" (2016) (Gödöllő) Program és összefoglalók. Gödöllő, MTA Agrártudományok Osztálya. p 33.

PÁZMÁNDI, M., NEMESVÁRI, O., MARÁZ, A., KOVÁCS, Z. (2016) Tejsavó frakcionálása és értéknövelése membrános és enzimes technikákkal. In: XXXVI. Óvári Tudományos Nap: Hagyomány és innováció az agrár- és élelmiszergazdaságban (2016) (Mosonmagyaróvár) Programfüzet. Mosonmagyaróvár, Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, 2016. pp. 21-29. (ISBN:978-615-5391-79-8)

PÁZMÁNDI M., KOVÁCS, Z., MARÁZ, A. (2016) Preference of glucose, lactose and protein utilization as carbon sources for growth of different *Lactobacillus* and *Lactococcus* strains. In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi Nagygyűlése és a XII. Fermentációs Kollokvium (2016) (Keszthely) ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 64 (Suppl. 1.). Budapest, Akadémia Kiadó. p. 74.